



01694

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

EVALUACIÓN DE ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA  
RESPUESTA DE LAS HEMBRAS CAPRINAS AL EFECTO MACHO

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN  
CIENCIAS

PRESENTA

FRANCISCO GERARDO VÉLIZ DERAS

TUTOR: DR. JOSÉ ALBERTO DELGADILLO SÁNCHEZ

COMITÉ TUTORAL: DR. HÉCTOR VERA ÁVILA  
DR. PASCAL POINDRON MASSOT

MÉXICO, D.F.

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## Dedicatoria

Quiero dedicar la presente tesis a mis padres Francisco Véliz González y Elva Rosalía Deras Sandoval por toda las enseñanzas y apoyo que me han regalado y que me ha permitido realizar todos mis sueños.

A mis hermanos María de Jesús, Rafael y Flor Violeta por su gran apoyo y su amistad incondicional que me han brindado en todo momento de mi vida.

A mi tío José Guadalupe Véliz Arreola por todo los consejos y el apoyo que me ha obsequiado.

Especialmente a mi esposa Dora Beatriz Romero Martínez y mi hijo Francisco Gerardo por su eterno apoyo y cariño, el cual me sirve para superar todos mis obstáculos y de inspiración para superarme cotidianamente.

## **Agradecimientos**

Al Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez le doy mi más sincero agradecimiento, por el apoyo dedicado durante el desarrollo, la dirección, y el asesoramiento de las investigaciones y la escritura de la presente tesis.

Al Dr. Pascal Poindron Massot y al Dr. Héctor Vera Ávila mi más franco reconocimiento, por su ayuda y su amistad que me ayudaron a llevar a cabo esta tesis.

Al Dr. Benoît Malpoux y Phillipe Chemineau del INRA de Tours, Francia por su asesoramiento durante el presente trabajo.

A todos mis compañeros y amigos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, especialmente a Alfredo Flores, Gerardo Duarte, Jesús Vielma, Juanita Aguilar, Silvestre Moreno, Leonardo Iván Vélez, Guadalupe Rodríguez, Raymundo Rivas, Delfino Sánchez, Horacio Hernández, Evaristo Carrillo, Esther Peña y Dolores López por su amistad y su apoyo.

A los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, por todo su apoyo brindado durante todo mi estudio.

A los caprinocultores Crecencio Sandoval y Demetrio Merlín por haberme facilitado las hembras caprinas para la realización de las tres fases experimentales.

A los miembros del jurado por sus valiosas contribuciones para mejorar la calidad del presente escrito.



## Resumen

Se realizaron tres estudios para evaluar la importancia de algunos factores sociosexuales (hembras en estro al momento de la introducción de los machos y separación entre los dos sexos) para la eficacia del efecto macho en cabras. El primer estudio se realizó para determinar si la presencia de hembras en estro puede mejorar la respuesta de cabras lactantes y en anestro estacional a la introducción de machos en un grupo de hembras. Un primer grupo de hembras (testigo,  $n = 20$ ), fue expuesto a dos machos en reposo sexual. Un segundo grupo de hembras (testigo + E,  $n = 20 + 3$ ), fue expuesto también a dos machos en reposo sexual, pero tres hembras del grupo estaban en estro al momento de la introducción de los machos. El tercer grupo de hembras (tratado + E,  $n = 19 + 4$ ) fue expuesto a dos machos sexualmente activos, pero cuatro hembras del grupo estaban en estro al momento de la introducción de los machos. Un mayor número de hembras mostraron comportamiento estral en los primeros 15 días después de la introducción de los machos en el grupo tratado + E (18/19) comparado con los grupos testigo o testigo + E (2/20 y 0/20, respectivamente;  $P < 0.001$ ). Estos resultados indican que la presencia de hembras en estro al tiempo de la introducción de los machos no es suficiente para mejorar la respuesta de las hembras anéstricas. Se realizó un segundo estudio para determinar si la separación previa de los dos sexos es necesaria para estimular la actividad sexual de las cabras anéstricas a principio de la estación de anestro (15 de marzo). Para este estudio se utilizaron dos grupos de cabras ( $n = 25$  c/u), en contacto con un macho cada uno. El 16 de marzo, los dos machos fueron retirados, e inmediatamente después, un grupo de cabras fue puesto en contacto con otros tres machos en reposo sexual, mientras que el otro fue expuesto a tres machos sexualmente activos. En los primeros diez días de estimulación, más del 95% de las hembras en contacto con los machos testigo y tratados, mostraron al menos un estro ( $P > 0.05$ ). Se realizó un tercer estudio para determinar si la completa separación entre sexos es necesaria para estimular la actividad sexual de las cabras anovulatorias a la mitad del anestro (3 de abril), o si el nivel de la actividad sexual de los machos es más importante. La inducción de la actividad sexual fue estudiada en dos grupos de cabras anovulatorias ( $n = 11$  c/u) en contacto con un macho, así como en otros dos grupos ( $n = 11$  c/u) sin contacto con machos. El 3 de abril, los tres machos que estaban en contacto con las hembras fueron removidos. Inmediatamente después, dos grupos de hembras (uno previamente en contacto con un macho y el otro aislado) fueron expuestos a un macho en reposo sexual (1 macho/grupo), mientras que los otros dos grupos fueron puestos en contacto con un macho sexualmente activo (1 macho/grupo). Independientemente si tuvieron o no previo contacto con machos, más del 80% de las hembras mostraron un comportamiento estral y ovularon después de la introducción de los machos sexualmente activos. En

contraste, ninguna hembra de los otros dos grupos que fueron expuestos a machos en reposo sexual mostró comportamiento estral y únicamente una de estas ovuló. Estos resultados confirman que el previo periodo de separación entre hembras y machos no es necesario para estimular la actividad reproductiva mediante el efecto macho además indican que la presencia de hembras en estro al tiempo de la introducción de los machos no es suficiente para mejorar la respuesta de las hembras anéstricas. Asimismo, demuestran que el factor importante para estimular la actividad sexual de las hembras es la intensidad de la actividad sexual de los nuevos machos.

## Summary

Three studies were carried out to evaluate the importance of some factors biostimulation (females in estrous to the moment of the introduction of the males and previous separation between sexes) for the effectiveness of the male effect in goats. The first study was carried out to determine whether the presence of estrous females can improve the response of lactating and seasonally anovulatory goats to the introduction of bucks in to the group. In the control group (sexually inactive; SI;  $n = 20$ ), two sexually inactive bucks were introduced (SI). In the second group (SI + E,  $n = 20 + 3$ ), two sexually inactive males were also used, but in addition, three females of the group were in estrus at the time of male introduction. In the third group (sexually active, SA + E,  $n = 19 + 4$ ), anovulatory females were exposed to two sexually active bucks, and four estrous females were also present when introducing the bucks. In all groups, males were introduced on March 15<sup>th</sup>. More females displayed estrus behavior in the first 15 days following the introduction of the males in the SA + E group (18/19) as compared with the SI or SI + E groups (2/20 and 0/20, respectively;  $P < 0.001$ ). No difference was observed between the two latter groups. These results indicate that the presence of estrus females at the time of buck introduction is not sufficient to induce an adequate stimulation if bucks are not sexually active. A second study was performed to determine whether previous separation between sexes is necessary to stimulate the sexual activity of anoestrus female goats by the male effect at the beginning of the non-breeding season, when a moderate seasonal inhibition exists (15<sup>th</sup> March). Fifty Creole anovulatory female goats which had been in permanent contact with two male goats since December were used. On March 15<sup>th</sup>, the does were allocated to one of two groups ( $n = 25$  each, one male per group). On March 16<sup>th</sup>, the males that had been in contact with females were removed, and immediately, one group of does was put in contact with three sexually inactive bucks, while the other group was exposed to three sexually active bucks. Within the first 10 days, more than 95% of females in contact with control and treated bucks, showed at least an estrous behavior ( $P > 0.05$ ). Another study was performed to determine if complete separation between sexes is necessary to stimulate sexual activity by the male effect in anovulatory female goats halfway through the non-breeding season (3<sup>rd</sup> of April), when seasonal inhibition is supposed to be high, or if the level of sexual activity of the males is more important. The induction of estrous activity was studied in two groups of anovulatory goats ( $n = 11$  each) previously maintained in contact with one male, as well as in two more groups ( $n = 11$  each) without previous contact with males. On April 3<sup>rd</sup>, the two males in contact with females were removed. Immediately, two groups of females (one previously in contact with a male and one isolated) were exposed to a sexually inactive buck (one male

per group), while the other two groups were put in contact with a sexually active male (one male per group). Regardless of the existence or not of previous contact with males, more than 82% of the females displayed estrous behavior and ovulation after the introduction of sexually active males. In contrast, no females from the two groups exposed to sexually inactive males displayed estrous behavior, and only one of them ovulated. These results indicate that a period of isolation of seasonally anovulatory goats from bucks before the introduction of new males is not required to stimulate their reproductive activity by the male effect, if sexually active males are used, also indicate that the presence of estrus females at the time of buck introduction is not sufficient to induce an adequate stimulation if bucks are not sexually active.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
<b>Introducción</b>	1
<b>Objetivos e hipótesis</b>	5
<b>Antecedentes</b>	6
1. Influencia del medio ambiente sobre la reproducción .....	6
1.1. Estacionalidad reproductiva en los ovinos y caprinos de las zonas subtropicales .....	6
1.1.1. Hembras .....	6
1.1.2. Machos .....	9
1.2. Factores que afectan la estacionalidad reproductiva de los caprinos y ovinos de las zonas subtropicales .....	12
1.2.1. Alimentación .....	12
1.2.1.1. Hembras .....	12
1.2.1.2. Machos .....	13
1.2.2. Fotoperiodo .....	15
1.2.2.1. Hembras .....	15
1.2.2.2. Machos .....	15
1.2.3. Interacciones socio - sexuales .....	16
1.2.3.1. Estímulo del macho a la hembra: efecto macho .....	19
1.2.3.1.1. Cambios endocrinos y de comportamiento inducidos por la introducción de los machos .....	19
1.2.3.1.2. Percepción del macho por la hembra .....	22
1.2.3.1.3. Vías olfativas .....	22

1.2.3.2. Factores que afectan la respuesta de las hembras al efecto macho .....	24
1.2.3.2.1. Profundidad del anestro .....	25
1.2.3.2.2. Alimentación y condición corporal .....	28
1.2.3.2.3. Hembras en estro .....	28
1.2.3.2.4. Separación de los dos sexos .....	30
1.2.3.2.5. Actividad sexual del macho .....	31
Referencias .....	32

**Fase experimental I** 43

El éxito del efecto macho en cabras lactantes anéstricas depende de la presencia de machos sexualmente activos, y no de la presencia de hembras en estro .....	43
Resumen .....	44
Introducción .....	45
Materiales y métodos .....	46
Resultados .....	51
Discusión .....	55
Conclusión .....	58
Referencias .....	59

**Fase experimental II** 63

La presencia del macho en un grupo de cabras anéstricas no impide la respuesta estral inducida por la introducción de un nuevo macho al inicio de la estación de reposo sexual de las hembras.....	63
Resumen .....	64
Introducción .....	64
Materiales y métodos .....	66

Resultados .....	69
Discusión .....	74
Referencias .....	77

### **Fase experimental III** 81

El previo aislamiento de los machos no es requerido para inducir la actividad sexual en cabras mediante el efecto macho en medio de su periodo de anestro estacional (3 de abril) .....	81
Resumen .....	82
Introducción .....	82
Materiales y métodos .....	84
Resultados .....	88
Discusión .....	93
Conclusión .....	95
Referencias .....	96

### **Discusión general** 100

Referencias .....	104
-------------------	-----

### **Anexos**

Artículo 1. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. Anim. Reprod. Sci. 72 (2002) 197-207.

Artículo 2. La presencia del macho en un grupo de cabras anéstricas no impide su respuesta estral a la introducción de un nuevo macho. Vet. Méx. 35 (3) (2004) 167-178.

## Lista de Figuras

<b>Antecedentes</b>	<b>Pág</b>
Figura 1 Variaciones estacionales de la actividad estral y ovulatoria de las cabras Criollas del norte de México (26° N) (adaptado de Duarte, 2000).	8
Figura 2 Variaciones estacionales de peso testicular y concentraciones plasmáticas de testosterona de los machos cabríos Criollos del norte de México (26° N) (adaptado de Delgadillo <i>et al.</i> , 1999).	11
Figura 3 Representación esquemática de las interacciones sociales que se presentan entre una hembra y un macho en las cabras y las ovejas (adaptado de Walkden-Brown <i>et al.</i> , 1999).	18
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 (adaptado de Chemineau, 1987).	21
Figura 5 Efecto de la profundidad del anestro en las cabras Criollas de la Isla de Guadalupe del Caribe al efecto macho (adaptado de Chemineau, 1987).	27
<b>Fase experimental I</b>	
Figura 1 Porcentaje de hembras anéstricas que respondieron al efecto macho.	52
Figura 2 Comportamiento sexual de los machos después de la introducción en cada grupo de hembras anovulatorias.	54
<b>Fase experimental II</b>	
Figura 1 Número de conductas sexuales de los machos del grupo testigo, y tratado, después de la introducción de éstos en los grupos de hembras.	71
Figura 2 Porcentaje de hembras que presentaron una actividad estral después de la introducción de machos del grupo testigo y del grupo tratado.	73



### **Fase experimental III**

- Figura 1 Porcentaje de hembras que presentaron una actividad estral después de la introducción de machos tratados o testigo. 90
- Figura 2 Número de conductas sexuales de los machos registrado durante 2 h en los primeros cinco días después de la introducción de éstos en los grupos de hembras. 92

## Introducción

La cabra es uno de los animales domesticados más importantes para el hombre, ya que posee gran adaptabilidad a los diferentes ecosistemas del mundo. En México, las cabras se explotan principalmente en climas semidesérticos, los cuales ocupan más del 40% del territorio nacional (Romero-Paredes, 1998). Una de las zonas del país más importantes en la producción caprina es la Comarca Lagunera, región de 64,786 km<sup>2</sup>, situada en la parte sureste del estado de Coahuila y al noreste del estado de Durango, y comprendida entre los paralelos 24°05' y 26°54' de Latitud Norte y 103° Longitud Oeste. La precipitación pluvial es de 250 a 300 mm anuales. La altitud varía de 1100 a 1400 msnm. En esta zona geográfica de clima semidesértico, hay aproximadamente 400,000 cabras locales llamadas Criollas (SAGAR, 1998), que en su mayoría son explotadas de manera extensiva para producir principalmente leche y carne (cabrito). En este sistema los animales se mantienen en pastoreo en el agostadero, donde hay gran variabilidad en la cantidad y calidad de la flora. Además, algunos hatos son suplementados con residuos de cosechas o esquileo. Una de las limitantes productivas en estas cabras es la estacionalidad reproductiva. Cuando las cabras Criollas son explotadas en un sistema intensivo, donde los animales son estabulados y alimentados adecuadamente durante todo el año, presentan un periodo de anestro de marzo a agosto, caracterizado por la ausencia de ovulaciones y comportamiento estral, mientras que durante el periodo de actividad sexual (septiembre a febrero) presentan ovulaciones y estros cada 21 días (Duarte, 2000). En los machos, la libido, el peso testicular y la secreción de testosterona disminuyen durante el periodo de reposo sexual (enero a abril), presentando un aumento en la libido y secreción de testosterona durante el periodo de actividad sexual (mayo a diciembre) (Delgadillo *et al.*, 1999, 2003). Esta estacionalidad reproductiva provoca

que tanto la producción de leche como la de carne se concentre en cierta época del año. Esta estacionalidad reproductiva también se presenta en condiciones extensivas, bajo las cuales el 80% de los partos ocurre de noviembre a febrero. Esto provoca problemas de comercialización, ya que el exceso de producción estacional provoca una disminución de entre 30 y 50% en el precio del cabrito que nace entre noviembre y diciembre (Hoyos *et al.*, 1991). Aunque el precio de la leche no varía tan drásticamente durante el año, la estacionalidad reproductiva provoca que los ingresos por la venta de leche se vean muy reducidos entre septiembre y diciembre (Hoyos *et al.*, 1991; Hoyos y Sáenz, 1993). Por estas razones es necesario investigar las condiciones en las que se pueden aplicar nuevos métodos del control reproductivo de los animales, con el fin de que los caprinocultores puedan emplear dichas herramientas para programar los partos, y por ende, la producción de leche de los hatos caprinos de acuerdo a las ofertas de mercado. En la actualidad existen técnicas que permiten manejar adecuadamente y con resultados aceptables la estacionalidad reproductiva de los caprinos a través del uso de hormonas exógenas (Chemineau *et al.*, 1992; Leboeuf *et al.*, 1998). Sin embargo, la aplicación de estas técnicas son costosas, y en ocasiones difíciles de adaptar a sistemas de explotación extensivos, los cuales son comunes en México. En estas condiciones, los procedimientos para inducir la actividad sexual de las hembras y los machos deben ser simples, de bajo costo y de fácil aplicación para que puedan ser integradas en los sistemas extensivos. Una de las técnicas que permite inducir la actividad sexual de las hembras durante el periodo de anestro es el efecto macho, el cual consiste en la introducción súbita del macho en un grupo de hembras anovulatorias previamente separadas de los machos, lo que provoca una estimulación de su actividad sexual en los días subsiguientes (Chemineau, 1987; Flores *et al.*, 2000). Sin embargo, con esta técnica el porcentaje de hembras que responden a la estimulación, la sincronización de la actividad estral y la rapidez de respuesta son afectados por varios factores, como lo son la actividad sexual del

macho, la separación de los sexos antes de la introducción de los machos, la época del año, y el número de hembras que están en estro al momento de la introducción del macho, entre otros (Walkden-Brown *et al.*, 1999; Rosa y Bryant, 2002). En más del 80% de las cabras Criollas locales de la Comarca Lagunera muestran comportamiento estral después de la introducción de machos a los que previamente se les ha inducido una intensa actividad sexual mediante el tratamiento de 2.5 meses de días largos, seguidos o no de la inserción subcutánea de dos implantes de melatonina (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002). En cambio, menos del 10% de estas hembras expuestas a machos, en reposo sexual, muestran estro en ese mismo periodo (Flores *et al.*, 2000).

Por lo anterior, al parecer el efecto macho puede ser un método muy interesante para inducir y sincronizar la reproducción en cabras anéstricas. Sin embargo queda por aclararse el papel de algunos factores asociados al contexto socio-sexual al momento de la bioestimulación. Por ejemplo, un factor que podría mejorar el estímulo, y a su vez la repuesta sexual de las hembras cuando se utilizan machos en reposo sexual, es la presencia de hembras en celo al momento de la introducción de los machos (Walkden-Brown *et al.*, 1993b; Rosa *et al.*, 2000). Sin embargo, en las cabras Criollas de la Comarca Lagunera no se conoce si la respuesta sexual a machos en reposo sexual pueda mejorarse al incluir hembras en estro, lo que facilitaría el uso del efecto macho. De manera similar, como anteriormente ya se mencionó, se supone que otro factor muy importante que aparentemente influye para obtener una buena respuesta sexual de las cabras al efecto macho, es la completa separación (olor, sonido, vista, tacto) de los dos sexos antes de la introducción de los machos (Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001). Esto es una limitante para poder realizar el efecto macho en la Comarca Lagunera, ya que la mayoría de los productores tiene sus cabras en continuo contacto con machos, lo que puede impedir la respuesta de las hembras a la introducción de otros machos. Si se demuestra que la separación no es necesaria, esto simplificaría

y facilitaría mucho la aplicación del efecto macho, al poderse aplicar en las hembras anovulatorias con solo cambiar los machos.

## **Objetivo general**

Evaluar algunos factores que afectan la respuesta de las cabras Criollas del Norte de México al efecto macho

## **Objetivos específicos**

Determinar si la presencia de cabras en celo mejora la respuesta de las hembras anéstricas al efecto macho cuando se usan machos en reposo sexual (Fase experimental I).

Determinar si la separación previa de los dos sexos antes de la inducción del efecto macho es necesaria en caprinos para inducir la actividad sexual de las hembras, o si es más importante la actividad sexual de los nuevos machos introducidos (Fase experimental II y III).

## **Hipótesis de acuerdo a objetivos específicos**

La presencia de hembras en celo mejora la respuesta de las hembras anéstricas cuando se usan machos en reposo sexual (Fase experimental I).

La separación previa de los dos sexos antes del efecto macho no es necesaria para inducir la actividad sexual de las hembras, lo más importante es la intensidad de la actividad sexual de los nuevos machos (Fase experimental II y III).

## **Antecedentes**

### **1. Influencia del medio ambiente sobre la reproducción**

En los mamíferos, la actividad sexual es modulada por el medioambiente, el cual interactúa con el genotipo de los individuos, determinando los momentos más propicios del año para que la reproducción se lleve a cabo (Bronson y Heideman, 1994). Entre los factores más importantes están la nutrición y el fotoperiodo. Sin embargo, las relaciones socio - sexuales (macho - hembra; hembra - hembra; macho - macho) tienen también una gran importancia en el control del ciclo anual de reproducción (Rekwot *et al.*, 2001).

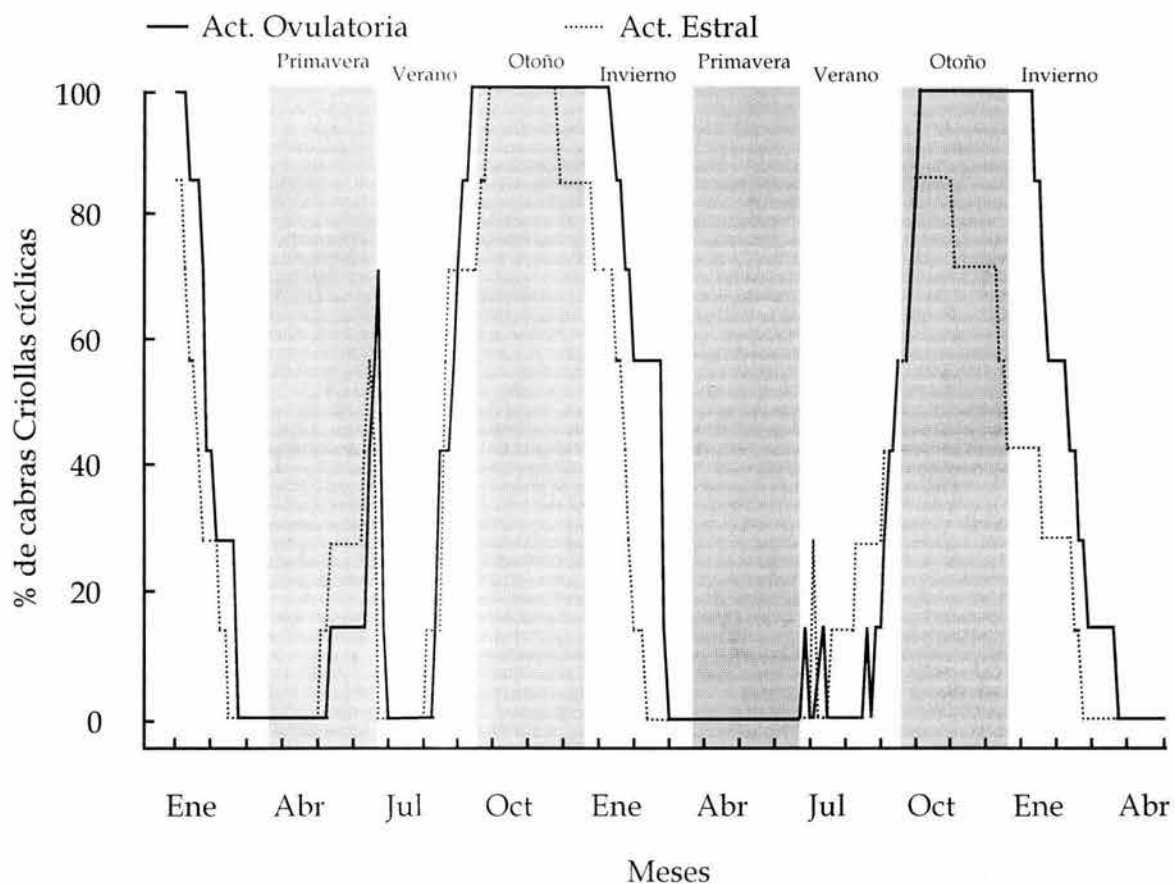
#### **1.1. Estacionalidad reproductiva en los ovinos y caprinos de las zonas subtropicales**

##### **1.1.1. Hembras**

Algunas razas de caprinos y ovinos originarios o adaptados a las zonas subtropicales (25° a 40° latitud) presentan una actividad reproductiva estacional (Restall, 1992; Delgadillo *et al.*, 2003). Durante la época de anestro las hembras no presentan ovulaciones ni comportamiento estral, mientras que durante el periodo natural de reproducción sexual presentan, en promedio, ovulaciones y estros cada 21 días en las cabras, y cada 16 días en las ovejas (Thimonier y Mauléon, 1969; Chemineau *et al.*, 1992). Por ejemplo, en las cabras Cashmere australianas (29° S), la época de reproducción se presenta en otoño e invierno (febrero a agosto), mientras que el periodo de anestro se observa en primavera y verano (septiembre a enero; Restall, 1992). Las ovejas de esta misma latitud, presentan también variaciones estacionales, con un periodo de actividad sexual que empieza en febrero y termina

en julio (Restall, 1992). Las cabras Criollas de Argentina (30° S) mantenidas con una alimentación adecuada y constante, también presentan una actividad reproductiva estacional. La época de reproducción se presenta en otoño e invierno (febrero a septiembre), mientras que el periodo de anestro se observa en primavera y verano (octubre a enero; Rivera *et al.*, 2003). Por otro lado, las hembras caprinas Criollas del norte de México (26° N) manifiestan una estacionalidad reproductiva. Las hembras mantenidas en estabulación y sin contacto permanente con machos, y con una buena condición corporal, muestran un periodo de anestro que inicia en marzo y termina en agosto (primavera y verano), mientras que el periodo de actividad sexual se observa de septiembre a febrero (otoño e invierno). Sin embargo, dependiendo del año, un número variable de hembras puede presentar actividad sexual durante el periodo de anestro, pero con una disociación entre el estro y la ovulación (Duarte, 2000; Figura 1). En estas mismas hembras mantenidas en pastoreo extensivo con la presencia continua de machos, donde la disponibilidad y calidad del alimento varía durante el año, el anestro empieza en marzo (principios de primavera), pero termina en mayo (finales de primavera; Delgadillo *et al.*, 2003). En estas condiciones la disminución del periodo de anestro se debe probablemente a la presencia permanente de machos (Duarte, 200; Restall, 1992; Rincón *et al.*, 2003).



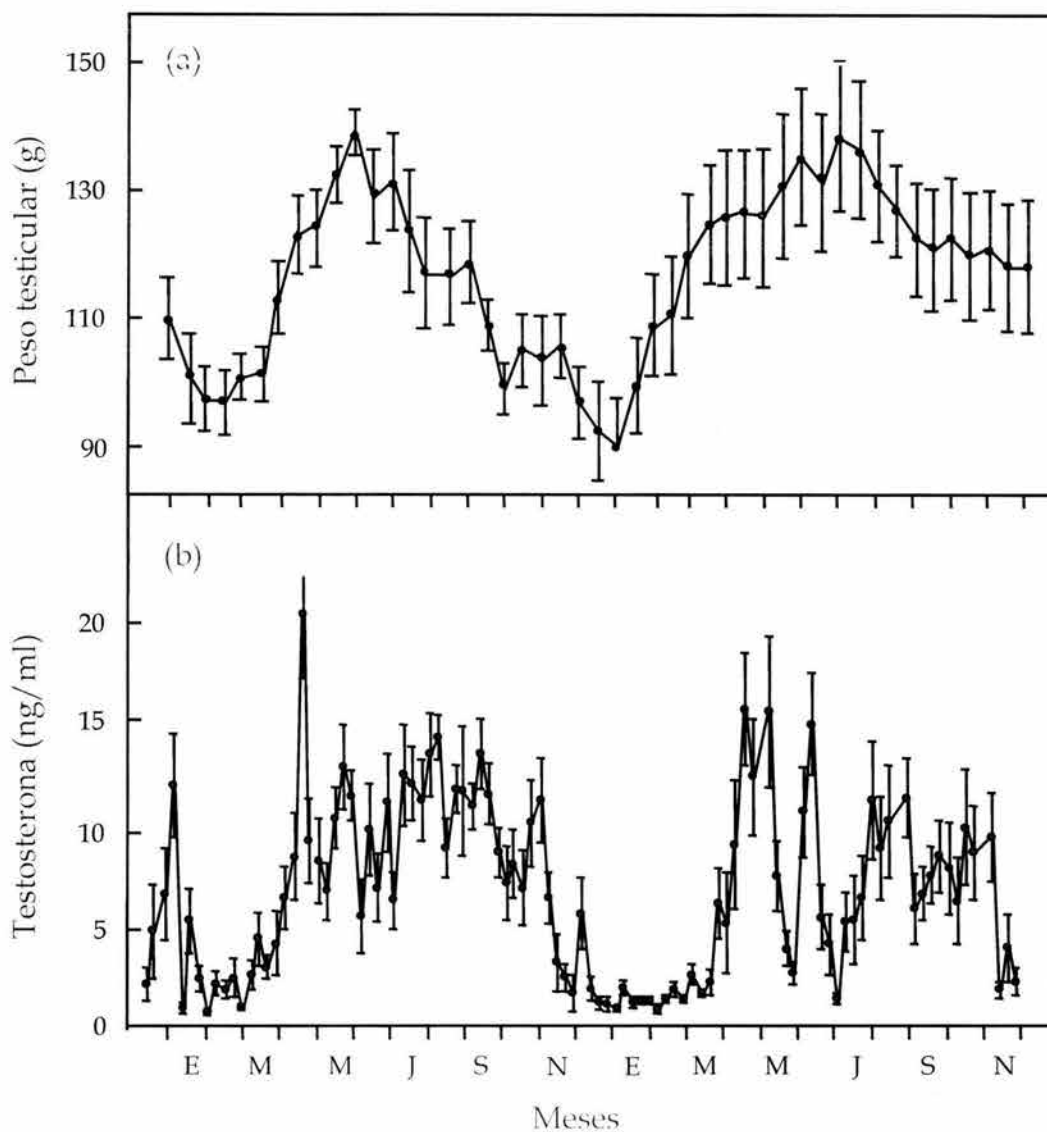


**Figura 1.** Variaciones estacionales de la actividad estral y ovulatoria de las cabras Criollas del norte de México (26° N) mantenidas en estabulación, alimentadas adecuadamente y sometidas a las variaciones naturales del fotoperiodo (Adaptado de Duarte, 2000).

### 1.1.2. Machos

Algunos machos de razas originarias o adaptadas a las zonas subtropicales presentan también una actividad reproductiva estacional (Walkden-Brown *et al.*, 1994a; Delgadillo *et al.*, 1999). Por ejemplo, en los carneros Corriedale uruguayos (32° S) explotados en condiciones extensivas, los niveles plasmáticos de testosterona, indicativa de la actividad reproductiva, presentan variaciones durante el año. Estos animales tienen niveles altos de testosterona durante el otoño, que empiezan a decrecer durante el invierno, y son bajos durante la primavera y el verano (Gastel *et al.*, 1995). Los caprinos Cashmere australianos también presentan variaciones de su actividad reproductiva. En ellos se observa un periodo de disminución de su actividad sexual, de principios de invierno hasta mediados de la primavera (junio a octubre). En este periodo, los animales muestran una baja secreción de LH y testosterona. Además, el peso testicular y la producción espermática son menores que los encontrados durante la época de reproducción (noviembre a mayo). Los machos caprinos Murciano-Granadinos en España (37° N), presentan una disminución de su diámetro testicular durante el invierno (4.89 cm), el cual se incrementa durante la primavera (5.16 cm) y el verano (5.19 cm), decreciendo posteriormente en otoño (5.04 cm; Roca *et al.*, 1991). Asimismo, el número total de espermatozoides por eyaculado durante el invierno es menor ( $2.49 \times 10^9$ ) que durante las otras estaciones del año ( $> 3.8 \times 10^9$ ; Roca *et al.*, 1992). La latencia a la monta es más prolongada durante la primavera (318 s) que durante el verano (144 s; Roca *et al.*, 1991). Por otro lado, los machos caprinos Criollos del norte de México (26° N) presentan también una estacionalidad reproductiva. Los machos mantenidos en estabulación y con una adecuada alimentación, muestran un periodo de disminución de su actividad sexual de enero a abril, el cual se caracteriza por un bajo peso testicular y un decremento en la secreción de testosterona plasmática (Delgadillo *et al.*, 1999; Figura 2).

Igualmente, durante la época de disminución de su actividad sexual se incrementa la latencia a la eyaculación (183 s en abril), mientras que durante el periodo de reproducción disminuye (96 s de mayo a noviembre). Se observa también una reducción del número de espermatozoides por eyaculado en febrero y marzo ( $1.4 \times 10^9$ ), mientras que este se incrementa entre mayo y septiembre ( $2.8 \times 10^9$ ; Delgadillo *et al.*, 1999).



**Figura 2.** Variaciones estacionales (promedio  $\pm$  SEM) de: a) peso testicular y b) concentraciones plasmáticas de testosterona de los machos cabríos Criollos del norte de México ( $26^{\circ}$  N) mantenidos en estabulación y con una adecuada alimentación y sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo (Adaptado de Delgadillo *et al.*, 1999).

## 1.2. Factores que afectan la estacionalidad reproductiva de los caprinos y ovinos de las zonas subtropicales

### 1.2.1. Alimentación

Debido a las variaciones drásticas de la disponibilidad de alimento que ocurren en las zonas subtropicales, y a que muchos caprinos y ovinos son explotados de manera extensiva, se ha reportado que la alimentación es el factor más importante que controla el ciclo anual de reproducción en estas especies (Walkden-Brown *et al.*, 1994a; Martin *et al.*, 2002).

#### 1.2.1.1. Hembras

En las ovejas y en las cabras, la nutrición puede influir en la actividad reproductiva (Tanaka *et al.*, 2002; Atti *et al.*, 2001). El mayor efecto de la nutrición es sobre la tasa de ovulación, la fertilidad y la duración de la estación reproductiva (Nottle *et al.*, 1997b; Delgadillo *et al.*, 2003). En las cabras Shiba ovariectomizadas portadoras de un implante de estradiol, con una condición corporal baja y sometidas a un periodo de restricción alimenticia, la pulsatilidad de LH disminuye de 4.8 pulsos en 4 h a 2.3 pulsos al tercer día, mientras que en las hembras con una condición corporal buena, la pulsatilidad de LH no se modifica (4.5 pulsos en 4 h antes y 4.3 pulsos después del periodo de restricción alimenticia; Tanaka *et al.*, 2002). Las ovejas Merino australianas (34° S) alimentadas con una alimentación de baja calidad responden a un tratamiento de sincronización con una tasa ovulatoria de  $1.1 \pm 0.1$ , mientras que en las ovejas que fueron suplementadas durante 10 días antes de la sincronización, la tasa ovulatoria se elevó a  $1.6 \pm 0.1$  (Nottle *et al.*, 1997b). Las ovejas Barbarine de Tunes con una condición corporal baja (1.8 puntos) tuvieron una fertilidad del 75%, mientras que en las hembras con una condición

corporal buena (3.4 puntos), la fertilidad fue del 94% (Atti *et al.*, 2001). En las ovejas Rambouillet del sur de Nuevo México, la estacionalidad es más marcada en las hembras que fueron sometidas a la alimentación natural de esta región que en las hembras mantenidas en una alimentación adecuada durante todo el año (Hulet *et al.*, 1986). Por ejemplo, el porcentaje de hembras que ovulan al inicio de la estación reproductiva es menor en las ovejas mal alimentadas (8%, 0% y 4%; mayo, junio y julio, respectivamente), que en las ovejas bien alimentadas (42%, 17% y 75%, respectivamente). También el final de la estación reproductiva (febrero) de estas hembras fue afectada (48% *vs.* 100% de ovulaciones en las mal alimentadas y bien alimentadas, respectivamente; Hulet *et al.*, 1986). Asimismo, en cabras Criollas del norte de México (26° N) ovariectomizadas e implantadas subcutáneamente de estradiol, los niveles de LH descienden un mes antes (febrero) en las hembras mantenidas en condiciones extensivas que en aquellas que son mantenidas en estabulación (marzo). Esta diferencia ocurre a principios del año durante la época de sequía, por lo que muy probablemente esta diferencia se debe a una drástica disminución en la disponibilidad de alimento en los animales explotados en pastoreo extensivo (Delgadillo *et al.*, 2003).

#### **1.2.1.2. Machos**

Al ser sometidos a una dieta de alta calidad, los machos Cashmere australianos muestran periodos reproductivos más largos y un incremento más marcado en las concentraciones de LH y testosterona, así como en la intensidad del olor, que los machos sometidos a una dieta de baja calidad (Walkden-Brown *et al.*, 1994a). Efectivamente, en los machos alimentados con una dieta de alta calidad los niveles de testosterona son elevados durante la primavera y otoño, mientras que en los subalimentados las altas concentraciones se muestran únicamente durante el otoño. La intensidad del olor se incrementa en los machos bien alimentados en el

mes de octubre, alcanzando una intensidad máxima ( $> 2.5$  puntos; en una escala de 0 a 3) en el mes de febrero, mientras que en los animales con una dieta de baja calidad se incrementa hasta el mes de febrero, alcanzado su nivel más alto en el mes de marzo ( $< 2$  puntos; Walkden-Brown *et al.*, 1994a). En los carneros Merino ( $32^\circ$  S) sometidos a una alimentación constante durante todo el año, las variaciones estacionales de la circunferencia escrotal y de la pulsatilidad de la LH, indicativos de la modulación de la actividad sexual, tienden a desaparecer (Martin *et al.*, 2002). En cambio, si son sometidos a las variaciones naturales de alimentación y de fotoperíodo, los machos Merinos presentan fuertes variaciones de su actividad reproductiva, presentando un gran aumento de su circunferencia escrotal a principio de invierno, alcanzando su máximo aumento a mitad de la primavera, y disminuyendo hasta el final del verano, para alcanzar su menor peso a finales del otoño. Thwaites (1995) también menciona que los carneros Merino ( $31^\circ$  S) subalimentados con una dieta con solo el 10% de la energía de mantenimiento durante el otoño muestran a los 28 días una disminución significativa del volumen testicular ( $102 \pm 17$  ml), comparados con los alimentados adecuadamente (100% de la energía metabolizable;  $189 \pm 12$  ml). En los carneros Corriedale uruguayos ( $32^\circ$  S) la alimentación también influye en la actividad reproductiva. En efecto, cuando éstos son suplementados durante la primavera, su circunferencia escrotal se incrementa más rápidamente que en los machos mantenidos con una dieta de mantenimiento (Pérez-Clariget *et al.*, 1998a,b). En los machos Criollos del norte de México ( $26^\circ$  N), el número total de espermatozoides por eyaculado obtenido durante la estación sexual fue superior en los machos estabulados que en los machos en condiciones extensivas. Además, la intensidad del olor, que está relacionada con la secreción de testosterona, empezó a disminuir en los machos explotados en condiciones extensivas desde el mes de octubre, mientras que en el grupo de machos estabulados, esta reducción se registró a partir del mes de diciembre (Sánchez, 2003).

## 1.2.2. Fotoperiodo

En algunos estudios de caprinos de las zonas subtropicales, se ha reportado que el fotoperiodo es un factor medioambiental muy importante que controla la estacionalidad reproductiva (Delgadillo *et al.*, 2003; Rivera *et al.*, 2003).

### 1.2.2.1. Hembras

Las cabras Criollas de Zacatecas, México, localizadas a una latitud de 22°58' N y sometidas a un régimen fotoperiódico anual que se redujo a seis meses, presentan su actividad ovárica durante los días con menor fotoperíodo (Rincón *et al.*, 2003). Asimismo, en las cabras Criollas del norte de México (26° N), se ha comprobado que cuando son sometidas a un tratamiento fotoperiódico de tres meses de días largos, alternados con tres meses de días cortos, su actividad reproductiva es modificada. La actividad ovárica inicia en promedio a los 64 días después de pasar de días largos a días cortos, y termina a los 38 días después de pasar de días cortos a días largos (Duarte, 2000).

### 1.2.2.2. Machos

En machos caprinos del sur de los Estados Unidos de América (32°33' N) sometidos a días largos (16 h luz y 8 h oscuridad por día) en diciembre por 30 días, el nivel de testosterona se redujo en comparación a los machos sometidos a días cortos (10 h de luz y 14 h oscuridad por día; Gazal *et al.* 2002). En los machos caprinos Criollos del norte de México (26° N) mantenidos en estabulación y con una alimentación adecuada, se ha comprobado que cuando son sometidos a un tratamiento fotoperiódico de tres meses de días largos alternados con tres meses de días cortos, su actividad reproductiva se modifica. Bajo este esquema, los niveles

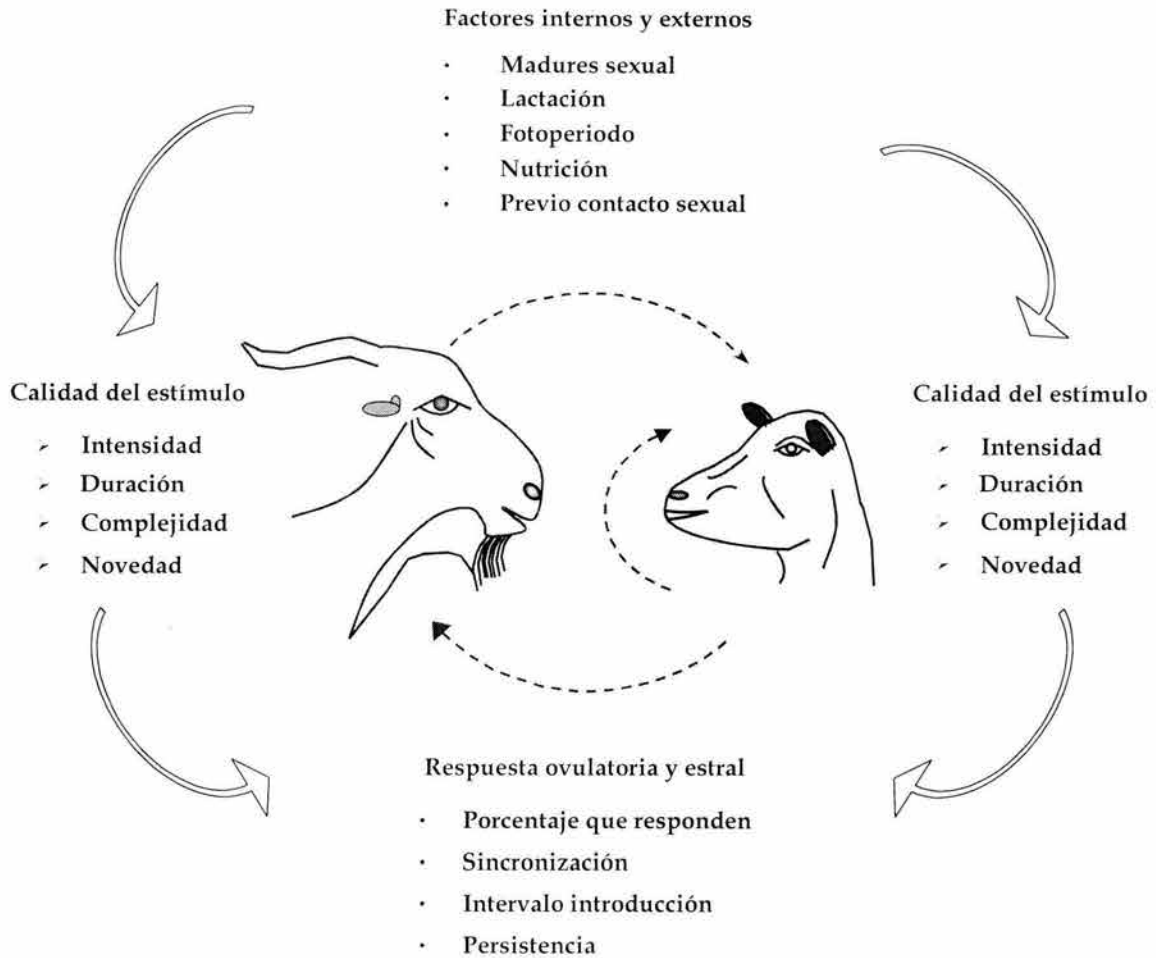


plasmáticos de testosterona indicativa de la actividad sexual se incrementa durante los días cortos, mientras que disminuyen durante los días largos (Delgadillo *et al.*, 2003). En estos machos la utilización de 2.5 meses de días largos (16 h de luz/día) a partir del 1 de noviembre, seguidos de dos implantes de melatonina (18 mg c/u), o de días cortos naturales, permite modificar la actividad reproductiva. Este tratamiento induce niveles plasmáticos de testosterona, así como el comportamiento sexual (montas, intentos de montas, aproximaciones y olfateos anogenitales) superiores a los registrados en los machos testigo no tratados (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002). Asimismo, en machos explotados bajo condiciones extensivas y sujetos a drásticas variaciones en la disponibilidad de alimento, la exposición a 2.5 meses de días largos seguidos de días cortos naturales, estimula la secreción de testosterona durante el periodo de reposo (marzo a abril; Duarte *et al.*, 2003).

### **1.1.3. Interacciones socio - sexuales**

En los mamíferos, las interacciones sexuales también tienen gran importancia en el control reproductivo (Rekwot *et al.*, 2001; Figura 3). Por ejemplo, en las gacelas la presencia de los machos tiende a sincronizar la actividad folicular (Skinner *et al.*, 2002). La introducción de un macho o su presencia constante en un grupo de hembras prepúberes puede adelantar la pubertad (roedores: efecto Vanderbergh: Vandenberg, 1967; cerdos: Kirkwood *et al.*, 1981; bovinos: Rekwot *et al.*, 2000). En algunas razas de bovinos de carne, en el venado rojo y en los cerdos, la presencia continua del macho reduce la duración del anestro posparto (cerdos: Kirkwood *et al.*, 1981; venado: McComb, 1987; bovinos: Cupp *et al.*, 1993). De la misma forma, se ha observado que la presencia continua de un macho durante todo el año en un grupo de cabras o de ovejas, reduce su periodo de anestro al iniciar su actividad reproductiva antes y terminar después (Restall, 1992;

O'Callaghan *et al.*, 1994). Asimismo, la introducción súbita del macho en un grupo de hembras anovulatorias, induce la actividad reproductiva unos días después de ponerlos en contacto (Martin *et al.*, 1986; Chemineau, 1987). El primero que reportó este fenómeno en las ovejas fue Girard (1813). Este fenómeno ha sido estudiado y reportado posteriormente por otros investigadores denominándole efecto macho (ovinos; Underwood *et al.*, 1944; caprinos; Shelton, 1960). El efecto macho ha sido utilizado como una técnica reproductiva para inducir la actividad sexual de las hembras durante el periodo de anestro.



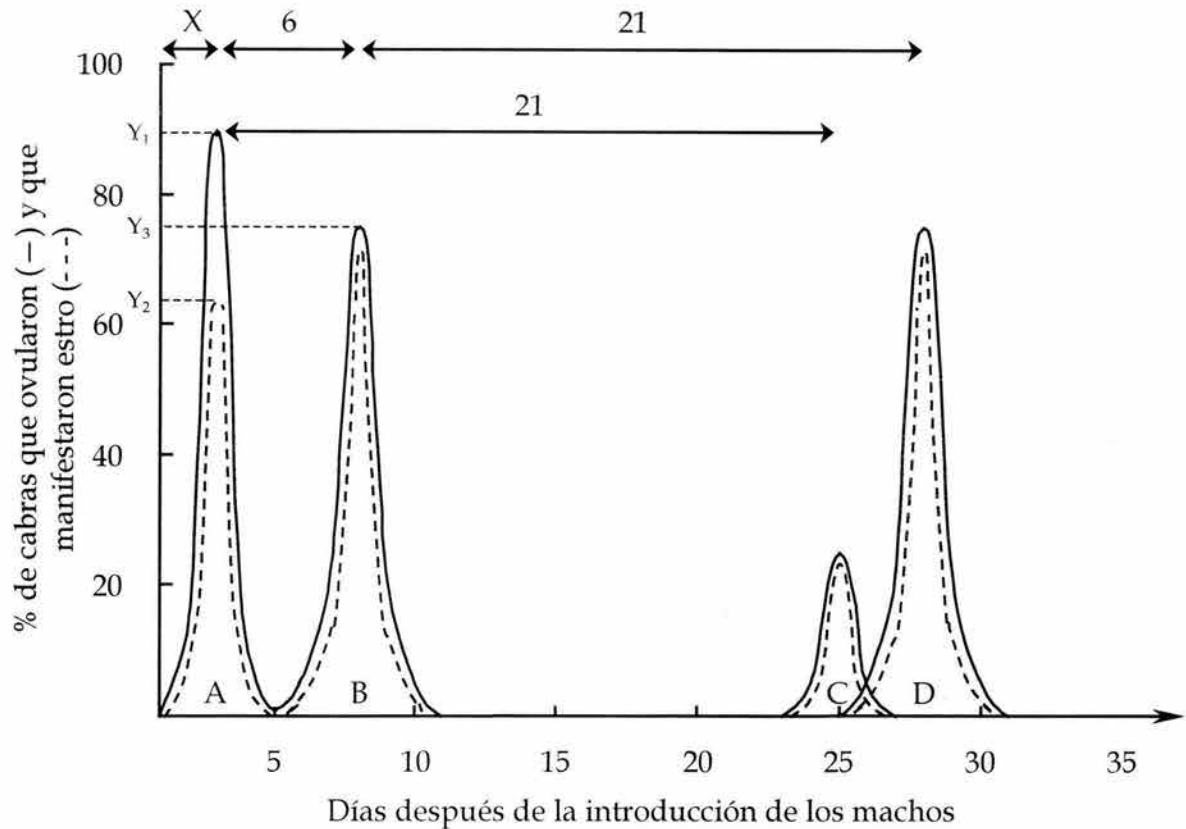
**Figura 3.** Representación esquemática de las interacciones sociales que se presentan entre una hembra y un macho en las cabras y las ovejas. En esta se presenta el estímulo del macho a una hembra (efecto macho), el cual puede ser reforzado mediante el efecto hembra directo e indirecto. La respuesta sexual de las hembras anovulatorias a la introducción de un macho puede ser afectada por factores ambientales, fisiológicos y sociales en cualquiera de los sexos, alterando la respuesta sexual del individuo receptor (Adaptado de Walkden-Brown *et al.*, 1999).

### 1.2.3.1. Estímulo del macho a la hembra: efecto macho

#### 1.2.3.1.1. Cambios endocrinos y de comportamiento inducidos por la introducción de los machos

La introducción del macho a un grupo de hembras en anestro, estimula inmediatamente la secreción pulsátil de la LH (Martin *et al.*, 1986; Chemineau, 1987). Por ejemplo, Chemineau *et al.* (1986) mencionan que en las cabras Saanen la secreción pulsátil de LH pasó de 0.3 pulsos por cada 3 h, con una amplitud de 0.5 ng/ml antes de la introducción del macho, a 2.2 pulsos por cada 3 h, con una amplitud de 1.2 ng/ml después de la introducción del macho. Esto a su vez, indica un incremento en la secreción pulsátil del GnRH (ovejas: Hamada *et al.*, 1996; caprinos: Iwata *et al.*, 2000). Este aumento de la actividad hipotálamica - hipofisiaria estimula el crecimiento folicular y provoca la aparición de un pico preovulatorio de LH mediante una retroalimentación positiva del estradiol sobre la secreción de la LH (Signoret, 1990). En las cabras Criollas de la Isla de Guadalupe, el surgimiento del pico preovulatorio de LH ocurre a las  $53 \pm 12$  h después de la introducción del macho, y la ovulación ocurre 24 h más tarde (Chemineau, 1985). Esta ovulación fue acompañada en un 68% de un comportamiento estral entre el día dos y tres. Sin embargo, la mayoría (76%) de las ovulaciones fueron seguidas por una fase lútea de corta duración (5.3 días) con una baja secreción de progesterona plasmática. Este ciclo ovárico corto fue seguido de una segunda ovulación, la cual se asoció en un 89% con la manifestación de comportamiento estral, que se presentó entre los días 7 y 12 después de la introducción de los machos (Chemineau, 1983; Figura 4). En las cabras Criollas de la Isla de Guadalupe, la tasa ovulatoria en la primera ovulación fue menor que la encontrada en la segunda ovulación (1.56 *vs.* 2.05, respectivamente), lo que indica que el segundo periodo de actividad fue completamente normal (Chemineau, 1983). En

un estudio realizado en las cabras Criollas del norte de México, por Flores *et al.* (2000) se obtuvieron resultados muy similares a los de Chemineau (1987). Un primer pico de actividad sexual fue registrado en los primeros 6 días después de la introducción de los machos. El 59% de las hembras ovularon y presentaron estro y el 14% ovuló sin manifestar actividad estral. De éstas, un 50% ovularon y presentaron comportamiento de estro nuevamente entre el día 7 y 11 (segundo pico de actividad sexual), y el intervalo entre un estro y otro estro fue de  $5.0 \pm 0.2$  días.



**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% (Y1) de las hembras ovularon alrededor del día 3 después de la introducción de los machos (pico A). Esta primera ovulación se asoció con comportamiento de estro en el 62% de las hembras (Y2). La primera ovulación fue seguida en la mayoría de los casos por un ciclo corto, por lo que muchas hembras ovularon nuevamente después de 6 días de la primera ovulación (pico B, Y3). Si las hembras no quedan gestantes, ovularon por tercera ocasión 21 días más tarde. Un 25% de las cabras (25%) experimentaron un ciclo normal después de la primera ovulación y, si no quedaron gestantes, ovularon nuevamente 21 días después de la primera ovulación (pico C). Las ovulaciones de los picos B, C y D se asociaron con comportamiento de estro (Adaptado de Chemineau, 1987).

### 1.2.3.1.2. Percepción del macho por la hembra

La respuesta de las ovejas y cabras a la introducción de un macho es un fenómeno multisensorial. Efectivamente, cuando se impide el contacto de un macho con las hembras a través de una cerca clara, sólo se estimula al 70% de éstas, mientras que cuando se permite el contacto físico total con los machos, se estimula un 95% de ellas (Pearce y Oldham, 1988). Además, en las cabras Criollas de la Isla de Guadalupe, la supresión del sistema olfativo principal y el sistema olfatorio accesorio (vomeronasal), con sulfato de zinc (1%), no impidió su respuesta sexual a la introducción de un macho. Sin embargo, decreció el porcentaje de cabras que ovularon y presentaron estro (50% en hembras anósmicas contra 89% en cabras testigo; Chemineau *et al.*, 1986). Sin embargo, es muy probable que el sistema vomeronasal pudo quedar funcional. Lo anterior sugiere que la respuesta al efecto macho está mediada, además de las vías olfativas, por otras vías sensoriales (táctil, auditivo, visual; cabra: Shelton, 1980; oveja: Signoret, 1990). Sin embargo, la mayoría de los estudios que sean efectuado son sobre las vías olfativas, ya que como se vio anteriormente, solo el olor del macho se puede estimular a un gran número de hembras.

### 1.2.3.1.3. Vías olfativas

El sistema olfativo de las hembras juega un papel muy importante en la percepción del macho (ovejas: Signoret, 1990; cabras: Chemineau, 1987). En efecto, en las hembras, el olor del macho es suficiente para estimular la secreción pulsátil de LH (Claus *et al.*, 1990; Over *et al.*, 1990). Por ejemplo, Claus *et al.* (1990) mencionan que al ser expuestas cabras al pelo del macho, la pulsatilidad de la LH en las hembras anovulatorias se incrementó de  $1.6 \pm 0.6/6$  h a  $2.6 \pm 1.1 /6$  h. Sin

embargo, el porcentaje de hembras que llegan a ovular fue menor que el obtenido cuando se pusieron en contacto directo con los machos. En las cabras Cashmere australianas, el 40% de las hembras ovularon al exponerlas solamente al olor del macho, y el 35% lo hizo al estar expuestas al olor más la orina del macho. En cambio, el 95% ovuló al ser expuestas a los machos (Walkden-Brown *et al.*, 1993a). Esto demuestra que a diferencia de lo que ocurre en otras especies (bovinos: Izard y Vandenberg, 1982a; roedores: Moss *et al.*, 1998), la orina del macho no tiene influencia en la estimulación sexual de las cabras y ovejas (Knight y Lynch, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1993a).

La estimulación feromonal puede ejercer su efecto mediante dos vías olfativas: a) el sistema olfatorio principal, que recibe los estímulos sensoriales desde la mucosa olfatoria y se conecta con el resto del sistema nervioso central a través del bulbo olfatorio principal, y b) el sistema olfatorio accesorio, que recibe los estímulos del órgano vomeronasal (órgano de Jacobson) y que se conecta a otros centros del cerebro mediante el bulbo olfatorio accesorio (Álvarez y Zarco, 2001). En ambos sistemas existen vías desde los bulbos olfatorios hasta los centros del hipotálamo donde están los centros nerviosos que controlan la secreción de la LH a través de la secreción del GnRH. Sin embargo, en las ovejas se ha demostrado, a diferencia de otras especies como los roedores (Kaneko *et al.*, 1980, Moss *et al.*, 1998), que el sistema olfatorio accesorio (vomeronasal) no es necesario para estimular la actividad neuroendocrina con el olor del macho. En efecto, en las ovejas anovulatorias en las que se destruye el vomeronasal por electrocauterización, el número de éstas que incrementaron la pulsatilidad de LH al ser expuestas a la lana del macho es similar (7/12) a las hembras intactas (8/12; Cohen-Tannoudji *et al.*, 1989).

Lo anterior ha conducido a la realización de varios estudios para tratar de determinar la constitución bioquímica de la feromona del pelo y la lana. Se ha demostrado que tanto la fracción lipídica o neutra, como la ácida del pelo de los



machos caprinos y ovinos estimulan la pulsatilidad de la LH de las hembras (Claus *et al.*, 1990; Cohen-Tannoudji *et al.*, 1994), por lo que probablemente las feromonas implicadas en la estimulación sexual constituyen una mezcla de un gran número de sustancias químicas. En los caprinos, las feromonas se producen en gran cantidad en las glándulas sebáceas situadas en la parte posterior a la base de los cuernos (Walkden-Brown *et al.*, 1993a; Iwata *et al.*, 2000, 2001; Wakabayashi *et al.*, 2000), mientras que en el carnero se ha demostrado que la lana de diferentes partes del cuerpo es eficiente para estimular la actividad sexual (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1994). En los caprinos, Iwata *et al.* (2000) demostraron que las feromonas del macho son producidas bajo la acción de la testosterona, ya que en los machos caprinos castrados, el tamaño de las glándulas sebáceas y la actividad feromonal se incrementa sustancialmente al ser tratados con testosterona, mientras que en su ausencia disminuye. De igual forma, los carneros castrados estimularon menos del 5% de la actividad ovárica de las hembras, mientras que hembras y/o machos castrados tratados con andrógenos indujeron la actividad ovárica en el 42% y el 71% de las hembra anéstricas (Signoret *et al.*, 1982/1983).

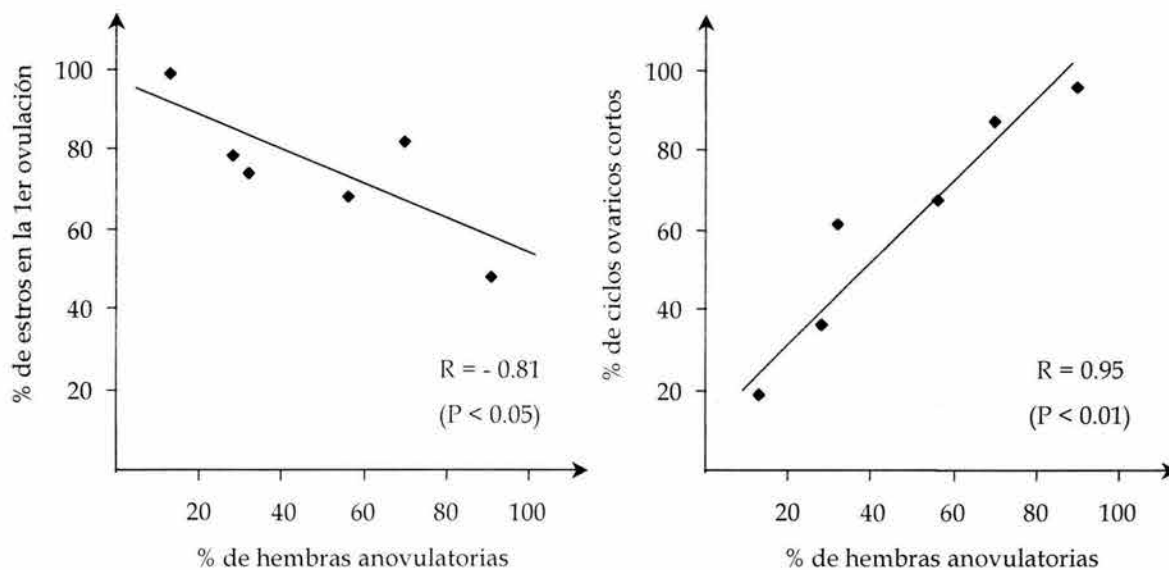
### **1.2.3.2. Factores que afectan la respuesta de las hembras al efecto macho**

Como anteriormente se mencionó, la respuesta sexual de las hembras al efecto macho puede ser afectada por la “receptividad” o la capacidad de éstas a responder a la introducción de un macho (Chemineau, 1987). Esta receptividad puede variar debido principalmente a la profundidad del anestro y a la nutrición. Sin embargo, otros factores que pueden ser importantes en la respuesta de las hembras al efecto macho, son la presencia de hembras en estro al momento de la introducción de los machos, la separación entre los dos sexos antes de la introducción de los machos, y la libido del macho.

### 1.2.3.2.1. Profundidad del anestro

En las razas caprinas y ovinas no estacionales o moderadamente estacionales (anestro ligero o poco profundo), tales como la oveja Merino y la cabra Criolla de la Isla de Guadalupe, el efecto macho funciona en cualquier época del año (ovejas: Lindsay y Signoret, 1980; cabras: Chemineau, 1983). En cambio, en las razas muy estacionales el efecto macho sólo funciona al final y justo antes del inicio de la estación natural de reproducción; de esta manera, la introducción del macho puede adelantar o prolongar solamente unas pocas semanas la estación sexual (Chemineau, 1987; Martin y Scaramuzzi, 1983). Una manera de estimar la profundidad del anestro en un grupo de hembras es midiendo el porcentaje de hembras cíclicas al momento de la introducción de los machos. Se considera que un hato está en anestro profundo cuando más del 50% de las hembras son anovulatorias, y anestro superficial cuando menos del 50% de las hembras son anovulatorias (Lindsay y Signoret, 1980; Chemineau, 1987). Cuando las hembras están en anestro profundo se ha considerado que el número de cabras u ovejas que responden al efecto macho se reduce, y en las hembras que sí responden se incrementa el intervalo al primer estro y aumenta el número de ovulaciones sin comportamiento estral, entre otros (Figura 5). En las cabras Criollas de la Isla de Guadalupe en anestro profundo, por ejemplo, la primera ovulación se presentó a los 3.3 días, mientras que cuando estaban en anestro superficial la primera ovulación se presentó a los 1.8 días. Además, cuando las hembras estaban en anestro superficial (13% cabras anovulatorias), la primera ovulación fue acompañada por actividad estral en más del 95% de los casos, mientras que cuando estaban en anestro profundo (91% de las hembras anovulatorias) menos del 60% de las primeras ovulaciones fueron acompañadas de estro (Figura 5; Chemineau, 1983, 1987). Igualmente, cuando las hembras estaban en anestro

superficial (13% cabras anovulatorias) el número de hembras que presentaron ciclos ováricos de corta duración fue menor del 20%, mientras que cuando estaban en anestro profundo (91% de las hembras anovulatorias) fue de más del 90% (Figura 5; Chemineau, 1983, 1987). Sin embargo, en algunas razas la respuesta de las hembras al efecto macho es muy baja o ausente. Por ejemplo, en las cabras Cashmere australianas (32° S), la introducción de los machos durante los meses de octubre a febrero resultó en una respuesta de las hembras menor al 20% (Restall, 1992). Esta falta de respuesta de las hembras 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 porque disminuyen su actividad sexual (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002).



**Figura 5.** Efecto de la profundidad del anestro (representado por el porcentaje de hembras anovulatorias) sobre la frecuencia de estros a la primera ovulación (izquierda) y la frecuencia de ciclos ováricos de corta duración (derecha), en las cabras Criollas de la Isla de Guadalupe (Adaptado de Chemineau, 1987).

### 1.2.3.2.2. Alimentación y condición corporal

La alimentación tiene gran importancia en la respuesta sexual en las ovejas y cabras al efecto macho (Wright *et al.*, 1990; Thimonier *et al.*, 2000). Por ejemplo, en las cabras Cashmere australianas alimentadas con una dieta de baja calidad, sólo el 22% ovuló después de la introducción del macho, mientras que el 40% de las hembras alimentadas con una dieta de alta calidad ovularon. Las ovejas Merino australianas (34°52' S) alimentadas con una dieta de mantenimiento, la introducción de los machos resultó en una tasa ovulatoria de 1.26, mientras que en las ovejas suplementadas durante 12 días antes de la introducción de los machos, la tasa ovulatoria fue de 1.46 (Nottle *et al.*, 1997a). Asimismo, durante el anestro posparto, sólo el 20% de las ovejas subalimentadas y con una condición corporal baja (1.7 puntos) y tratadas con progestágenos por 7 días hasta la introducción de los machos, presentó actividad estral en los primeros 14 días después del efecto macho, mientras que el 70% de las hembras bien alimentadas (3.0 puntos) presentó actividad estral (Wright *et al.*, 1990). También, en las ovejas Pelibuey con una condición corporal buena o regular, el 51% presentó actividad estral después de la introducción de un macho o una hembra androgenizada, mientras que sólo el 38% de las ovejas con una mala condición presentó actividad estral (Heredia *et al.*, 2003). En las ovejas Barbarine de Tunes sometidas a una subalimentación antes y después del parto, el 79% tuvo ciclos ováricos de corta duración después de la introducción de los machos, mientras que sólo el 45% de las hembras bien alimentadas tuvo ciclos de cortos (Lassoued y Khaldi, 1990).

### 1.2.3.2.3. Hembras en estro

Otro factor que puede influir en la respuesta al efecto macho es la presencia de hembras en celo al momento de la introducción de los machos. La exposición de

carneros (Rosa *et al.*, 2000) o machos cabríos (Walkden-Brown *et al.*, 1993b) a hembras en celo antes o en el momento de la introducción de los machos a un grupo de hembras anovulatorias, incrementa el número de hembras que son estimuladas. En efecto, el 87% de las cabras Cashmere australianas respondieron al efecto macho cuando al momento de la introducción de los machos estaban presentes hembras en estro, contra 72% en ausencia de éstas (Walkden-Brown *et al.*, 1993b). Probablemente esto se deba a que las hembras en estro pueden estimular la actividad sexual (comportamiento sexual y feromonas) de los machos, lo que facilita que estos produzcan una mejor estimulación de las hembras en anestro (Walkden-Brown *et al.*, 1994b). En efecto, en los machos Cashmere australianos (Walkden-Brown *et al.*, 1994b) y en los carneros Ile-de-France (Schanbacher *et al.*, 1987; Gonzalez *et al.*, 1991a,b), la exposición a hembras en estro incrementa los niveles de LH y testosterona y el comportamiento sexual en algunas épocas del año. En los carneros Ile-de-France, la exposición a una hembra en estro durante la estación de reposo sexual (febrero), estimuló la pulsatilidad de la LH (0.16 pulsos antes a 3 pulsos/6 h después del estímulo) a niveles similares a los encontrados durante la estación sexual (octubre 3.5 pulsos/6 h; Gonzalez *et al.*, 1989). Asimismo, en los carneros la exposición a moco vaginal de hembras en estro, incrementó los niveles de testosterona ( $4.13 \pm 1.70$  ng/ml), en comparación con los carneros expuestos a orina ( $1.51 \pm 0.80$  ng/ml) o agua destilada ( $2.95 \pm 1.45$  ng/ml) dos horas más tarde (Vázquez y Orihuela, 2001).

Sin embargo, no se puede descartar un estímulo por una vía directa (hembra - hembra), en las cabras y las ovejas (Zarco *et al.*, 1995; Álvarez *et al.*, 1999). Por ejemplo, la sola presencia de un 20% de hembras en estro es suficiente para estimular la actividad sexual del 78% de las cabras anovuladoras en contacto directo con ellas (Walkden-Brown *et al.*, 1993b). Sin embargo, la introducción de hembras que no están en estro no induce ninguna respuesta de la actividad sexual de las otras hembras (Restall *et al.*, 1995). En las ovejas, Zarco *et al.* (1995), encontraron

que la inducción de actividad ovárica por medios hormonales en el 50% de las hembras, indujo la actividad ovárica de hembras anovulatorias (88%) que estaban en contacto directo con las hembras bioestimuladas. El efecto se redujo a un 52% cuando entre las hembras tratadas con hormonas y las hembras anovulatorias existía una cerca de malla de alambre. Esto indica que el contacto físico no indispensable para la inducción de la actividad sexual, y que señales olfativas u otras pueden estar involucradas (visual, auditiva) en este fenómeno de estimulación. En efecto, en las vaquillas se ha demostrado que el moco vaginal de las hembras en estro puede incrementar la sincronización del estro de hembras tratadas con PGF-2 $\alpha$  (Izard y Vandenberg, 1982b).

#### **1.2.3.2.4. Separación de los dos sexos**

Además de los factores que anteriormente se mencionaron (profundidad del anestro, estado nutricional), la separación (olor, sonido, vista, tacto) de los dos sexos previa al efecto macho puede afectar la respuesta de las hembras al efecto macho, y de hecho se considera indispensable para obtener una buena estimulación de la actividad sexual de las hembras (Martin *et al.*, 1986; Chemineau, 1987). En efecto, desde los primeros estudios se ha reconocido que una condición importante para efectuar el efecto macho es la completa separación de los dos sexos durante al menos tres semanas (Martin *et al.*, 1986; Chemineau, 1987). Lo anterior fue propuesto ya que las ovejas mantenidas en continuo contacto con carneros presentaban un comportamiento estacional similar a las hembras que se encontraban sin contacto con los machos, al contrario, que las hembras expuestas intermitentemente a los machos mostraban una alta incidencia de la actividad estral durante el periodo de anestro (Riches y Watson, 1954; Lishman, 1969). Sin embargo, la naturaleza e importancia del periodo de separación antes de la introducción de los machos no se describió, ni el tiempo mínimo requerido de esta



separación. Posteriormente se demostró que en las ovejas en contacto con machos, la introducción de nuevos machos induce la actividad ovulatoria de manera similar a las hembras que tienen un previo periodo de aislamiento de los machos (Pearce y Oldham, 1988; Cushwa *et al.*, 1992). Esto sugiere que las hembras después de un tiempo de contacto con machos se habitúan o se hacen refractarias a los machos con los que conviven, pero no a la introducción de uno nuevo. En cabras, también se sugirió la necesidad de un previo aislamiento de al menos tres semanas para obtener una buena respuesta sexual al efecto macho (Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001). Sin embargo, no se conoce si en las hembras caprinas en contacto con machos la introducción de un nuevo macho puede estimular su actividad sexual.

#### **1.2.3.2.5. Actividad sexual del macho**

La actividad sexual de los machos utilizados para el efecto macho es muy importante para obtener una respuesta sexual de las hembras. Por ejemplo, el porcentaje de hembras en anestro lactacional que responden al efecto macho puede variar con el nivel de comportamiento sexual que muestran los machos (Signoret *et al.*, 1982/1983). Perkins y Fitzgerald (1994), encontraron que el 97% de las ovejas ovularon después de la introducción de machos que mostraron un intenso comportamiento sexual, mientras que sólo 78% de las hembras ovularon en respuesta al estímulo de machos con un comportamiento sexual bajo. También Rosa *et al.* (2000), mencionan que los carneros inducidos a una intensa actividad sexual a través de un tratamiento con melatonina exógena antes de efectuar el efecto macho estimularon más ovejas (43% actividad ovárica) que cuando se utilizaron machos testigo (24%). Resultados similares se han obtenido en las cabras Criollas del norte de México. En efecto, en estas hembras en anestro estacional, más del 80% reiniciaron su actividad sexual al ser expuestas a machos inducidos a una



intensa actividad sexual durante el periodo de reposo a través de un tratamiento de días largos seguido o no de melatonina, mientras que menos del 10% de las hembras expuestas a machos en reposo sexual, manifestaron actividad sexual (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002). Estos datos sugieren fuertemente que el nivel de actividad sexual de los machos tiene gran importancia para estimular sexualmente a las hembras, y éstas están receptivas al macho, aún si están en anestro profundo, siempre y cuando los machos desplieguen una intensa actividad sexual.

## Referencias

- Álvarez L, Zarco LA. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet Méx* 2001;32(2):117-129.
- Álvarez L, Ducoing AE, Zarco LA, Trujillo AM. Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. *Vet Méx* 1999;30(1):25-31.
- Atti N, Thériez M, Abdennebi L. Relationship between ewe body condition at mating and reproductive performance in the fat-tailed Barbarine breed. *Anim Res* 2001;50:135-144.
- Bronson FH, Heideman PD. Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*. 2<sup>nd</sup> edition. Raven Press:New York, 1994:541-583.
- 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.
- Chemineau P. Effects of a progestagen on buck-induced short ovarian cycles in the Creole meat goat. *Anim Reprod Sci* 1985;9:87-94.
- Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987;17:135-147.
- 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.
- Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rum Res* 1992;8:299-312.
- Claus R, Over R, Dehnhard. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim Reprod Sci* 1990;22:27-38.

- Cohen-Tannoudji J, Lavenet C, Locatelli A, Tillet Y, Signoret JP. Non-involvement of the accessory olfactory system in the LH response of anoestrous ewes to male odour. *J Reprod Fertil* 1989;86:135-144.
- Cohen-Tannoudji J, Einhorn J, Signoret JP. Ram sexual pheromone: first approach of chemical identification. *Physiol Behav* 1994;56(5):955-961.
- Cupp AS, Roberson MS, Stumpf TT, Wolfe MW, Werth LA, Kojima N, Kittok RJ, Kinder JE. Yearling bulls shorten the duration of postpartum anestrus in beef cows to the same extent as do mature bulls. *J Anim Sci* 1993;71:306-309.
- Cushwa WT, Bradford GE, Stabenfeldt GH, Berger YM, Dally MR. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrus ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *J Anim Sci* 1992;70:1195-1200.
- Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpoux B. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 1999;52:727-737.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Hernández HF, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Chemineau P, Malpoux B. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J Anim Sci* 2002;80:2780-2786.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Malpoux B. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. Revisión. *Vet Méx* 2003;34:69-79.
- Duarte G. Estacionalidad reproductiva y efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovulatoria de las hembras caprinas Criollas de la Comarca Lagunera (Tesis de doctorado). México (D.F.) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2000.

- Duarte G, Tomas R, Sánchez D, Flores JA, Véliz FG, Malpaux B, Delgadillo JA. Estimulación de la secreción de testosterona de los machos cabríos explotados de manera extensiva utilizando días largos. Memorias de 3<sup>er</sup> Congreso de la Asociación Latinoamericana de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos; 2003 mayo 7-9; Viña del Mar, Chile: ALEPRYCS, 2003:Rep-7.
- Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P, Malpaux B, Delgadillo JA. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol Reprod* 2000;62:1409-1414.
- Gastel T, Bielli A, Perez R, Lopez A, Castrillejo A, Tagle R, Franco J, Laborde D, Forsberg M, Rodríguez-Martínez H. Seasonal variations in testicular morphology in Uruguayan Corriedale rams. *Anim Reprod Sci* 1995;40:59-75.
- Gazal OS, Kouakou B, Amoah EA, Bard CR, Barrett JB, Gelaye S. Effects of N-methyl-D,L-aspartate on LH, GH, and testosterone secretion in goat bucks maintained under long or short photoperiods. *J Anim Sci* 2002;80:1623-1628.
- Girard L. Moyens employés avec succès, par M. Morel de Vindé, Membre de la Société d'Agriculture de Seine et Oise, pour obtenir, dans le temps le plus court possible, la fécondation du plus grand nombre des brebis portières d'un troupeau. *Éphémérides de la Société d'Agriculture du Département de l'Indre pour l'An 1813, Séance du 5 Septembre, VIII Cahier, Château-Roux, Département de l'Indre, VII, 1813:66-68.*
- Gonzalez R, Orgeur P, Poindron P, Signoret JP. Seasonal variation in LH and testosterone responses of rams following the introduction of oestrous ewes. *Anim Reprod Sci* 1989;21:249-259.
- Gonzalez R, Levy F, Orgeur P, Poindron P, Signoret JP. Female effect in sheep. II. Role of volatile substances from the sexually receptive female; implication of the sense of smell. *Reprod Nutr Dev* 1991a;31:103-109.

- Gonzalez R, Orgeur P, Poindron P, Signoret JP. Female effect in sheep. I. The effects of sexual receptivity of females and the sexual experience of rams. *Reprod Nutr Dev* 1991b;31:97-102.
- Hamada T, Nakajima M, Takeuchi Y, Mori Y. Pheromone-induced stimulation of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator in ovariectomized, estrogen-primed goats. *Neuroendocrinology* 1996;64:313-319.
- Heredia M, Porras A, Velázquez A, Bores R, Rojas S. Evaluación del "efecto macho" y de la condición corporal sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de 3<sup>er</sup> Congreso de la Asociación Latinoamericana de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos; 2003 mayo 7-9; Viña del Mar, Chile: ALEPRYCS, 2003:Rep-14.*
- Hoyos LG, Sáenz P, Salinas H. Desarrollo de módulos en la Región Lagunera. Evaluación de módulos caprinos en la Comarca Lagunera, 1<sup>a</sup>. Reunión informativa, 1991;INFAP-CIID, 1-11.
- Hoyos LG, Sáenz P. La utilización de residuos agrícolas en la alimentación del ganado caprino en la Comarca Lagunera. En: Reporte del proyecto de sistemas de producción caprina en la Comarca Lagunera y Zacatecas. 1993;INFAP-CIID, 10, 8-17.
- Hulet CV, Shupe WL, Ross T, Richards W. Effects of nutritional environment and ram effect on breeding season in range sheep. *Theriogenology* 1986;25(2):317-323.
- Iwata E, Wakabayashi Y, Kakuma Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Testosterone-dependent primer pheromone production in the sebaceous gland of male goat. *Biol Reprod* 2000;62:806-810.
- Iwata E, Wakabayashi Y, Matsuse S, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Induction of primer pheromone production by dihydrotestosterone in the male goat. *J Vet Med Sci* 2001;63(3):347-348.

- Izard MK, Vandenberg JG. The effects of bull urine on puberty and calving date in crossbred beef heifers. *J Anim Sci* 1982a;55(5):1160-1168.
- Izard MK, Vandenberg JG. Priming pheromones from oestrous cows increase synchronization of oestrus in dairy heifers after PGF-2 $\alpha$  injection. *J Reprod Fertil* 1982b;66:189-196.
- Kaneko N, Debski EA, Wilson MC, Whitten WK. Puberty acceleration in mice. II. Evidence that the vomeronasal organ is a receptor for the primer pheromone in male mouse urine. *Biol Reprod* 1980;22:873-878.
- Kirkwood RN, Forbes JM, Hughes PE. Influence of boar contact on attainment of puberty in gilts after removal of olfactory bulbs. *J Reprod Fertil* 1981;61:193-196.
- Knight TW, Lynch PR. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1980;3:133-136.
- Lassoued N, Khaldi G. Influence du niveau alimentaire avant et apres la mise-bas sur la response des brebis de race Barbarine a l'effect male. *Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie* 1990;63(2):1-16.
- Leboeuf B, Manfredi E, Boue P, Piacere A, Brice G, Baril G, Broqua C, Humblot P, Terqui M. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest Prod Sci* 1998;55:193-203.
- Lindsay DR, Signore JP. Influence of behaviour on reproduction. *Proceedings of 9<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Madrid, España, 1980;1, 83-92.*
- Lishman AW. The seasonal pattern of oestrus amongst ewes as affected by isolation from and joining with rams. *Agroanimalia* 1969;1:95-102.
- Martin GB, Scaramuzzi RJ. The induction of oestrus and ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. *J Steroid Biochem* 1983;19(1):869-875.

- 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.
- Martin GB, Hötzel MJ, Blache D, Walkden-Brown SW, Blackberry MA, Boukhling R, Fisher JS, Miller DW. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of responses to photoperiod by an annual cycle in food supply. *Reprod Fertil Dev* 2002;14:165-175.
- McComb K. Roaring by red deer stags advances the date of oestrus in hinds. *Nature* 1987;330:648-649.
- Moss RL, Flynn RE, Shi J, Shen XM, Dudley C, Zhou A, Novotny M. Electrophysiological and biochemical responses of mouse vomeronasal receptor cells to urine-derived compounds: possible mechanism of action. *Chem Senses* 1998;23:483-489.
- Nottle MB, Kleemann DO, Grosser TI, Seamark RF. Evaluation of a nutritional strategy to increase ovulation rate in Merino ewes mated in late spring-early summer. *Anim Reprod Sci* 1997a;47:255-261.
- Nottle MB, Kleemann DO, Seamark RF. Effect of previous undernutrition on the ovulation rate of Merino ewes supplemented with lupin grain. *Anim Reprod Sci* 1997b;49:29-36.
- O'Callaghan D, Donovan A, Sunderland SJ, Boland MP, Roche JF. Effect of the presence of male and female flockmates on reproductive activity in ewes. *J Reprod Fertil* 1994;100:497-503.
- Over R, Cohen-Tannoudji J, Dehnhard M, Claus R, Signoret JP. Effect of pheromones from male goats on LH-secretion in anoestrous ewes. *Physiol Behav* 1990;48:665-668.
- Pearce GP, Oldham CM. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1988;84:333-339.



- Pérez-Clariget R, Bermúdez J, Andersson H, Burgueño J. Influence of nutrition on testicular growth in Corriedale rams during spring. *Reprod Nutr Dev* 1998a;38:529-538.
- Pérez-Clariget R, Forsberg M, López A, Castrillejo A. Effects of nutrition on seasonal changes in scrotal circumference, testosterone and pituitary responsiveness to exogenous GnRH in Corriedale rams. *Small Rum Res* 1998b;29:61-69.
- Perkins A, Fitzgerald JA. The behavioral 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.
- Rekwot P, Ogwu D, Oyedipe E, Sekoni V. Effects of bull exposure and body growth on onset of puberty in Bunaji and Friesian x Bunaji heifers. *Reprod Nutr Dev* 2000;40:359-367.
- Rekwot PI, Ogwu D, Oyedipe EO, Sekoni VO. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Anim Reprod Sci* 2001;65:157-170.
- Restall BJ. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim Reprod Sci* 27, 305-318.
- Restall BJ, Restall H, Walkden-Brown SW. The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1995;40:299-303.
- Riches JH, Walson RH. The influence of the introduction of rams on the incidence of oestrus in Merino ewes. *Austr J Agric Res* 1954;5:141-147.
- Rincón RM, Aréchiga CF, Escobar FJ, Valencia J, De la Colina F. Efecto del fotoperíodo y la presencia del macho sobre la sucesión de ciclos estrales en la cabra Criolla. *Memorias de 3<sup>er</sup> Congreso de la Asociación Latinoamericana de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos*; 2003 mayo 7-9; Viña del Mar, Chile: ALEPRYCS, 2003:Rep-35.
- Rivera GM, Alanis GA, Chaves MA, Ferrero SB, Morello HH. Seasonality of estrus ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Rum Res* 2003;48:109-117.



- Roca J, Martinez E, Vazquez JM, Ruiz S, Coy P. Influence of season on testicle size and libido in male goats from the mediterranean area. *Anim Prod* 1991;52:317-321.
- Roca J, Martinez E, Vazquez JM, Coy P. Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area. *Anim Reprod Sci* 1992;29:255-262.
- Romero-Paredes J. Utilización de forrajes nativos del desierto en la alimentación de la cabra. Memorias de XIII Reunión Nacional sobre Caprinocultura, 1998 octubre 21-23; San Luis Potosí (S.L.P.) México: 1998:74-84.
- Rosa HJD, Bryant MJ. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. A review. *Small Rum Res* 2002;45:1-16.
- Rosa HJD, Juniper DT, Bryant MJ. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Appl Anim Behav Sci* 2000;67:293-305.
- SAGAR. 1998. El siglo de Torreón, 1 de Enero, Coahuila, México.
- Sánchez D. Influencia del sistema de explotación sobre el comportamiento sexual de los machos cabríos criollos de la Comarca Lagunera (Tesis de maestría). Coahuila, México: Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna, 2003.
- Schanbacher BD, Orgeur P, Pelletier J, Signoret JP. Behavioural and hormonal responses of sexually experienced Ile-de-France rams to oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1987;14:293-300.
- Shelton M. Influence of the presence of a male goat on the initiation of estrous cycling and ovulation of Angora does. *J Anim Sci* 1960;19:368-375.
- Shelton M. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res* 1980;1(2):156-162.

- Signoret JP. The influence of the ram effect on the breeding activity of ewes and its underlying physiology. In: Oldham CM, Martin GB, Purvis IW, editors. Reproductive Physiology of Merino Sheep: Concepts and Consequences. University of Western Australia:Perth, 1990:59-70.
- Signoret JP, Fulkerson WJ, Lindsay DR. Effectiveness of testosterone-treated wethers and ewes as teasers. *Appl Anim Ethol* 1982/1983;9:37-45.
- Skinner DC, Cilliers SD, Skinner JD. Effect of ram introduction on the oestrous cycle of springbok ewes (*Antidorcas marsupialis*). *Reproduction* 2002;124:509-513.
- Tanaka T, Akaboshi N, Inoue Y, Kamomae H, Kaneda Y. Fasting-induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion is related to body energy status in ovariectomized goats. *Anim Reprod Sci* 2002;72:185-196.
- Thimonier J, Cognie Y, Lassoued N, Khaldi G. L'effet mâle chez les ovins : une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. *INRA Prod Anim* 2000;13(4):223-231.
- Thimonier J, Mauléon P. Variations saisonnières du comportement d'œstrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. *Ann Biol anim Bioch Biophys* 1969;9(2):233-250.
- Thwaites CJ. Effect of undernutrition on the size and tone of the ram's testes. *Small Rum Res* 1995;16:283-286.
- 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 Austr* 1944;11(2):135-143.
- Vandenbergh JG. Effect of the presence of a male on the sexual maturation of female mice. *Endocrinology* 1967;81:345-349.
- Vázquez R, Orihuela A. Effect of vaginal mucus and urine from ewes in estrus on plasma testosterone levels and weight gain of feedlot rams. *Small Rum Res* 2001;42:173-177.

- Wakabayashi Y, Iwata E, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Regional differences of pheromone production in the sebaceous glands of castrated goats treated with testosterone. *J Vet Med Sci* 2000;62(10):1067-1072.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in the Australian cashmere goat. 2. Role of olfactory cues from the male. *Anim Reprod Sci* 1993a;32:55-67.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1993b;32:69-84.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ, Martin GB. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *J Reprod Fertil* 1994a;102:351-360.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ. The "female effect" in Australian cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrous does. *J Reprod Fertil* 1994b;100:521-531.
- Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J Reprod Fertil Suppl* 1999;52:243-257.
- Wright PJ, Geytenbeek PE, Clarke IJ. The influence of nutrient status of post-partum ewes on ovarian cyclicity and on the oestrous and ovulatory responses to ram introduction. *Anim Reprod Sci* 1990;23:293-303.
- Zarco L, Rodríguez EF, Angulo MRB, Valencia J. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1995;39:251-258.

## **FASE EXPERIMENTAL I**

El éxito del efecto macho en las cabras anéstricas depende de la presencia de machos sexualmente activos, y no de la presencia de hembras en estro

(Artículo publicado en Anim. Reprod. Sci. 2000 (72) 197-207)

## Resumen

Este estudio se realizó en el subtrópico mexicano (26° N) para determinar si la presencia de hembras en estro puede mejorar la respuesta de las cabras en anestro estacional a la introducción de machos en un grupo de hembras así como para determinar la importancia del estado sexual de los machos utilizados. La inducción de la actividad sexual se estudió en tres grupos de cabras lactantes anovulatorias durante el anestro estacional. Estas hembras eran Criollas del norte de México. Un primer grupo de hembras (testigo,  $n = 20$ ), fue expuesto a dos machos en reposo sexual (testigo), los cuales percibieron las variaciones naturales del fotoperiodo. Un segundo grupo de hembras (testigo + E,  $n = 20 + 3$ ), fue expuesto también a dos machos en reposo sexual, pero tres hembras del grupo estaban en estro al momento de la introducción de los machos. El tercer grupo de hembras (tratado + E,  $n = 19 + 4$ ) fue expuesto a dos machos sexualmente activos por haber sido sometidos a 2.5 meses de días largos (16 h luz y 8 h oscuridad por día) seguidos de dos implantes subcutáneos de melatonina de 18 mg c/u; además cuatro hembras del grupo estaban en estro al momento de la introducción de los machos. En todos los grupos los machos fueron introducidos el 15 de marzo. Un mayor número de hembras mostraron comportamiento estral en los primeros 15 días después de la introducción de los machos en el grupo tratado + E (18/19) comparado con los grupos testigo o testigo + E (2/20 y 0/20, respectivamente;  $P < 0.001$ ). No se observaron diferencias entre los dos últimos grupos. Trece hembras del grupo tratado + E mostraron un segundo estro entre los días 6 y 11 (ciclos de corta duración de  $5.4 \pm 0.4$  días). En contraste, en el grupo testigo ninguna hembra mostró un segundo estro. La intensidad del comportamiento sexual de los machos en el grupo tratado + E fue mayor al compararlo con los machos del grupo testigo y testigo + E ( $P < 0.001$ ). En contraste, no se encontraron diferencias entre los machos testigo y testigo + E. Estos resultados indican que la presencia de hembras en estro al tiempo de la introducción de los machos no es suficiente para mejorar la

respuesta de las hembras anéstricas. El uso de machos sexualmente activos es necesario para inducir la actividad reproductiva en las hembras anovulatorias.

**Palabras clave:** Cabras; Estacionalidad reproductiva; Fotoperiodo; Estro; Efecto macho; Comportamiento sexual.

## Introducción

En las ovejas y las cabras que muestran un patrón de reproducción estacional, la actividad sexual puede ser inducida durante el anestro estacional y/o postparto mediante la introducción de un macho (Underwood *et al.*, 1944; Shelton, 1960). Sin embargo, la amplitud y calidad de la respuesta sexual de las hembras depende de varios factores (Walkden-Brown *et al.*, 1999). Por ejemplo, la proporción de hembras que ovulan en respuesta a la exposición a un macho es más alta cuando ambos sexos tienen contacto físico directo que cuando se les impide dicho contacto a través de una cerca (Chemineau, 1987; Pearce y Oldham, 1988). Otro factor que puede influir en la respuesta al efecto macho es la presencia de hembras en celo al momento de la introducción de los machos. La exposición de carneros (Rosa *et al.*, 2000) o machos cabríos (Walkden-Brown *et al.*, 1993b) a hembras en celo antes o en el momento de la introducción de los machos en un grupo de hembras anovulatorias, incrementa el número de hembras que son estimuladas. En un estudio realizado por Walkden-Brown *et al.* (1993b), el 87% de las cabras respondieron al efecto macho cuando hembras en estro estaban presentes al momento de la introducción de los machos, contra 72% en ausencia de éstas. De hecho, la sola presencia de ovejas o cabras en celo puede inducir la actividad sexual en el resto de las hembras, incluso en la ausencia de machos (Bouillon *et al.*, 1982; Zarco *et al.*, 1995). Sin embargo, en el norte de México se ha reportado recientemente que las cabras Criollas en anestro estacional y/o lactacional sólo responden al efecto macho si se utilizan machos sexualmente activos. De hecho, en

un estudio realizado en esta región durante el periodo de reposo sexual (marzo), aproximadamente el 80% de las cabras Criollas mostraron al menos un comportamiento estral dentro de los primeros 14 días después de la introducción de los machos en los cuales se había estimulado su actividad sexual a través de un tratamiento de 2.5 meses de días largos más melatonina. En cambio, prácticamente no existió respuesta estral de las hembras al ser expuestas a machos en reposo sexual que percibían las variaciones naturales del fotoperiodo de la Comarca Lagunera (Flores *et al.*, 2000). Sin embargo, en las cabras de esta región no se ha determinado si la respuesta de las hembras anovulatorias expuestas a los machos en reposo sexual puede ser mejorada al incluir en el grupo hembras en estro al momento de su introducción. En el presente estudio se postula que la presencia de hembras en celo mejorará la respuesta de las hembras anéstricas usando machos en reposo sexual, respecto a cuando no existen hembras en celo. Un tercer grupo también fue estudiado en el cual se usaron machos sexualmente activos para tener un control positivo, y asegurarse que, si no se obtenía ninguna respuesta en cualquiera de los dos grupos con machos inactivos, no era debido a la incapacidad de las hembras a responder al estímulo del macho.

## **Materiales y métodos**

### *Machos cabríos*

Se utilizaron diez machos cabríos locales llamados Criollos, de la Comarca Lagunera de Coahuila, la cual se localiza en el subtrópico mexicano (26° N). Estos animales el producto de cruzamientos de diversas razas (Granadino, Nubia, Alpina, Saanen y Toggenburg) (Montaldo y Meza, 1998). Las características reproductivas de estos machos fueron descritas previamente por Delgadillo *et al.* (1999). Las hembras como los machos Criollos son estacionales (Delgadillo *et al.*, 2003). Todos los animales fueron estabulados en instalaciones abiertas y alimentados con heno de alfalfa a libre acceso y 300 g de concentrado comercial



(14% de Proteína Cruda, 2.5 Mkal/kg) por día y por animal. El agua y los minerales se proporcionaron también a libre acceso. La preparación de los machos empezó el 1 de noviembre de 1999. Estos animales fueron repartidos en dos grupos homogéneos de acuerdo a su peso corporal y testicular. Un grupo (testigo; en reposo sexual; n = 5), fue mantenido en el fotoperiodo natural durante todo el estudio (13:41 h de luz durante el solsticio de verano y 10:19 h en el solsticio de invierno). El otro grupo (tratado; sexualmente activo; n = 5), se sometió a un tratamiento de días largos (16 h luz / 8 h de oscuridad) del 1 noviembre de 1999 al 15 de enero de 2000 (Flores *et al.*, 2000). El 16 de enero, cada macho tratado recibió dos implantes subcutáneos de 18 mg de melatonina cada uno (Regulin-Mélovine, CEVA Santé Animale, Libourne, France). Este mismo día el tratamiento fotoperiódico fue suspendido y los machos fueron expuestos únicamente a las variaciones naturales del fotoperiodo hasta el fin del estudio. Este tratamiento estimula la secreción de LH y de testosterona. Además mejora el comportamiento sexual de los machos durante el periodo natural de reposo (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2001).

#### *Hembras caprinas*

Se utilizaron 102 cabras Criollas adultas múltiparas. Estas parieron del 1 de octubre de 1999 al 15 de febrero de 2000. Las cabras fueron ordeñadas manualmente una vez por día por la mañana durante todo el estudio, y ninguna hembra amamantó a sus crías durante la fase experimental. Todas las crías fueron destetadas a los 25 días de edad. Estas hembras no tuvieron contacto con ningún macho desde el 1 de enero de 2000 y los otros rebaños más cercanos estaban al menos a 2 km del rebaño experimental. Las hembras eran explotadas de manera extensiva antes de empezar el estudio. El 23 de febrero, las cabras se estabularon, y fueron alimentadas con heno de alfalfa a libre acceso y 200 g de concentrado comercial (14% de Proteína Cruda, 2.5 Mkal/kg) por día y por animal. El agua y



minerales se suministraron a libre acceso, hasta el final del estudio. El 24 de febrero y 5 de marzo se obtuvieron muestras sanguíneas de todas las cabras para determinar los niveles plasmáticos de progesterona por RIA con la técnica descrita por Terqui y Thimonier (1974). Este procedimiento permite distinguir las hembras anovulatorias y las cíclicas. Las hembras que tuvieron uno o los dos muestreos con concentraciones plasmáticas de progesterona de  $>1.0$  ng/ml, fueron consideradas con cuerpo lúteo funcional. Treinta y cuatro cabras fueron detectadas con actividad ovárica, por lo que fueron retiradas del estudio. En consecuencia, se utilizaron 68 hembras anovulatorias en el experimento.

#### *Efecto macho*

El 14 de marzo de 2000, las hembras fueron divididas en tres grupos homogéneos de acuerdo al peso corporal, fecha de parto (mes) y producción láctea. Cada grupo de cabras fue alojado en un corral de 10 X 5 m y separadas a una distancia mayor de 130 m para evitar cualquier interferencia entre los grupos (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1993b). El grupo testigo constituido por 20 hembras anovulatorias fue expuesto el 15 de marzo a dos machos testigo en reposo sexual, los cuales fueron escogidos al azar del grupo de machos testigo descrito anteriormente. El segundo grupo (testigo + E) fue constituido de 24 hembras anovulatorias, de las cuales cuatro hembras fueron inducidas para que presentaran actividad estral el día de la introducción de los machos (ver detalles de la técnica de sincronización más abajo). Este grupo de hembras además de ser expuestas a cuatro machos en celo, también fueron expuestas a otros dos machos testigo como el primer grupo. En el tercer grupo se utilizaron 24 hembras anovulatorias (tratado + E;  $n = 24$ ), de las cuales cuatro fueron sincronizadas al estro, similar al grupo testigo + E. El día de la introducción de los machos (día 0), este grupo fue expuesto a dos machos sexualmente activos, seleccionados al azar del grupo tratado. Finalmente, de todas las hembras del estudio se recolectó una muestra sanguínea

adicional el día de la introducción de los machos, para comprobar que ninguna hembra de las que no se indujeron al estro era en fase luteal al momento de la bioestimulación. Además, permitía comprobar que no había iniciado una alta actividad ovárica en los grupos de hembras en ese momento. Los machos permanecieron durante 15 días con las hembras (a partir del 15 de marzo de 2000).

#### *Inducción de la conducta estral*

Las hembras inducidas artificialmente al estro fueron tratadas con esponjas vaginales impregnadas con 45 mg de acetato de flurogestona durante 10 días (FGA, Chronogest, Intervet). Cuarenta y ocho horas antes del retiro de las esponjas, los animales se inyectaron con 200 U.I. de eCG i.m. (Folligon®, Intervet, Holland) y 250 µg de prostaglandinas  $FG_{2\alpha}$  i.m. (Lutalyse\*, Upjohn, México; Leboeuf *et al.*, 1998). De éstas hembras, sólo tres hembras del grupo testigo + E, y las cuatro del grupo tratado + E presentaron estro al tiempo de poner en contacto las hembras con los machos. Éstas permanecieron en su grupo respectivo hasta el fin del estudio, el 30 de marzo de 2000.

#### *Variables evaluadas*

Durante los primeros cinco días de interacción entre los machos y las hembras, se monitoreo la conducta sexual de cada uno de ellos. Las observaciones se realizaron en la mañana de 08:00 a 10:00 h, antes de proporcionarles el alimento. Las variables del comportamiento sexual registradas fueron los automarcajes con orina, los olfateos ano-genitales, las aproximaciones, los intentos de montas y las montas (con y sin eyaculación) (Flores *et al.*, 2000; Walkden-Brown y Bocquier, 2000).

En las hembras se detectó el estro en la mañana (08:00 a 10:00 h) y en la tarde (17:00 a 19:00 h) desde el día 0 hasta el día 15 post-introducción de los machos. Para ello, los machos fueron provistos de un arnés con un marcador de cera de

color (Radford *et al.*, 1960; Walkden-Brown *et al.*, 1993b). Durante las observaciones del comportamiento sexual, las hembras que se inmovilizaban al ser montadas por los machos, fueron consideradas en estro (Chemineau *et al.*, 1992). En los días subsecuentes, las hembras con marcas claras de cera en la parte pélvica se consideraron en estro.

### *Análisis de datos*

Debido a que los datos fueron frecuencias de ocurrencia, se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas (Siegel y Castellan, 1994). Las proporciones totales de hembras anovulatorias que manifestaron actividad estral en los grupos fueron comparadas mediante una prueba exacta de Fisher. El intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro, así como la duración del ciclo estral de corta duración, fueron comparadas mediante una prueba t de Student.

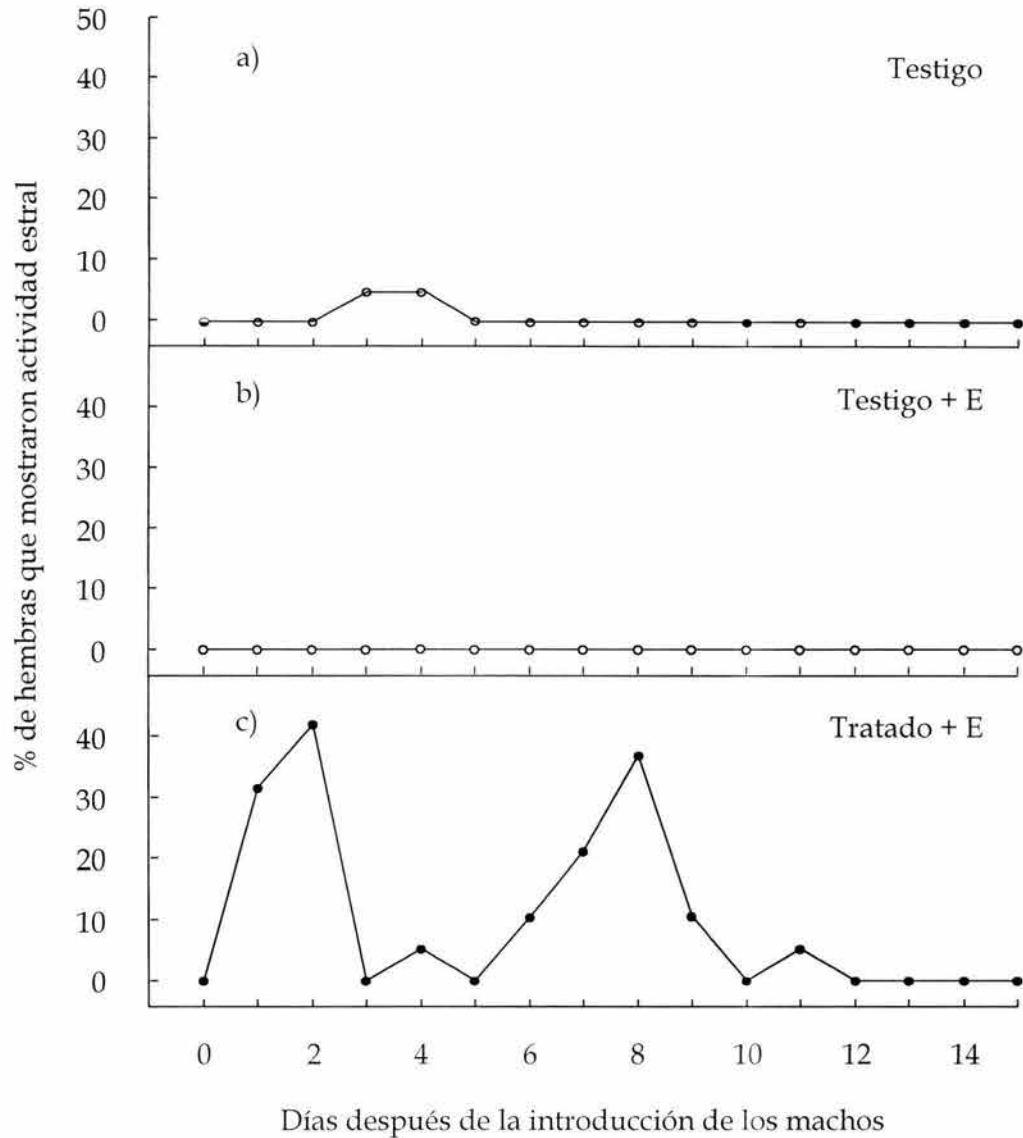
Para comparar el comportamiento sexual de los machos de los tres grupos se calculó el número total de eventos de cada variable para cada grupo. Las frecuencias de automarques con orina, olfateos ano-genitales, aproximaciones, los intentos de montas y las montas fueron comparadas entre cada dos grupos, usando una chi-cuadrada de ajuste de bondad o una prueba exacta de probabilidades de Fisher, dependiendo del tamaño y la presencia de bajas frecuencias (Siegel y Castellan, 1994). Las frecuencias observadas en cada grupo fueron comparadas considerando como hipótesis nula la ocurrencia de una misma distribución de conductas en los tres grupos. Todas las frecuencias de comportamiento sexual fueron comparadas entre grupos, usando una prueba exacta de probabilidades de Fisher con una probabilidad teórica esperada de 0.5 en cada grupo. Todos los análisis estadísticos se efectuaron mediante el paquete estadístico SYSTAT 5.03 (Evenston, ILL. USA, 1990/1992).

## Resultados

### *Respuestas de las hembras al efecto macho*

Una hembra del grupo tratado + E mostró problemas de salud al comienzo del estudio, por consiguiente, los datos de esta hembra fueron excluidos de los análisis. Las proporciones de hembras que respondieron al efecto macho presentando al menos un comportamiento estral durante los 15 días después de la introducción de los machos fue mayor en el grupo tratado + E al ser comparado con los grupos testigo y testigo + E (18/19 contra 2/20 y 0/20, respectivamente  $P < 0.001$  en ambos casos). No se encontraron diferencias entre los dos últimos grupos (Figura 1).

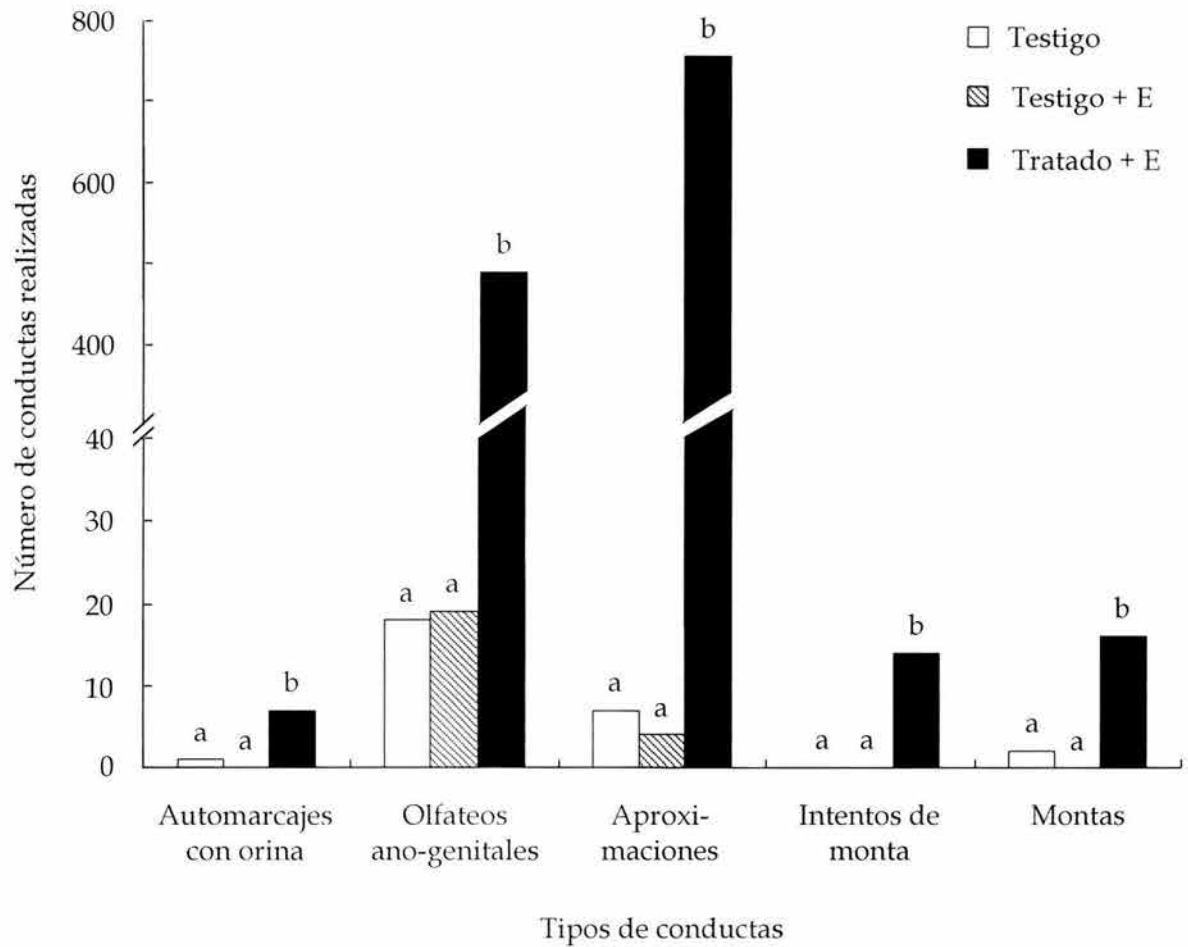
En el grupo tratado + E, 15 de las 19 cabras mostraron un comportamiento estral en los primeros tres días después de la introducción de los machos y las otras 3 cabras presentaron estro entre el día 8 y 9. El intervalo entre la introducción de los machos y el primer comportamiento estral fue de  $3.0 \pm 0.6$  días, mientras que 13/18 hembras mostraron un segundo comportamiento estral entre los días 6 y 11 (ciclo estral de duración corta:  $5.4 \pm 0.4$  días). Por el contrario, en el grupo testigo ninguna de las dos hembras que presentó comportamiento estral entre los días tres o cuatro después de la introducción de los machos, mostró un segundo comportamiento estral durante el resto del estudio (Figura 1).



**Figura 1.** Porcentaje de hembras anéstricas que respondieron al efecto macho presentando actividad estrol: a) en un grupo de hembras que no contenía hembras en estro al tiempo de la introducción de los machos testigo (testigo); b) un grupo de cabras que contenía hembras en estro al momento de la introducción de los machos testigo (testigo + E); c) un grupo de hembras que contenía hembras en estro al momento de la introducción de los machos tratados (tratado + E). El día 0 corresponde al día de la introducción de los machos. Efecto de tratamiento  $P < .05$ .

### *Comportamiento sexual de los machos*

Las frecuencias de todos los comportamientos sexuales durante los primeros 5 días después de la introducción de los machos fueron estadísticamente diferentes entre los grupos (Figura 2). Para todas las conductas sexuales, el grupo tratado + E expresó una frecuencia de más del 80% (489 olfateos anogenitales, 758 aproximaciones, 14 intentos de montas, 16 montas y 8 automarques). Esto fue significativamente mayor que lo esperado en una distribución al azar ( $P < 0.001$  en todos los casos, chi-cuadrada o una prueba Binomial), y mayor que en cualquiera de los otros dos grupos (prueba Binomial,  $P < 0.001$ ), mientras que no se encontró ninguna diferencia entre los grupos testigo y testigo + E (prueba Binomial,  $P > 0.5$ ).



**Figura 2.** Comportamiento sexual de los machos después de la introducción en cada grupo de hembras anovulatorias. Para cada variable, se da el valor del número total de conductas registradas en cada grupo, durante los primeros cinco días después de la introducción de los machos durante 2 h de observación diaria por grupo. Barras blancas: dos machos testigo expuestos a un grupo de 20 hembras anovulatorias (testigo); Barras sombreadas: dos machos testigo expuestos a un grupo de 20 hembras anovulatorias más 3 hembras en estro (testigo + E). Barras negras: dos machos sexualmente activos expuestos a un grupo de 20 hembras anovulatorias más cuatro hembras en estro (tratado + E). Para cada variable, las barras con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

## Discusión

Los resultados del presente estudio no apoyan nuestra hipótesis inicial de que la presencia de hembras en estro en un grupo de cabras en anestro estacional y lactacional facilitaría la respuesta estral de éstas al efecto macho. De hecho, la presencia de hembras en estro no provocó aumento alguno en la respuesta de las cabras Criollas sometidas al efecto macho al usar machos en reposo sexual. Sólo dos hembras del grupo testigo y ninguna del testigo + E mostraron comportamiento estral. En cambio, las hembras en contacto con los machos tratados mostraron una clara estimulación de su actividad reproductiva, indicando que la falta de respuesta en los otros dos grupos no fue debida a una incapacidad de respuesta de estas hembras a la introducción de los machos. Sin embargo, un porcentaje alto (70%) de hembras del grupo tratado + E mostró ciclos estrales de duración corta. Esta respuesta fisiológica (fases lúteas cortas) es similar a la reportada por otros autores en ovejas y cabras (Chemineau *et al.*, 1993; Walkden-Brown *et al.*, 1993a,b). Los mecanismos de lúteolisis están implicados en la regresión temprana del cuerpo lúteo, en la respuesta sexual inducida por el efecto macho en hembras en anestro, esto se debe probablemente a una liberación anticipada de prostaglandinas (Chemineau *et al.*, 1993; Lassoued, 1998).

Acerca de la conducta de los machos, los machos no tratados mostraron una baja frecuencia de conductas sexuales cuando se introdujeron con las hembras, y la presencia de cabras en estro en el grupo no tuvo ningún efecto. Esto concuerda con el hecho que la exposición a las hembras en estro no produce un estímulo inmediato en la secreción de la LH, la testosterona y la conducta sexual en los machos Cashmere a mitad de la estación de reposo sexual (Walkden-Brown *et al.*, 1994), mientras es contrario a lo reportado en carnero Ile-France en los cuales si responden a la presencia de hembras en la estación de reposo sexual (Gonzalez *et al.*, 1988). Por otro lado, los machos sometidos al tratamiento fotoperiódico más melatonina mostraron una alta frecuencia de comportamientos sexuales. Esto es



consistente con los resultados de estudios anteriores en los cuales se utilizaron tratamientos fotoperiódicos similares para inducir la actividad sexual de los machos fuera de la estación de reproducción (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2001). Sin embargo, estos resultados son contrarios a los reportados por Rosa *et al.* (2000) en ovejas, Restall *et al.* (1995) y Álvarez *et al.* (1999) en cabras. En este sentido, nosotros no pudimos encontrar ninguna evidencia de que la presencia de hembras en estro puede mejorar la respuesta de las hembras anovuladoras al efecto macho ya sea indirectamente (estimulando la conducta sexual de los machos testigo) o directamente (estimulando la actividad reproductiva de las hembras anovulatorias).

Varios factores pueden ser considerados para estas diferencias encontradas:

-El tiempo de la estación de anestro en que los machos fueron expuestos a las hembras, ya que en nuestro estudio fue a principio de la estación de anestro, mientras los otros trabajos fueron al final (Restall *et al.*, 1995; Mellado y Hernández, 1996; Walkden-Brown *et al.*, 1993b).

-El hecho que las hembras del presente estudio estaban lactantes así como en anestro estacional, lo que puede disminuir la respuesta al efecto macho (McNeilly, 1994; Flores *et al.*, 2000).

-El nivel de nutrición antes del efecto macho de las hembras utilizadas fue deficiente (Wright *et al.*, 1990; Lassoued, 1998).

-El porcentaje utilizado de hembras en estro en nuestro estudio fue de 20%, mientras en otros estudios fue de hasta el 50% (Zarco *et al.*, 1995; Álvarez y Zarco, 2001).

-El tiempo de que las hembras inducidas estuvieron en estro, ya que en el presente estudio solo estuvieron aproximadamente un día, mientras en otros estudios fue de hasta 5 días (Restall *et al.*, 1995).

Está demostrado que estos factores influyen en la respuesta de las ovejas y cabras al efecto macho. Además, estos factores (época del año, amamantamiento,

nutrición) pudieron haber influido en la capacidad de las hembras a responder al estímulo del macho iniciando su actividad sexual en el presente estudio. Esto podría explicar por qué no se encontró un efecto cuando las hembras anéstricas fueron expuestas a los machos en reposo sexual durante la estación de reposo sexual, aun en presencia de hembras en estro. Sin embargo, y sin tener en cuenta la posible contribución de estos factores en la ausencia de respuesta en los testigos y testigos + E, contrasta con la respuesta de las hembras del grupo tratado + E, las cuales mostraron una elevada estimulación de su actividad sexual al ser expuestas a los machos (95%), a pesar de que todas las hembras eran del mismo rebaño y se encontraban en las mismas condiciones. Esto indica a) que las hembras pueden responder adecuadamente si el estímulo de los machos es adecuado y b) que la diferencia de respuesta entre los tratamientos en el presente estudio no puede atribuirse a las diferencias pre-experimentales entre los grupos de hembras. Por otro lado, la respuesta de las hembras anovulatorias expuestas sólo a los machos tratados no se estudió en el presente trabajo. No obstante, es conocido en otros experimentos llevados a cabo en las mismas condiciones (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002), que estas hembras pueden responder eficientemente a los machos tratados (93%), incluso en la ausencia de hembras en estro en el grupo en el momento de efectuar el efecto macho. Asimismo está bien establecido por esos mismos estudios que el tratamiento fotoperiódico asociado con la melatonina, induce un alto nivel de actividad sexual en los machos durante el periodo de reposo sexual. Efectivamente, todos los componentes de conducta sexual fueron significativamente más altos en el grupo tratado + E que en los otros dos grupos, y se conoce que la conducta sexual del macho es uno de los factores más importantes para inducir la actividad ovárica en ovejas y cabras en anestro (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986; Flores *et al.*, 2000). Por consiguiente, el comportamiento sexual es muy probablemente uno de los motivos por los que los machos tratados indujeron una alta respuesta de las hembras. Además, este tratamiento también activa los eventos

fisiológicos que normalmente ocurren durante la época natural de reproducción en el macho (Lincoln, 1998; Delgadillo *et al.*, 2001). A su vez, esto probablemente resulta en un aumento en la producción de señales olfativas del macho que también se conoce que juegan un papel en el efecto macho, aunque dichas señales inducen ovulación sólo en aproximadamente 40% de hembras, contra 95% cuando se utiliza el macho completo (Walkden-Brown *et al.*, 1993a). Sin embargo, no está claro si la conducta sexual del macho por sí misma es un estímulo suficiente para activar la respuesta de las hembras en las condiciones del presente estudio, o si la combinación de conducta y las señales olfativas es necesaria para obtener una alta respuesta reproductiva.

### **Conclusión**

Los resultados del presente estudio demuestran que en las cabras Criollas en anestro estacional y lactacional de la Comarca Lagunera, la presencia de hembras en estro al momento de la introducción de machos inactivos no mejora la respuesta estral de éstas. Además corrobora que los machos tratados con días largos y melatonina es una manera apropiada de asegurar el éxito del efecto macho en cabras en anestro estacional.

### **Agradecimientos**

A Crescencio Sandoval y Demetrio Merlín por haber proporcionado las cabras para este estudio; a todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna por su asistencia técnica; a Dolores López y Esther Peña por su excelente apoyo secretarial, a Sonia López por su favorable apoyo logístico; a Graciela Viera, Guadalupe Bugarín, Lorena Ríos y David Villarreal por su apoyo administrativo.

## Referencias

- Álvarez L, Zarco LA. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet Méx* 2001;32(2):117-129.
- Álvarez L, Ducoing AE, Zarco LA, Trujillo AM. Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. *Vet Méx* 1999;30(1):25-31.
- Bouillon J, Lajous A, Fourcaud P. Mise en évidence d'un effet chèvres induites, comparable à l'"effet bouc" chez les caprins. 7èmes J Rech Ov et Cap, INRA-ITOVIC-SPEOC; 1982 Decembre 1-2; Paris, France, 1982:325-333.
- Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987;17:135-147.
- Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rum Res* 1992;8:299-312.
- Chemineau P, Daveau A, Locatelli A, Maurice F. Ram-induced short luteal phases: effects of hysterectomy and cellular composition of the corpus luteum. *Reprod Nutr Dev* 1993;33:253-261.
- Cohen-Tannoudji J, Locatelli A, Signoret JP. Non-pheromonal stimulation by the male of LH release in the anoestrous ewe. *Physiol Behav* 1986;36:921-924.
- Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpaux B. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 1999;52:727-737.
- Delgadillo JA, Carrillo E, Morán J, Duarte G, Chemineau P, Malpaux B. Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *J Anim Sci* 2001a;79:2245-2252.

- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Hernández HF, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Chemineau P, Malpoux B. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J Anim Sci* 2002;80:2780-2786.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Malpoux B. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. Revisión. *Vet Méx* 2003;34:69-79.
- Gonzalez R, Poindron P, Signoret JP. Temporal variation in LH and testosterone responses of rams after the introduction of oestrous females during the breeding season. *J Reprod Fertil* 1988;83:201-208.
- Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P, Malpoux B, Delgadillo JA. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol Reprod* 2000;62:1409-1414.
- Leboeuf B, Manfredi E, Boue P, Piacère A, Brice G, Baril G, Broqua C, Humblot P, Terqui M. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest Prod Sci* 1998;55:193-203.
- Lincoln GA. Reproductive seasonality and maturation throughout the complete life-cycle in the mouflon ram (*Ovis musimon*). *Anim Reprod Sci* 1998;53:87-105.
- Lassoued NG. Induction de l'ovulation par effet bélier chez les brebis de race Barbarine en anoestrus saisonnier (PhD Thesis). Tunis Tunis: Université de Tunis II, 1998.
- McNeilly AS. Suckling and the control of gonadotropin secretion. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*. New York:Raven Press, 1994:1179-1212.

- Mellado M, Hernández JR. Ability of androgenized goat wethers and does to induce estrus in goats under extensive conditions during anestrus and breeding seasons. *Small Rum Res* 1996;23:37-42.
- Montaldo H, Meza CA. Reflexiones sobre el uso de recursos genéticos carpinos en México. *Memorias de XIII Congreso Nacional sobre Caprinocultura*; 1998 octubre 21-23; San Luis Potosí (S.L.P.) México, 1998:85-100.
- Pearce GP, Oldham CM. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1988;84:333-339.
- Radford HM, Watson RH, Wood GF. A crayon and associated harness for the detection of mating under field conditions. *Aust Vet J* 1960;36:57-66.
- Restall BJ, Restall H, Walkden-Brown SW. The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1995;40:299-303.
- Rosa HJD, Juniper DT, Bryant MJ. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Appl Anim Behav Sci* 2000;67:293-305.
- Shelton, M. Influence of the presence of a male goat on the initiation of estrous cycling and ovulation of Angora does. *J Anim Sci* 1960;19:368-375.
- Shelton M. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res* 1980;1(2):156-162.
- Siegel S, Castellan NJ. *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. México:Trillas, 1994:437.
- Terqui M, Thimonier J. Nouvelle méthode radio-immunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application pour le diagnostic précoce de la gestation chez la brebis et la chèvre. *CR Acad Sc Paris* 1974;D279:1109-1112.

- 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(2):135-143.
- Walkden-Brown SW, Bocquier F. Nutritional regulation of reproduction in goats. In: *Proceedings of the Seventh International Conference on Goats*; 2000 15-21 May; Tours, France, 2000:389-395.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in the Australian cashmere goat. 2. Role of olfactory cues from the male. *Anim Reprod Sci* 1993a;32:55-67.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1993b;32:69-84.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ. The "female effect" in Australian cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrous does. *J Reprod Fertil* 1994;100:521-531.
- Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J Reprod Fertil Suppl* 1999;52:243-257.
- Wright PJ, Geytenbeek PE, Clarke IJ. The influence of nutrient status of post-partum ewes on ovarian cyclicity and on the oestrous and ovulatory responses to ram introduction. *Anim Reprod Sci* 1990;23:293-303.
- Zarco L, Rodríguez EF, Angulo MRB, Valencia J. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1995;39:251-258.

## **FASE EXPERIMENTAL II**

**La presencia del macho en un grupo de cabras anéstricas no impide su respuesta estral inducida por la introducción de un nuevo macho al inicio de la estación de reposo sexual de las hembras**

(Artículo publicado en Vet. Méx. 2004 35 (3) 167-178)



## Resumen

Este estudio se efectuó para determinar si la separación previa de los dos sexos es necesaria para estimular la actividad sexual de las cabras anéstricas mediante el efecto macho. Se utilizaron 50 hembras anéstricas Criollas del subtrópico mexicano (Latitud, 26°23' N y Longitud, 104°47' W), que estuvieron en contacto permanente con dos machos cabríos desde diciembre. El 15 de marzo, se formaron dos grupos (n = 25 cada uno, un macho por grupo). El 16 de marzo, los dos machos fueron retirados, e inmediatamente después, un grupo de cabras fue puesto en contacto con otros tres machos en reposo sexual, mientras que el otro fue expuesto a tres machos tratados con 2.5 meses de días largos para estimular su actividad sexual. Las frecuencias de automarcajes con orina, olfateos ano-genitales, aproximaciones, intentos de montas y montas de los machos testigo durante los primeros cinco días después de su introducción, fueron inferiores que las de los tratados ( $P < 0.05$ ). En los primeros diez días de estimulación, más del 95% de las hembras en contacto con los machos testigo y tratados, mostraron al menos un estro ( $P > 0.05$ ). Estos resultados indican que la separación previa de los dos sexos no es necesaria para estimular la actividad sexual de las cabras sometidas al efecto macho.

**Palabras clave:** Cabras; Efecto macho; Previo aislamiento; Comportamiento sexual; Inducción del estro, Subtrópico.

## Introducción

La actividad sexual de las cabras y ovejas anéstricas puede ser inducida a través del efecto macho (Shelton, 1960; Walkden-Brown *et al.*, 1999; Álvarez y Zarco, 2001). La intensidad de la libido de los machos influye en la respuesta de las hembras (Delgadillo *et al.*, 2003). En las cabras locales de la Comarca Lagunera (Latitud, 26°23' N y Longitud, 104°47' W) en el norte subtropical de México, más

del 80% muestran al menos un comportamiento estral durante los primeros 12 días después de la introducción de los machos, cuya actividad sexual es inducida con 2.5 meses de días largos, seguidos o no de la inserción subcutánea de dos implantes de melatonina (Delgadillo *et al.*, 2003). En cambio, menos del 10% de las cabras expuestas a machos testigo, en reposo sexual, muestran estro en ese mismo periodo (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; Véliz *et al.*, 2002). La libido de los machos cashmere en Australia es estimulada durante el periodo de reposo sexual al ofrecerles una dieta alimenticia de buena calidad. Estos machos estimulan la actividad ovulatoria de un mayor número de cabras anovulatorias expuestas al efecto macho que los machos en reposo sexual (Walkden-Brown *et al.*, 1993).

Además de la libido, existen otros factores que influyen sobre la respuesta a la estimulación por el macho. Por ejemplo, la separación (olor, sonido, vista, tacto) de los dos sexos previa al efecto macho, se sugirió como un factor indispensable para obtener una buena estimulación de la actividad sexual de las hembras (Martin *et al.*, 1986; Chemineau, 1987; Delgadillo *et al.*, 2003). Sin embargo, en las ovejas mantenidas en contacto permanente con carneros, la introducción de otros machos estimula la ovulación de las hembras (85%) al igual que en aquellas sometidas a una previa separación (86%; Cushwa *et al.*, 1992). Este último estudio y otros efectuados en ovejas (Pearce y Oldham, 1988; Bartlewski *et al.*, 2002), sugieren que al menos en algunas razas de la especie ovina, la separación de los dos sexos no es necesaria antes del efecto macho (Pearce y Oldham, 1988; Rosa y Bryant, 2002). En las cabras también se ha sugerido la necesidad de separar los dos sexos, por lo menos tres semanas antes del efecto macho (Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001). Sin embargo, en las cabras no existe ningún estudio que demuestre si las hembras anovulatorias requieren un previo aislamiento para responder a la introducción de otros machos. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar si es necesaria la completa separación de los dos sexos para estimular la actividad sexual de las cabras sometidas al efecto macho, o si esta respuesta

depende de la intensidad de la libido de los machos introducidos en los grupos de hembras.

## **Materiales y métodos**

### *Machos cabríos inductores*

Se utilizaron nueve machos cabríos locales de la Comarca Lagunera de Coahuila, a los cuales se les denomina Criollos. Esta Comarca se localiza en el subtropical mexicano (Latitud, 26°23' N y Longitud, 104°47' W). Los machos tenían cuatro años de edad al inicio del estudio, y pertenecían al Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Las características reproductivas de los machos sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo de la Comarca Lagunera se describieron previamente (Delgadillo *et al.*, 1999). El 1 de noviembre de 2000, se formaron dos grupos homogéneos con estos machos, de acuerdo con su peso corporal y testicular. Los dos grupos se mantuvieron estabulados en instalaciones abiertas de 5 X 7 m. Un grupo testigo, en reposo sexual (n = 4), se sometió a las variaciones naturales del fotoperiodo de la Comarca Lagunera (13 h 41 min de luz durante el solsticio de verano y 10 h 19 min en el solsticio de invierno); el grupo tratado, sexualmente activo (n = 5), se sometió a días largos (16 h luz /8 h de oscuridad) del 1 de noviembre de 2000 al 15 de enero de 2001. Para esto, el corral del grupo tratado fue equipado con cuatro lámparas fluorescentes con una intensidad luminosa entre 250 y 350 Lx al nivel de los ojos de los animales. El encendido y apagado de las lámparas se efectuó con relojes automáticos y programables\*. Los días largos se lograron combinando la luz artificial y natural. Las lámparas se encendían de 6 a 10 de la mañana y de 17 a 22 h. El 16 de enero, se suspendió el tratamiento fotoperiódico y los machos fueron expuestos únicamente a las variaciones naturales del fotoperiodo hasta el fin del estudio. Este tratamiento estimula la

---

\* (Digital Timer, USA)

secreción de testosterona y el comportamiento sexual de los machos durante el periodo natural de reposo (Delgadillo *et al.*, 2002). Los animales se alimentaron con heno de alfalfa a libre acceso y 300 g de concentrado comercial (14% de Proteína Cruda, 2.5 Mkal/kg) por día y por animal. El agua y los minerales se proporcionaron también a libre acceso.

### *Cabras*

Se utilizaron 76 cabras locales adultas multíparas, a los cuales se les denomina Criollas, que parieron de noviembre a diciembre de 2000. Todas las hembras fueron identificadas con un arete de plástico en la oreja izquierda. Las crías fueron destetadas a los 30 días posparto, y las cabras fueron ordeñadas manualmente una vez por día, hasta el final del estudio. Estas hembras estuvieron en contacto permanente con dos machos adultos durante tres meses a partir del 15 de diciembre del 2000. Los machos portaban un peto para impedir que efectuaran montas con penetración. Las hembras y los machos eran explotados de manera extensiva antes de empezar el estudio. El 23 de febrero de 2001, las cabras se estabularon en un corral de 15 X 20 m junto con los dos machos, y fueron alimentadas con heno de alfalfa a libre acceso y 200 g de concentrado comercial (14% de Proteína Cruda, 2.5 Mkal/kg) por día y por animal. El agua y los minerales se proporcionaron a libre acceso. El 24 de febrero y 5 de marzo se obtuvieron muestras sanguíneas para determinar los niveles plasmáticos de progesterona por RIA mediante la técnica descrita por Terqui y Thimonier (1974). Este procedimiento permite distinguir las hembras anovulatorias y las cíclicas. Se detectaron veintiséis cabras con actividad ovárica, por lo que fueron retiradas del experimento el 15 de marzo. Inmediatamente después, se formaron dos grupos homogéneos con las hembras anovulatorias, de acuerdo con el peso corporal, condición corporal y producción láctea. A cada uno de los grupos de hembras se agregó uno de los machos que se encontraban previamente con ellas. Cada grupo

de cabras fue alojado en un corral de 10 X 5 m a una distancia mayor de 120 m entre corrales, para evitar cualquier interferencia entre los grupos (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1993).

#### *Efecto macho*

El 16 de marzo de 2001 a las 8 de la mañana (día 0), se retiraron los dos machos en reposo sexual que se encontraban en contacto con las hembras. Inmediatamente después, un grupo de hembras (n = 25) fue puesto en contacto con tres machos testigo, en reposo sexual. El otro grupo de hembras (n = 25) fue puesto en contacto con tres machos tratados, sexualmente activos. Los machos permanecieron con las hembras 36 días.

#### *VARIABLES EVALUADAS*

Durante los primeros cinco días después de haber puesto los machos en contacto con las hembras, se registró la actividad sexual de cada uno de ellos. Las observaciones se realizaron en la mañana (de 8 a 10 h) antes de proporcionarles el alimento. Como variables del comportamiento sexual se registraron las frecuencias de automarcajes con orina, olfateos ano-genitales, aproximaciones, intentos de montas y montas (Gonzalez *et al.*, 1988; Fabre-Nys, 2000; Flores *et al.*, 2000).

En las hembras se detectó el estro en la mañana (de 8 a 10 h) y en la tarde (de 17 a 19 h) desde el día 0 hasta el día 36 post-introducción de los machos. Para ello, los machos fueron provistos de un arnés con un marcador de cera de diferentes colores (Radford *et al.*, 1960; Walkden-Brown *et al.*, 1993). Durante las observaciones del comportamiento sexual, las hembras que se inmovilizaban al ser montadas por los machos, fueron consideradas en estro (Chemineau *et al.*, 1992). En los días subsecuentes (día 6 al 36), las hembras con marcas claras de cera en la parte pélvica se observaron para verificar si aceptaban la monta del macho y ser

consideradas en estro. Si la hembra no aceptaba la monta, no se consideraba en estro. El porcentaje de hembras gestantes se determinó mediante una ecografía abdominal a los 50 días después de la presentación del último comportamiento estral. También se determinó la fertilidad y la prolificidad de las cabras de los dos grupos.

#### *Análisis de datos*

Para comparar el comportamiento sexual de los machos tratados y no tratados, se calculó la frecuencia total de cada variable para cada grupo. Las frecuencias de automarques con orina, olfateos ano-genitales, aproximaciones, los intentos de montas y las montas, se compararon mediante la prueba de Ji-cuadrada. Las proporciones de hembras que manifestaron actividad estral en los grupos, las proporciones de hembras detectadas gestantes, y la fertilidad se compararon mediante una prueba exacta de probabilidades de Fisher. El intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro, la duración del ciclo estral, así como la prolificidad, se compararon mediante una prueba t de Student. Todos los análisis estadísticos se efectuaron mediante el paquete estadístico SYSTAT 5.03\*.

## **Resultados**

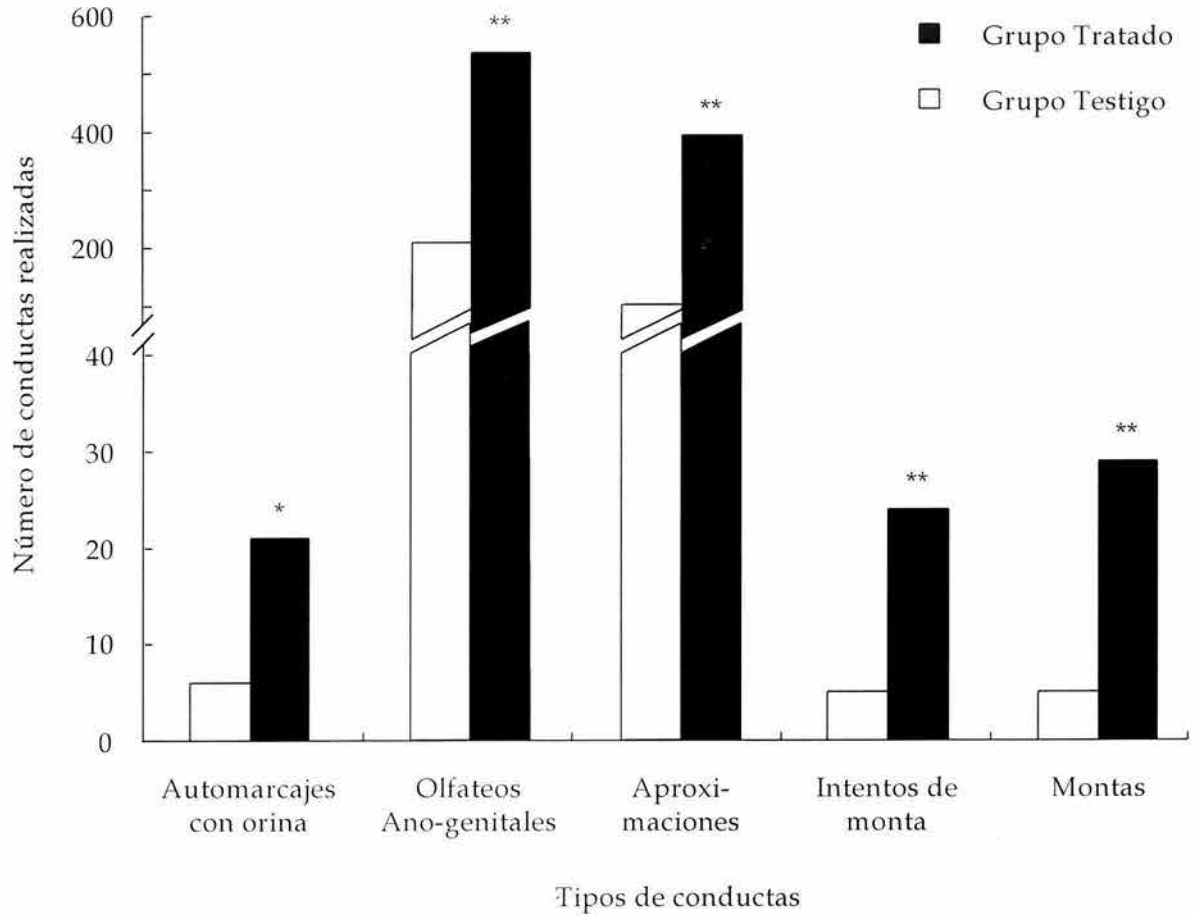
### *Comportamiento sexual de los machos*

El comportamiento sexual registrado en los machos testigo fue inferior al de los machos tratados (Figura 1). En total, se observaron 27 automarques con orina, de los cuales únicamente seis (22%) fueron realizados por los machos del grupo testigo ( $P < 0.05$ ). De los 746 olfateos ano-genitales, sólo 210 (28%) fueron efectuados por los machos en reposo sexual ( $P < 0.001$ ). De las 495 aproximaciones

---

\* Evenston, ILL. USA, 1990/1992.

registradas, 101 (20%) fueron realizadas por el grupo de machos testigo ( $P < 0.001$ ). De igual manera, de los 29 intentos de monta observados, sólo cinco (17%) fueron realizados por el grupo en reposo sexual ( $P < 0.001$ ). Finalmente, cinco de las 34 montas observadas (15%) fueron efectuadas por el grupo testigo ( $P < 0.01$ ).

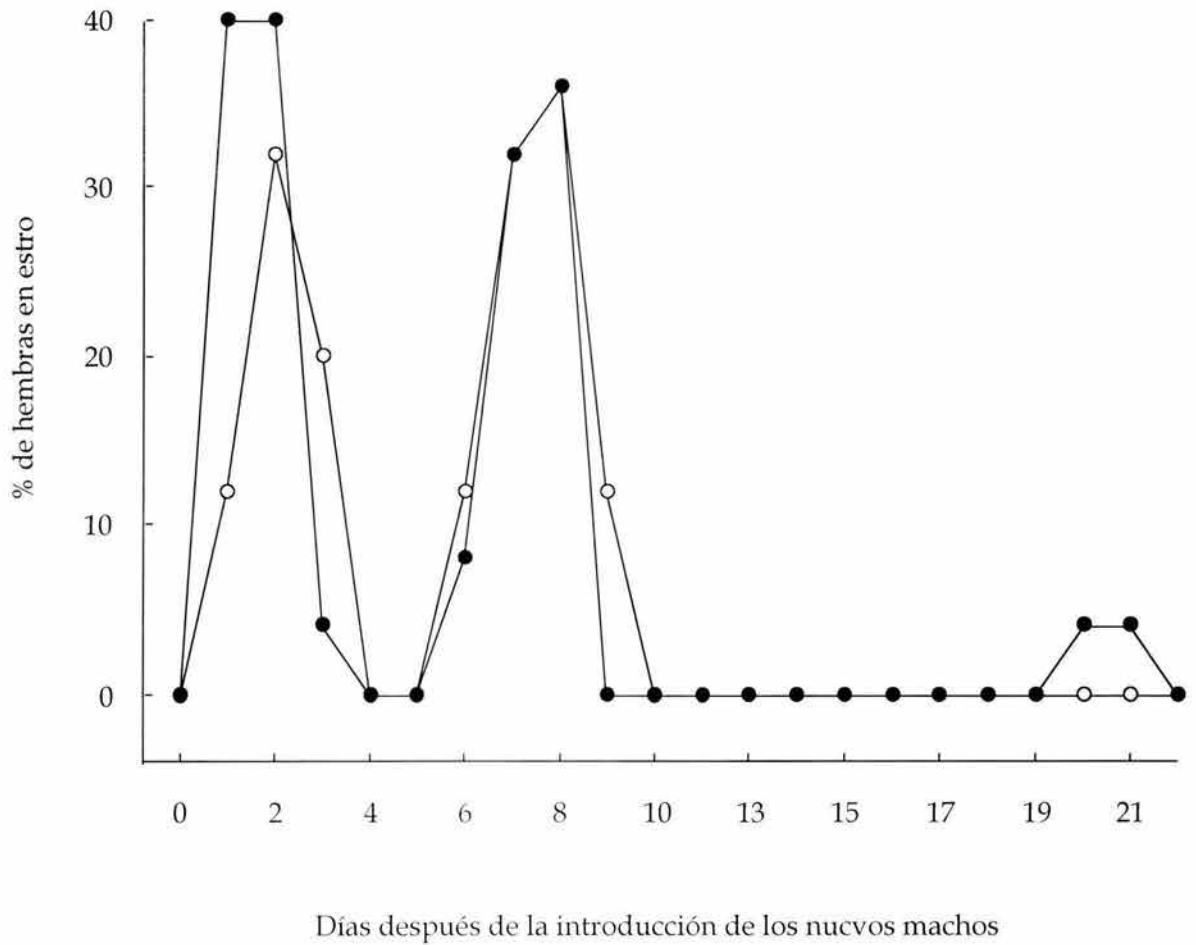


**Figura 1.** Número de conductas sexuales de los machos del grupo testigo ( $n = 3$ ), y tratado ( $n = 3$ ), registrado durante dos horas en los primeros cinco días después de la introducción de estos en los grupos de hembras. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$



*Respuesta de las hembras al efecto macho*

**Comportamiento estral.** Todas las cabras expuestas a los machos testigo (25/25, 100%), y la mayoría de las hembras (24/25, 96%) en contacto con los machos tratados, mostraron al menos un comportamiento de estro durante los primeros diez días después de la introducción de los nuevos machos ( $P > 0.05$ ; Figura 2). El intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro fue más prolongado en las hembras expuestas a los machos testigo ( $2.3 \pm 0.2$  días) que a los tratados ( $1.8 \pm 0.1$  días;  $P < 0.01$ ). El porcentaje acumulado de hembras en estro el día uno y dos después de la introducción de los machos fue superior en el grupo tratado (40% y 80%) que en el grupo testigo (12% y 44%, respectivamente;  $P < 0.01$ ). La proporción de ciclos estrales de corta duración no fue significativamente diferente entre grupos (56% y 64% de hembras en contacto con machos testigo y tratados, respectivamente;  $P > 0.05$ ). La duración promedio de los ciclos estrales cortos no fue diferente en las hembras en contacto con machos del grupo testigo ( $4.8 \pm 0.2$  días) y tratados ( $5.1 \pm 0.1$  días;  $P > 0.05$ ).



**Figura 2.** Porcentaje de hembras que presentaron una actividad estral después de la introducción de machos del grupo testigo (círculos abiertos) y del grupo tratado (círculos sólidos) en hembras con contacto previo con otros machos. Día 0 es el día de la introducción de los machos.

**Gestación a los 50 días, fertilidad y prolificidad.** El número de cabras gestantes a los 50 días, la fertilidad, y prolificidad no fueron diferentes entre los dos grupos de hembras ( $P > 0.05$ ). El 88% (22/25) de las hembras expuestas a machos del grupo testigo fueron diagnosticadas gestantes. El 86% de ellas (19/22) parió y tuvo una prolificidad de  $2.0 \pm 0.2$  crías. El 14% (3/22) abortó en el segundo tercio de la gestación. El 80% (20/25) de las hembras expuestas a los machos del grupo tratado fueron diagnosticadas gestantes, de éstas el 85% (17/20) de ellas parieron y la prolificidad fue de  $1.8 \pm 0.2$  crías. El 15% (3/20) abortó en el segundo tercio de la gestación.

## Discusión

La separación total de los dos sexos antes del efecto macho se ha considerado como condición indispensable para estimular la actividad sexual de las cabras. Sin embargo, contrariamente a lo propuesto por algunos investigadores (Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001), los resultados del presente estudio demuestran que la falta de separación no impidió a las cabras responder adecuadamente a la introducción de los nuevos machos, unos sexualmente activos y otros en reposo sexual. En los dos grupos de hembras, más del 95% de las cabras respondieron manifestando al menos un estro.

La respuesta observada en las hembras expuestas a los machos tratados coincide con lo registrado en otros estudios (Véliz *et al.*, 2002; Delgadillo *et al.*, 2003). En cambio, la respuesta de las hembras en contacto con machos en reposo sexual fue inesperada, ya que anteriormente se había demostrado que la actividad sexual de las cabras de este genotipo era estimulada solamente utilizando machos sexualmente activos por ser tratados con 2.5 meses de días largos, seguidos o no de la inserción de dos implantes subcutáneos de melatonina con 18 mg cada uno (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; Véliz *et al.*, 2002). La explicación de este fenómeno podría atribuirse al menos a tres factores que no son excluyentes: 1) es

posible que la presencia continua de los machos en los dos grupos de hembras haya retardado el final de la estación sexual. En estas circunstancias, las cabras estarían anovulatorias, pero débilmente inhibidas. En efecto, las cabras de la raza cashmere mantenidas en presencia continua de machos, prolongan su actividad ovulatoria, la cual termina después que en las hembras aisladas. 2) La introducción de los mismos machos cada mes o dos meses en un grupo de cabras, permite que éstas prolonguen el periodo que responden a la introducción de los machos (Restall, 1992). En estas circunstancias, el periodo de actividad ovulatoria de las cabras expuestas intermitentemente a los machos es más prolongada que la observada en las hembras aisladas o mantenidas en contacto continuo con machos (Restall, 1992). En el presente estudio, la presencia de los machos pudo haber prolongado el periodo en el cual las hembras responden a la introducción de otros machos, independientemente de su condición fisiológica (anestro o ciclando) (Restall, 1992). 3) Aunque el comportamiento sexual de los machos sometidos al tratamiento fotoperiódico fue superior que el de los machos del grupo testigo, éstos últimos tuvieron un comportamiento sexual más intenso que el registrado en estudios anteriores, en los que los machos testigo no estimularon la actividad sexual de las cabras (Flores *et al.*, 2000; Véliz *et al.*, 2002). Los machos en el grupo testigo del presente estudio efectuaron más del doble de olfateos ano-genitales y aproximaciones que los registrados en machos testigo de otros experimentos ( $P < 0.01$ ) efectuados en la misma región, con animales del mismo genotipo y en la misma época del año (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; Véliz *et al.*, 2002). Esto sugiere que el final de la actividad sexual de los machos Criollos del presente estudio, varía de un año a otro, y coincide con lo reportado en machos cabríos de la raza Alpina (Delgadillo *et al.*, 1991). Por consiguiente, es posible que el comportamiento sexual desplegado por los machos testigo fuese el factor responsable de la respuesta sexual del grupo de cabras al que fueron introducidos. Se ha mencionado que en algunas épocas del año, las hembras no responden al

efecto macho (Restall, 1992; Flores *et al.*, 2000). Esto no se debe solamente a la insensibilidad de las hembras ante la presencia de los machos, sino también a la débil calidad estimuladora de éstos, que se encuentran en reposo sexual (Delgadillo *et al.*, 2002; Véliz *et al.*, 2002). Como la actividad sexual de los machos cabríos inicia antes que el de las hembras (Restall, 1992; Walkden-Brown *et al.*, 1994; Delgadillo *et al.*, 2003), éstas responden al efecto macho algunas semanas antes de iniciar el ciclo anual de reproducción, debido probablemente al mejoramiento del comportamiento sexual de los machos y al incremento de la producción de feromonas en este periodo. Sin embargo, las diferencias entre los dos grupos en cuanto a la latencia de respuesta de las hembras y a la proporción de hembras que mostraron estro en los dos primeros días, indican que los machos sexualmente activos son más eficientes para estimular la actividad sexual de las hembras. Esta diferencia pudo deberse a la diferencia de actividad sexual mostrada por los machos tratados y testigo. En efecto, la calidad del estímulo, determinada por la intensidad del comportamiento sexual de los machos, influye en la respuesta de las hembras. Los machos que muestran una mayor libido estimulan la actividad sexual de un mayor número de hembras (Walkden-Brown *et al.*, 1993; Perkins y Fitzgerald, 1994). Finalmente, es interesante señalar que a pesar de que los machos testigo mostraron una libido inferior a la de los machos tratados, los resultados de fertilidad y prolificidad sugieren que la producción espermática fue buena cuantitativa y cualitativamente en los dos grupos de machos. Una reducción de la cantidad de espermatozoides por eyaculado, pero sobre todo de la motilidad progresiva de los espermatozoides durante el periodo de reposo sexual, provoca una reducción de la fertilidad de las hembras (Corteel, 1976). Los resultados del presente estudio sugieren que en marzo, los machos testigo no habían iniciado el periodo de reposo, que se desarrolla normalmente de enero a abril (Delgadillo *et al.*, 1999). Cualquiera que fuese la razón de la repuesta con machos testigos, los resultados del presente estudio permiten concluir que en las cabras de la Comarca

Lagunera en el subtrópico mexicano, la separación de los dos sexos no es necesaria para estimular la actividad reproductiva de las hembras al someterlas al efecto macho. No se puede excluir que esa respuesta positiva, sin necesidad de una previa separación, se deba en parte a que las hembras, aunque anéstricas, estaban débilmente inhibidas a la fecha en la cual se hizo la estimulación, aún si los porcentajes de hembras cíclicas no apoyan esa hipótesis. Sería importante determinar si una respuesta similar a la del presente experimento se puede obtener en hembras más tarde durante la estación de anestro, cuando son supuestamente más fuertemente inhibidas. Eso permitiría definir en la especie caprina la importancia de la separación previa de los dos sexos antes del efecto macho.

### **Agradecimientos**

A Crescencio Sandoval por proporcionar las cabras utilizadas en este estudio; a todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por su asistencia técnica; a Norma Serafín por haber efectuado las ecografías; a Dolores López por su excelente apoyo secretarial y administrativo; al CONACyT por la beca doctoral otorgada a Francisco Gerardo Véliz; al Programa de Cooperación Científica entre México (CONACyT, SEP, ANUIES) y Francia (ECOS) por hacer posible la colaboración entre la PRC del INRA y el CIRCA de la UAAAN (M02-A04).

### **Referencias**

- Álvarez L, Zarco LA. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet Méx* 2001;32(2):117-129.
- Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC. Ovarian activity during sexual maturation and following introduction of the ram to ewe lambs. *Small Rum Res* 2002;43:37-44.

- Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987;17:135-147.
- Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rum Res* 1992;8:299-312.
- Corteel JM. Variations de la motilité et de la fécondance des spermatozoides de bouc. *Ann Zootech* 1976;25:567-571.
- Cushwa WT, Bradford GE, Stabenfeldt GH, Berger YM, Dally MR. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrus ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *J Anim Sci* 1992;70:1195-1200.
- Delgadillo JA, Lebouef B, Chemineau P. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology* 1991;36:755-768.
- Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpoux B. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 1999;52:727-737.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Hernández HF, Duarte G, Vielma J, Malpoux B. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J Anim Sci* 2002;80:2780-2786.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Malpoux B. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. Revisión. *Vet Méx* 2003;34:69-79.
- Fabre-Nys C. Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. *INRA Prod Anim* 2000;13:11-23.



- Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P, Delgadillo JA. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in females goats. *Biol Reprod* 2000;62:1409-1414.
- Gonzalez R, Poindron P, Signoret JP. Temporal variation in LH and testosterone responses of rams after the introduction of oestrous females during the breeding season. *J Reprod Fertil* 1988;83:201-208.
- 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.
- Pearce GP, Oldham CM. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1988;84:333-339.
- Perkins A, Fitzgerald JA. The behavioral 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.
- Radford HM, Watson RH, Wood GF. A crayon and associated harness for the detection of mating under field conditions. *Austr Vet J* 1960;36:57-66.
- Restall BJ. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim Reprod Sci* 1992;27:305-318.
- Rosa HJD, Bryant MJ. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. A review. *Small Rum Res* 2002;45:1-16.
- Shelton, M. Influence of the presence of a male goat on the initiation of estrous cycling and ovulation of Angora does. *J Anim Sci* 1960;19:368-375.
- Shelton, M. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat and Sheep Res* 1980;1:156-162.



- Terqui M, Thimonier J. 1974. Nouvelle méthode radio-immunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application pour le diagnostic précoce de la gestation chez la brebis et la chèvre. CR Acad Sc Paris;D279:1109-1112.
- Véliz FG, Moreno S, Duarte G, Vielma J, Chemineau P, Poindron P, Malpaux B, Delgadillo JA. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. Anim Reprod Sci 2002;72:197-207.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in Australian cashmere goats. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. Anim Reprod Sci 1993;32:69-84.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ, Martin GB. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. J Reprod Fertil 1994;102:351-360.
- Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. J Reprod Fertil Suppl 1999;52:243-257.

### **FASE EXPERIMENTAL III**

**El previo aislamiento de los machos no es requerido para inducir la actividad sexual en cabras mediante el efecto macho en medio de su periodo de anestro estacional (3 de abril)**

(Articulo enviado para publicación en Biol. Reprod.)

## Resumen

Este estudio se realizó en un experimento factorial  $2 \times 2$ , para determinar si la completa separación entre sexos es necesaria para estimular la actividad sexual de las cabras anovulatorias a través del efecto macho a la mitad del anestro estacional, cuando existe una fuerte inhibición estacional de su actividad reproductiva. Se utilizaron dos grupos de cabras anovulatorias ( $n = 11$  c/u) en contacto con un macho antes del efecto macho, y dos grupos ( $n = 11$  c/u) sin contacto previo con machos. El 3 de abril, se removieron los machos en los dos grupos de hembras con macho. Inmediatamente después, dos grupos (uno previamente en contacto con un macho y el otro aislado) fueron expuestos a un macho en reposo sexual (1 macho/grupo), mientras que los otros dos grupos fueron puestos en contacto con un macho sexualmente activo (1 macho/grupo). Independientemente si tuvieron o no previo contacto con machos, más del 80% de las hembras mostraron un comportamiento estral y ovularon después de la introducción de los machos sexualmente activos. En contraste, ninguna hembra de los dos grupos expuestos a los machos en reposo sexual mostraron comportamiento estral, y solamente una de éstas ovuló. El comportamiento sexual (automarcajes con orina, flehmen, olfateos ano-genitales, aproximaciones, intentos de montas y montas) fue más alto en los machos sexualmente activos que en los machos en reposo sexual ( $P < 0.01$ ). Estos resultados confirman que el previo periodo de separación entre hembras y machos no es necesario para estimular la actividad reproductiva mediante el efecto macho, y que el factor importante para estimular la actividad sexual de las hembras es la intensidad sexual de los nuevos machos.

## Introducción

En las ovejas y cabras que presentan una reproducción estacional, la actividad sexual puede ser inducida por la introducción de un macho en un grupo de hembras durante el anestro estacional (Shelton, 1960; Chemineau, 1987; Knights *et*

*al.*, 2002). Sin embargo, la magnitud y persistencia de la respuesta de las hembras al efecto macho dependen de varios factores (Walkden-Brown *et al.*, 1999; Rosa y Bryant, 2002). Uno de estos factores es la intensidad del comportamiento sexual de los machos (Perkins y Fitzgerald, 1994; Flores *et al.*, 2000). Por ejemplo, más del 80% de las cabras anovulatorias muestran al menos un comportamiento estral durante los primeros 14 días después de la introducción de machos sexualmente activos estimulados con un tratamiento fotoperiódico. En cambio, menos del 10% de las cabras expuestas a machos no tratados presentan actividad estral (Flores *et al.*, 2000; Véliz *et al.*, 2002). Otro factor que es considerado crítico para obtener una buena respuesta sexual de las cabras al efecto macho es una completa separación (olor, sonido, vista, tacto) entre los dos sexos antes del efecto macho (Underwood *et al.* 1944; Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001). Esto fue propuesto debido a que las ovejas mantenidas en continuo contacto con carneros presentaban una estacionalidad de la actividad estral similar a las hembras que se encontraban sin ningún contacto con los machos, mientras que las hembras expuestas intermitentemente a los machos mostraban una alta incidencia de la actividad estral durante el periodo de anestro (Riches y Watson, 1954; Lishman, 1969). Sin embargo, la naturaleza del periodo de separación antes de la introducción de los machos no se describió, ni el tiempo mínimo requerido de esta separación. Posteriormente se demostró que la introducción de un nuevo macho puede estimular la actividad endocrina y ovárica (85%) de ovejas que previamente han estado en contacto con otros machos, en forma tan eficiente como cuando las hembras han estado previamente asiladas de los machos (86% actividad ovárica) (Cohen-Tannoudji y Signoret, 1987; Pearce y Oldham, 1988; Cushwa *et al.*, 1992). También, en las cabras recientemente se demostró, que al principio de la estación de anestro, en la cual las hembras están en una situación de una débil inhibición estacional (34% de hembras cíclicas), la previa separación no es necesaria (Véliz *et al.*, 2004). En efecto, más del 90% de las cabras mostró un comportamiento estral

después de la introducción de machos sexualmente activos o en reposo sexual, a pesar de la presencia continua de otros machos (Véliz *et al.*, 2004). Sin embargo, la alta respuesta de las hembras a la introducción de los machos en reposo sexual en el estudio de Véliz *et al.*, (2004) sugieren que las hembras utilizadas no estaban fuertemente inhibidas, y que posiblemente las hembras seguían responsivas por la presencia de esos machos, lo que se confirmó por el alto nivel de actividad sexual mostrado por los machos que supuestamente estaban en reposo sexual, lo que sugiere que ni las hembras ni los machos habían realmente iniciado el periodo de inactividad sexual (O'Callaghan *et al.*, 1994; Flores *et al.*, 2000; Véliz *et al.*, 2002). Por lo anterior, era necesario efectuar otro estudio en hembras fuertemente inhibidas (es decir a la mitad del periodo de anestro estacional de las hembras) y con machos testigo en reposo sexual. Por lo tanto, en el presente estudio se investigó si la previa separación entre machos y hembras es necesaria para estimular la actividad sexual de las hembras, a la mitad del anestro (3 de abril), cuando existe una fuerte inhibición estacional de la actividad sexual, o si es más importante la actividad sexual de los machos.

## **Materiales y métodos**

### *Animales, alimentación y tratamiento*

Este estudio se realizó con caprinos Criollos de la Comarca Lagunera de Coahuila, México (26°54' N y 103° L O). Las características reproductivas de los machos fueron descritas previamente (Delgadillo *et al.*, 1999).

### *Machos*

Doce machos adultos fueron puestos en instalaciones abiertas de 5 X 7 m y se alimentaron con heno de alfalfa a libre acceso y 300 g de concentrado comercial (14% de Proteína Cruda, 2.5 Mkal/kg) por día y por animal. El agua y los minerales se proporcionaron también a libre acceso. La preparación de los

animales empezó el 1 de noviembre de 2001. Estos machos fueron repartidos en dos grupos homogéneos de acuerdo a su peso corporal y peso testicular. Un grupo de machos (testigo; reposo sexual; n = 6), se sometió a las variaciones naturales del fotoperiodo durante todo el estudio (13:41 h de luz durante el solsticio de verano y 10:19 h en el solsticio de invierno); el otro grupo (tratado; sexualmente activo; n = 6), se sometió a un tratamiento de días largos (16 h luz /8 h de oscuridad) del 1 noviembre de 2001 al 15 de enero de 2002 (Delgadillo *et al.*, 2002). El 16 de enero, el tratamiento fotoperiódico fue suspendido y los machos fueron expuestos únicamente a las variaciones naturales del fotoperiodo hasta el fin del estudio (18 de abril de 2002). Este tratamiento estimula la secreción de testosterona y el comportamiento sexual de los machos durante el periodo natural de reposo sexual (Delgadillo *et al.*, 2002).

### *Hembras*

Se utilizaron 78 cabras Criollas multíparas que parieron entre el 1 de agosto y el 30 de noviembre de 2001, y cuyas crías fueron destetadas a los 25 días posparto. Todas las cabras fueron ordeñadas manualmente una vez por día, durante el experimento. Las hembras estuvieron en contacto permanente con cinco machos desde el 15 de diciembre del 2001. Estos machos portaban un peto para prevenir que éstos realizaran montas con cópula a las hembras. Los animales fueron mantenidos en condiciones de explotación extensiva antes de empezar el estudio.

El 5 de marzo de 2002, las cabras se dividieron en dos grupos homogéneos de acuerdo a su condición corporal, peso corporal, producción láctea y su fecha de parto. La distancia entre cada grupo fue mayor de 120 m para evitar cualquier interferencia entre los grupos (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1993). Un grupo de cabras (n = 39) permaneció en contacto con cuatro machos, mientras que el otro grupo (n = 39) fue aislado de los machos. Ambos grupos fueron estabulados en corrales de 10 X 10 m, bajo condiciones de fotoperíodo natural, y fueron

alimentados con heno de alfalfa a libre acceso y 200 g de concentrado comercial (14% de Proteína Cruda, 2.5 Mkal/kg) por día y por animal, con agua y minerales a libre acceso. El 5, 15 y 25 de marzo se obtuvieron muestras sanguíneas de todas las hembras para determinar los niveles plasmáticos de progesterona por RIA mediante la técnica descrita por Terqui y Thimonier (1974). Este procedimiento permite distinguir las hembras anovulatorias y las cíclicas. Doce hembras (31%) en contacto con los machos y seis (15%) aisladas fueron detectadas con actividad ovárica, mientras que otras cinco hembras en contacto con los machos fueron diagnosticadas gestantes, por lo que fueron retiradas del experimento.

#### *Efecto macho*

El 2 de abril de 2002, las hembras en contacto con machos fueron divididas en dos grupos (n = 11, cada uno), y en cada uno de ellos fue puesto uno de los machos que se encontraban previamente con ellas. Al mismo tiempo, las hembras aisladas también fueron divididas en dos grupos (n = 11, cada uno), las cuales permanecieron sin contacto con machos. Cada grupo fue puesto en un corral de 3 X 5 m. El 3 de abril a las 08:00 h (día 0), los dos machos en contacto con las hembras fueron retirados. Inmediatamente después, dos grupos, uno previamente en contacto con un macho y el otro aislado, se expusieron a un macho testigo (1 macho/grupo), mientras que cada uno de los otros dos grupos fueron puestos en contacto con un macho tratado (1 macho/grupo). Los cuatro machos introducidos con las hembras fueron seleccionados al azar del grupo testigo y tratado, respectivamente. Finalmente, el día 0 antes de la introducción de los machos, se recolectó una muestra sanguínea, de todas las hembras de los cuatro grupos, para comprobar que ninguna hembra había iniciado su actividad ovárica antes de la introducción de los nuevos machos. Los machos permanecieron durante 15 días con las hembras (18 de abril de 2002).



### *Variables evaluadas*

En todos los grupos el comportamiento sexual de los machos se observó de 08:00 a 10:00 h durante los primeros cinco días después de la introducción de los nuevos machos con las hembras. Las variables registradas del comportamiento sexual de los machos fueron los automarcajes con orina, los flehmen, los olfateos ano-genitales, las aproximaciones, los intentos de montas y las montas (con o sin introducción vaginal) (Gonzalez *et al.*, 1988; Fabre-Nys, 2000; Flores *et al.*, 2000).

En las hembras, el comportamiento estral fue registrado diariamente en la mañana (08:00 a 10:00 h) y en la tarde (17:00 a 19:00 h) desde el día de la introducción de los machos hasta el día 18 de abril. Para ello, los machos utilizados para el efecto macho fueron provistos de un arnés con un marcador de cera (Radford *et al.*, 1960; Walkden-Brown *et al.*, 1993). Durante las observaciones del comportamiento sexual, las hembras que se inmovilizaban al ser montadas por los machos fueron consideradas en estro (Chemineau *et al.*, 1992). En los días subsiguientes, las hembras con marcas claras de cera en la parte pélvica se consideraron en estro. La actividad ovárica fue determinada obteniendo muestras sanguíneas diariamente del día 1 al 17 después de la introducción de los nuevos machos. Para ello, las muestras fueron colectadas de la vena yugular utilizando tubos que contenían EDTA. El plasma obtenido fue centrifugado a 3500 rpm por 20 min y congelado a  $-20^{\circ}$  C hasta las determinaciones hormonales. Las concentraciones plasmáticas de progesterona fueron determinadas mediante la técnica de RIA en duplicado descrita por Saumande *et al.* (1985). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng/ml. El coeficiente de variación intra e inter-ensayo fue de 5 y 7%, respectivamente. Se consideró que las hembras con niveles de  $\geq 0.5$  ng/ml de progesterona, en por lo menos dos muestras consecutivas, habían ovulado (Gomez-Brunet *et al.*, 1995).



### *Análisis de datos*

La proporción total de hembras anovulatorias que manifestaron actividad estral y ovárica, fue comparada entre grupos mediante una prueba exacta de probabilidades de Fisher. El intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro, así como la duración del ciclo estral, fueron comparados mediante una prueba t de Student. Las frecuencias de los diferentes comportamientos sexuales de los machos (testigos *vs.* tratados) fueron comparadas utilizando una prueba de chi-cuadrada corregida de Yates.

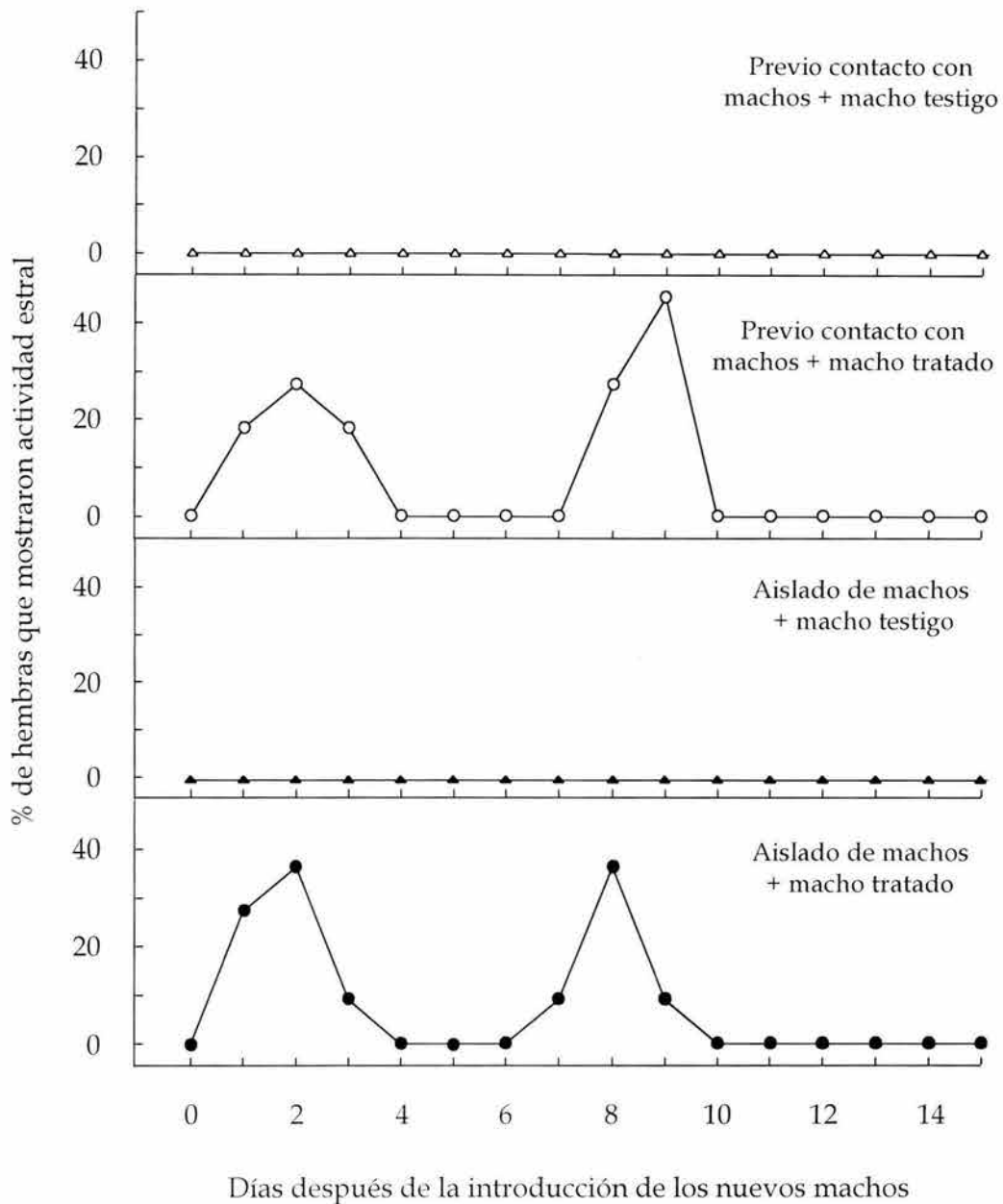
## **Resultados**

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

Independientemente si existió o no contacto previo con los machos, un alto porcentaje de hembras mostraron al menos un comportamiento estral y una ovulación durante los primeros 15 días después de la introducción de los machos tratados (91% de hembras con periodo previo de aislamiento *vs.* 82% de hembras en contacto previo con machos;  $P > 0.05$ ; Figura 1). En contraste, ninguna hembra de los dos grupos expuestos a machos testigo mostró actividad estral ( $P < 0.02$ ; Figura 1), y únicamente una de éstas ovuló después de la introducción de machos testigo.

El intervalo entre la introducción de los machos tratados y la presentación del primer comportamiento estral no fue estadísticamente diferente entre los grupos de hembras con y sin previo contacto con machos ( $2.3 \pm 0.3$  *vs.*  $1.9 \pm 0.2$  días;  $P > 0.05$ ). En ambos grupos el primer comportamiento estral estuvo siempre asociado con una ovulación. Sin embargo, en dos cabras en contacto con los machos tratados (una hembra de cada grupo) se registró una ovulación sin comportamiento estral, entre los días 4 y 7 después de la introducción de los machos. La proporción de hembras que mostraron un ciclo estral de duración corta no fue diferente entre los dos grupos (7/11 y 5/11 hembras con y sin contacto previo con machos,

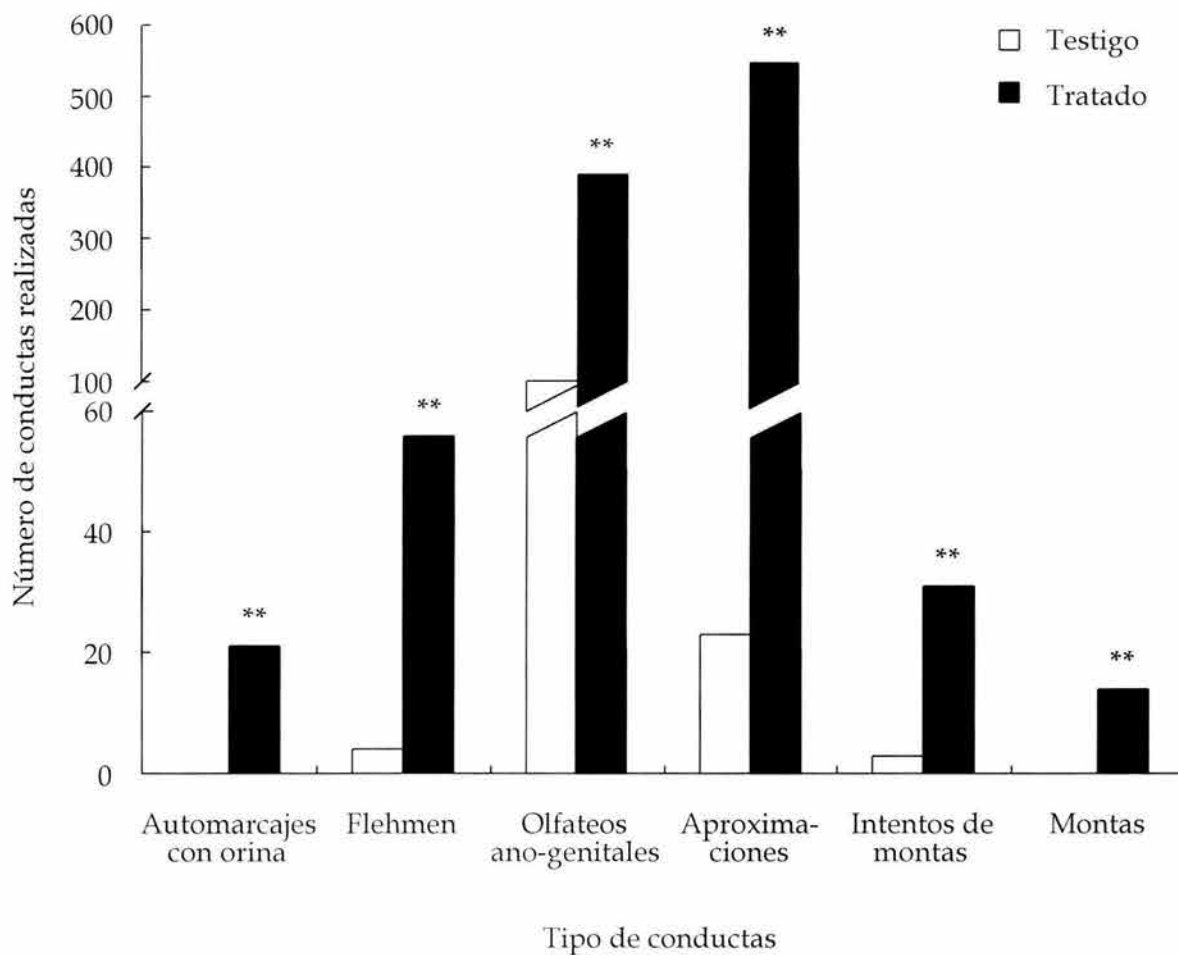
respectivamente;  $P > 0.05$ ). La duración del ciclo estral corto fue de  $6.1 \pm 0.2$  y  $5.6 \pm 0.2$  días en las hembras con o sin previo contacto con machos, respectivamente ( $P > 0.05$ ). Asimismo, la proporción de hembras que presentaron un segundo comportamiento estral no fue diferente entre los dos grupos (7/9 y 5/10 hembras con y sin contacto previo con machos, respectivamente). En ambos grupos el segundo comportamiento estral estuvo siempre asociado con una ovulación.



**Figura 1.** Porcentaje de hembras que presentaron actividad estral a) después de la introducción de un macho sexualmente activos en un grupo de hembras con contacto previo con machos (círculos blancos) o con un periodo de completo aislamiento de éstos (círculos negros). b) después de la introducción de los machos testigo sexualmente inactivos, en un grupo de hembras que habían tenido (triángulos blancos) o no (triángulos negros) previo contacto con machos. Día 0 es el día de la introducción de los nuevos machos.

*Comportamiento sexual de los machos*

La frecuencia de expresión de todas las conductas sexuales fue más alta en los machos tratados que en los machos testigo ( $P < 0.01$ ; Figura 2). En efecto, más del 80% de todas las conductas fueron registradas en los machos tratados (21/21 automarcajes con orina, 56/60 flehmen, 389/490 olfateos anogenitales, 546/569 aproximaciones, 31/34 intentos de montas y 14/14 montas).



**Figura 2.** Número de conductas sexuales de los machos registrado durante 2 h en los primeros cinco días después de la introducción de éstos en los grupos de hembras. Barras blancas: machos testigo ( $n = 2$ ) expuestos a un grupo de hembras con un periodo de aislamiento de 28 días de los machos a un grupo de hembras con previo contacto con otros machos. Barras negras: machos tratados ( $n = 2$ ) expuestos a un grupo de hembras con un periodo de aislamiento de 28 días de los machos a un grupo de hembras con previo contacto con otros machos. \*\* $P < 0.01$ .

## Discusión

Este estudio demuestra que en las cabras en anestro estacional, el previo aislamiento de los machos no es requerido para obtener una buena estimulación de su actividad sexual a través del efecto macho. Asimismo, confirma que el factor más importante para estimular la actividad sexual de las hembras es la intensidad de la actividad sexual del nuevo macho introducido. Efectivamente, más del 80% de las cabras en contacto con los machos sexualmente activos mostró al menos un comportamiento estral y una ovulación en los primeros 15 días después de la introducción de éstos, independientemente si las hembras habían tenido o no previo contacto con los machos. En contraste, únicamente una hembra expuesta a los machos en reposo sexual ovuló en ese mismo periodo.

Estos resultados difieren de aquellos que sugieren que las cabras responden únicamente a la introducción de los machos si éstas han tenido un periodo de completo aislamiento (olor, sonido, vista y tacto) de los machos, de al menos tres semanas antes de realizar el efecto macho (Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001). Esta idea se propuso en ovejas porque se observó que las hembras mantenidas en contacto con machos mostraban una estacionalidad reproductiva similar a las hembras aisladas de los machos. Por el contrario, las hembras sin previo contacto con machos respondían a la introducción de machos un mes antes del inicio o del final de la estación reproductiva reactivando su actividad sexual (Riches y Watson, 1954; Lishman, 1969). Estos autores sugirieron que las hembras mantenidas en contacto continuo con los machos se hacían refractarias a la presencia de éstos. Sin embargo, en las ovejas, varios resultados indican que este requerimiento de previa separación no es indispensable, al menos en una situación en que la actividad reproductiva de las hembras no estaba fuertemente inhibida, es decir antes del inicio de la estación de reproducción. Por ejemplo, la introducción de machos en marzo causa algunas (5%) ovulaciones, pero la introducción de un nuevo macho en mayo, más cerca a la estación reproductiva, induce la ovulación

en las hembras (más del 85%) que no habían respondido al primer estímulo, a pesar de la presencia continua de machos desde marzo (Cushwa *et al.*, 1992). De manera similar, la introducción de un macho repetida y por un corto tiempo en ovejas puede estimular un incremento en su secreción de LH, las cuales han sido separadas durante 15 días, o 5 días e incluso durante solo 1 día de los machos (Cohen-Tannoudji y Signoret, 1987). En cabras, el mismo concepto de un requerimiento de separación fue desarrollado porque las hembras mantenidas en continuo contacto con los machos únicamente prolongaban su actividad sexual aproximadamente un mes comparado con las hembras aisladas. Esto también sugería que las hembras llegaban a hacerse refractarias a la presencia del macho (Restall, 1992). Recientemente, se demostró que como en las ovejas, en las cabras, la previa separación no es necesaria cuando el efecto macho se realiza al inicio de la estación de anestro (Véliz *et al.*, 2004). En efecto, los presentes datos confirman y extienden esta conclusión obtenida en cabras al inicio del periodo de anestro estacional y demuestran que a mediados de la estación de anestro (abril; Delgadillo *et al.*, 2003), en una situación de una fuerte inhibición estacional (ausencia de respuesta en las hembras expuestas a machos en reposo sexual; Flores *et al.*, 2000; Véliz *et al.*, 2002), la previa separación tampoco es necesaria para obtener una inducción de la actividad en las hembras siempre que se utilicen machos sexualmente activos.

Nuestros resultados además demuestran que en las cabras Criollas la presencia de los machos antes de realizar el efecto macho no altera el porcentaje o la calidad de respuesta de las hembras en anestro expuestas a machos sexualmente activos. En efecto, el intervalo entre la introducción de los machos sexualmente activos y el primer comportamiento estral, el porcentaje de ciclos estrales de corta duración y las ovulaciones fueron similares entre ambos grupos de hembras (con o sin contacto previo con machos), lo que sugiere que el previo aislamiento de las hembras de los machos no tiene influencia en la calidad de la respuesta. El factor

crítico para obtener una buena respuesta al efecto macho es el nivel de actividad sexual de los machos introducidos. Durante el periodo de reposo sexual, los machos muestran una disminución de su actividad sexual, vocalizaciones y emisión de feromonas (Walkden-Brown *et al.*, 1994; Delgadillo *et al.*, 1999), por lo que la introducción de machos en reposo sexual no estimula la actividad sexual de las hembras (Restall, 1992; Véliz *et al.*, 2002). En contraste, el comportamiento sexual de los machos tratados fue muy alto en comparación con los machos control y esto permitió una buena respuesta de las hembras. Los machos tratados con días largos muestran, en el mes de marzo, concentraciones plasmáticas de testosterona, peso testicular y probablemente emisiones de feromonas similares a las encontradas durante la estación natural de reproducción (Delgadillo *et al.*, 2002). Sin embargo, nuestros resultados no permiten determinar si las hembras en presencia continua con machos sexualmente activos entrarían en anestro después de haber sido inducidas a ovular, y si es el caso a su vez podrían responder a la reintroducción de otros machos sexualmente activos.

### **Conclusión**

En conclusión, los resultados confirman que el previo aislamiento entre machos y hembras antes del efecto macho no es un requisito indispensable para estimular la actividad sexual de las cabras, a condición de introducir machos sexualmente activos.

### **Agradecimientos**

A Crescencio Sandoval por proporcionar las cabras necesarias para este estudio; a todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna por su asistencia técnica; a Dolores López por su excelente apoyo



secretarial; Francisco Gerardo Véliz fue becado por CONACyT durante su estudio de doctorado.

### Referencias

- Álvarez L, Zarco LA. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet Mex* 2001;32(2):117-129.
- Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987;17:135-147.
- Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rum Res* 1992;8:299-312.
- Cushwa WT, Bradford GE, Stabenfeldt GH, Berger YM, Dally MR. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrous ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *J Anim Sci* 1992;70:1195-1200.
- Cohen-Tannoudji J, Signoret JP. Effect of short exposure to the ram on later reactivity of anoestrous ewes to the male effect. *Anim Reprod Sci* 1987;13:263-268.
- Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpoux B. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 1999;52:727-737.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Hernández HF, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Chemineau P, Malpoux B. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J Anim Sci* 2002;80:2780-2786.
- Fabre-Nys C. Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. *INRA Prod Anim* 2000;13:11-23.

- Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P, Malpoux B, Delgadillo JA. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol Reprod* 2000;62:1409-1414.
- Gómez-Brunet A, López-Sebastian A, Picazo RA, Cabellos B, Goddard S. Reproductive response and LH secretion in ewes treated with melatonin implants and induced to ovulate with the male effect. *Anim Reprod Sci* 1995;39:23-34.
- Gonzalez R, Poindron P, Signoret JP. Temporal variation in LH and testosterone responses of rams after the introduction of oestrous females during the breeding season. *J Reprod Fertil* 1988;83:201-208.
- Knights M, Baptiste QS, Lewis PE. Ability of ram introduction to induce LH secretion, estrus and ovulation in fall-born ewe lambs during anestrus. *Anim Reprod Sci* 2002;69:199-209.
- Lishman AW. The seasonal pattern of oestrus amongst ewes as affected by isolation from and joining with rams. *Agroanimalia* 1969;1:95-102.
- O'Callaghan D, Donovan A, Sunderland SJ, Boland MP, Roche JF. Effect of the presence of male and female flockmates on reproductive activity in ewes. *J Reprod Fertil* 1994;100:497-503.
- Pearce GP, Oldham CM. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1988;84:333-339.
- Perkins A, Fitzgerald JA. The behavioral 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.
- Radford HM, Watson RH, Wood GF. A crayon and associated harness for the detection of mating under field conditions. *Austr Vet J* 1960;36:57-66.
- Restall BJ. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim Reprod Sci* 1992;27:305-318.

- Riches JH, Walson RH. The influence of the introduction of rams on the incidence of oestrus in Merino ewes. *Austr J Agric Res* 1954;5:141-147.
- Rosa HJD, Bryant MJ. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. A review. *Small Rum Res* 2002;45:1-16.
- Saumande 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.
- Shelton M. Influence of the presence of a male goat on the initiation of estrous cycling and ovulation of Angora does. *J Anim Sci* 1960;19:368-375.
- Shelton, M. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res* 1980;1(2):156-162.
- Terqui M, Thimonier J. Nouvelle méthode radio-immunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application pour le diagnostic précoce de la gestation chez la brebis et la chèvre. *CR Acad Sc Paris* 1974;D279:1109-1112.
- 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 Austr* 1944;11 (2):135-143.
- Véliz FG, Moreno S, Duarte G, Vielma J, Chemineau P, Poindron P, Malpaux B, Delgadillo JA. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. *Anim Reprod Sci* 2002;72:197-207.
- Véliz FG, Vélez LI, Flores JA, Duarte G, Poindron P, Malpaux B, Delgadillo JA. La presencia del macho en un grupo de cabras anéstricas no impide su respuesta estral a la introducción de un nuevo macho. *Vet Méx* 2004;35(3):167-178.

- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1993;32:69-84.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ, Martin GB. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *J Reprod Fertil* 1994;102:351-360.
- Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J Reprod Fertil Suppl* 1999;52:243-257.

## Discusión general

Los resultados del primer estudio indican que en las cabras Criollas del norte de México, la presencia de hembras en estro al momento de inducir el efecto macho con machos inactivos no representa un estímulo importante para aumentar la respuesta sexual de las demás hembras en anestro. En efecto, menos del 10% de las hembras anovulatorias reactivaron su actividad estral después de la introducción de los machos en reposo sexual, independientemente de si tuvieron o no la presencia de hembras en estro al momento de la introducción de los machos. En cambio, más del 90% de las hembras en contacto con los machos sexualmente activos mostraron una reactivación de su actividad estral, indicando que la falta de respuesta no fue debida a una incapacidad de las hembras para responder a la introducción de los machos. Estos resultados son contrarios a los reportados por otros autores, quienes mencionan que la presencia de hembras en estro aumenta la respuesta de las hembras al efecto macho, ya sea indirectamente (estimulando la conducta sexual de los machos) o directamente (estimulando la actividad sexual de las hembras anovulatorias) (Restall *et al.*, 1995; Álvarez *et al.*, 1999; Rosa *et al.*, 2000). Un factor que pudo influir en la respuesta de las hembras fue el bajo porcentaje de hembras que estaban en estro (alrededor del 20%) al momento de la introducción de los machos testigo, pues en los estudios en donde ha existido respuesta se ha utilizado hasta un 50% de hembras en estro (Álvarez *et al.*, 1999). Sería importante determinar si incrementando el porcentaje de hembras en estro al momento de la introducción de los machos testigos, o incrementando el tiempo que las hembras inducidas al estro lo presentan (más de un día) (Restall *et al.*, 1995), puede inducirse la actividad sexual de las hembras y el comportamiento sexual de los machos. Además, los machos en reposo sexual mostraron una baja frecuencia de conductas sexuales cuando se introdujeron con las hembras anovulatorias, independientemente si tenían o no la presencia de hembras en estro. Esto pudo

deberse a que los machos se encontraban fuera de la estación de reproducción. En efecto, se ha reportado anteriormente que los machos en el periodo de reposo sexual no responden (aumento en la secreción de LH, testosterona y la conducta del macho) a la introducción de hembras en estro (Walkden-Brown *et al.*, 1994). Sin embargo, la falta de respuesta de las hembras expuesta a los machos testigo contrasta con la alta respuesta sexual obtenida en las hembras expuestas a los machos tratados (95%), lo que sugiere que el factor importante fue el estado fisiológico de los machos. Además, estos resultados sugieren que las hembras anovulatorias siempre están receptivas a la introducción de machos sexualmente activos, siempre que éstos desplieguen una intensa actividad sexual (Flores *et al.*, 2000).

La separación total de los dos sexos antes del efecto macho se ha considerado como condición indispensable para estimular la actividad sexual de las cabras (Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001). Sin embargo, los resultados del segundo estudio demuestran que en las cabras Criollas de la Comarca Lagunera el periodo de aislamiento previo al efecto macho no es importante para reactivar la actividad sexual de las hembras, después de la introducción de nuevos machos. Efectivamente, los resultados del segundo estudio demuestran que la falta de separación no impidió que el 80% de las cabras reactivaran su actividad sexual después de la introducción de los nuevos machos, sexualmente activos o en reposo sexual. Estos resultados difieren de aquellos que mencionan que las cabras responden únicamente a la introducción de los machos si éstas han tenido un periodo de completo aislamiento (olor, sonido, vista y tacto) de los machos, de al menos tres semanas antes de realizar el efecto macho (Chemineau, 1987; Álvarez y Zarco, 2001). Sin embargo, la respuesta de las hembras en contacto con los machos en reposo sexual fue contraria a la obtenida en el primer estudio y por Flores *et al.* (2000). Probablemente las hembras respondieron a la introducción de los nuevos machos en reposo sexual debido a dos factores principalmente: 1) la presencia

continua de los machos antes del efecto macho pudo haber retardado el final de la estación sexual. En estas circunstancias las hembras estarían anovulatorias, pero débilmente inhibidas (Restall, 1992), y por lo tanto receptivas a la introducción de los nuevos machos. 2) El comportamiento de los machos testigo fue inferior al de los machos tratados, pero superior al de los machos testigo del primer estudio y del reportado por Flores *et al.* (2000) en estas mismas condiciones. En este último estudio y en el de Delgadillo *et al.* (2002) los machos testigo no estimularon la actividad reproductiva de las cabras. Por consiguiente, es probable que el comportamiento sexual desplegado por los machos testigo y/o el nivel de emisión de feromona fuesen los factores responsables de la estimulación de la actividad sexual de las cabras. En efecto, la calidad del estímulo, determinada por la intensidad del comportamiento sexual de los machos, la libido y las feromonas influye en la respuesta de las hembras. Los machos que muestran mayor olor y libido estimulan la actividad sexual de un mayor número de hembras (Walkden-Brown *et al.*, 1993; Perkins y Fitzgerald, 1994).

Los resultados del tercer experimento confirman que la previa separación entre los dos sexos no es necesaria para inducir la actividad sexual de las cabras. La actividad sexual de las cabras sometidas al efecto macho en abril, cuando existe una mayor inhibición fotoperiódica (mitad del anestro), fue estimulada solamente por los machos sexualmente activos (Delgadillo *et al.*, 2003). En el tercer experimento solamente el comportamiento sexual de los machos (olfateos anogenitales y aproximaciones) fue la diferente entre los dos experimentos, ya que la proporción de hembras en estro al momento de la introducción de los machos fue similar. Por lo que sugiere fuertemente que en estos animales, el comportamiento de los machos es lo más importante para estimular la actividad sexual de las hembras. Además estos resultados demuestran que en las cabras, la presencia de los machos antes de realizar el efecto macho no modifica la calidad de respuesta de las cabras Criollas en anestro expuestas a machos sexualmente activos. En efecto, el



intervalo entre la introducción de los machos sexualmente activos y el primer comportamiento estral, el porcentaje de ciclos estrales de corta duración y las ovulaciones fueron similares entre ambos grupos de hembras (con o sin contacto previo con machos), lo que confirma que el previo aislamiento entre las hembras y los machos no tiene influencia en la calidad de la respuesta.

Los resultados del presente estudio demuestran que en las cabras Criollas en anestro estacional y lactacional de la Comarca Lagunera, la presencia de hembras en estro al momento de la introducción de machos inactivos no mejora la respuesta sexual de éstas a mitad del anestro estacional. Además, demuestran que el previo aislamiento entre machos y hembras antes del efecto macho no es un requisito indispensable para estimular la actividad sexual de las cabras locales de la Comarca Lagunera, a condición de introducir machos sexualmente activos. Probablemente este requisito de separación de los dos sexos se puede también omitir en otras cabras de otras latitudes, sin embargo, sería importante probarlo.

## **Referencias**

- Álvarez L, Zarco LA. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet Méx* 2001;32(2):117-129.
- Álvarez L, Ducoing AE, Zarco LA, Trujillo AM. Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. *Vet Méx* 1999;30(1):25-31.
- Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987;17:135-147.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Hernández HF, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Chemineau P, Malpoux B. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J Anim Sci* 2002;80:2780-2786.



- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Malpoux B. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. *Revisión. Vet Méx* 2003;34:69-79.
- Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P, Malpoux B, Delgadillo JA. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol Reprod* 2000;62:1409-1414.
- Perkins A, Fitzgerald JA. The behavioral 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.
- Restall BJ. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim Reprod Sci* 27, 305-318.
- Restall BJ, Restall H, Walkden-Brown SW. The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1995;40:299-303.
- Rosa HJD, Juniper DT, Bryant MJ. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Appl Anim Behav Sci* 2000;67:293-305.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1993;32:69-84.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ. The "female effect" in Australian cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrous does. *J Reprod Fertil* 1994;100:521-531.



ELSEVIER

Animal Reproduction Science 72 (2002) 197–207

ANIMAL  
REPRODUCTION  
SCIENCE

www.elsevier.com/locate/anireprosci

## Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females

F.G. Véliz<sup>a,e</sup>, S. Moreno<sup>a</sup>, G. Duarte<sup>b</sup>, J. Vielma<sup>a</sup>, P. Chemineau<sup>c</sup>,  
P. Poindron<sup>d</sup>, B. Malpaux<sup>b</sup>, J.A. Delgadillo<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Carretera a Santa Fe y Periférico AP 940, Torreon, Coahuila, Mexico*

<sup>b</sup> *Departamento de Producción Animal, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Carretera a Santa Fe y Periférico AP 940, Torreon, Coahuila, Mexico*

<sup>c</sup> *Physiologie de la Reproduction et des Comportements, UMR 6073 INRA-CNRS-Université de Tours, 37380 Nouzilly, France*

<sup>d</sup> *Centro de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, AP 1-1141, Campus UNAM-UAQ, Juriquilla, Querétaro, 76 001 Qro., Mexico*

<sup>e</sup> *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, AP 04510 Mexico City, DF, Mexico*

Received 9 November 2001; received in revised form 22 April 2002; accepted 28 May 2002

### Abstract

A study was conducted in subtropical northern Mexico (26°N) to determine whether the presence of estrous females can improve the response of seasonally anovulatory goats to the introduction of bucks in the group. The induction of estrous activity was studied in three groups of anovulatory lactating goats during seasonal anestrus. These females were of the Mexican Creole breed. In the control group (sexually inactive (SI),  $n = 20$ ), two control (SI) bucks exposed to normal seasonal daylength variations were used. In the second group (SI + E,  $n = 20 + 3$ ), two control males were also used, but in addition, three females of the group were in estrus at the time of male introduction. In the third group (sexually active, SA + E,  $n = 19 + 4$ ), anovulatory females were exposed to two bucks made sexually active by exposure to 2.5 months of long days (16L:8D) followed by two subcutaneous 18 mg melatonin implants, and four estrous females were also present when introducing the bucks. In all groups, males were introduced on 15 March and estrous detection was conducted twice daily for 15 days. The sexual activity of the bucks was observed from 08:00 to 10:00 h during the first five days of exposure to females. More females displayed estrous behavior in the first 15 days following the introduction of the males in the SA + E group (18/19) as compared with the SI or SI + E groups (2/20 and 0/20, respectively;  $P < 0.001$ ). No difference was

\*Corresponding author. Fax: +52-871-7331210.

E-mail addresses: joaldesa@yahoo.com, delgadil@ul.uaaan.mx (J.A. Delgadillo).

observed between the two latter groups. Thirteen females of SA + E group showed a second estrus between days 6 and 11 (short estrous cycle duration:  $5.4 \pm 0.4$  days). By contrast, in the SI group none showed a second estrus. The sexual behavior of the males in the SA + E group was greater as compared with that of the males in SI and SI + E groups (over 80% of the total sexual activity recorded in the three groups;  $P < 0.001$ ). By contrast, no differences were found between SI and SI + E males. These results indicate that the presence of estrous females alone at the time of buck introduction is not sufficient to induce an adequate stimulation of seasonally inactive males. The use of sexually active bucks is necessary to induce reproductive activity in anovulatory females, whereas preparation of the bucks with long days followed by melatonin implants allows them to gain such a capacity.

© 2002 Published by Elsevier Science B.V.

*Keywords:* Goat; Reproductive seasonality; Photoperiod; Estrus; Male effect; Sexual behavior

## 1. Introduction

While reproductive activity in mammals is dependent on hormonal factors, in several instances the social environment can exert some modulatory action (Malpaux, 1999; Gerlach and Aurich, 2000). Thus, in seasonal breeds of sheep and goats, sexual activity can be induced by the introduction of a male into a group of seasonally and/or lactationally anovulatory females male effect (ME) or teasing; ewes (Underwood et al., 1944; Poindron et al., 1980; Signoret, 1990); goats (Shelton, 1960; Chemineau, 1987), and the amplitude of the response to male exposure depends on several factors (Walkden-Brown et al., 1999). For example, the percentage of lactationally anestrous females that respond to the male effect varies with the amount of sexual behavior displayed by the males. In a study conducted by Perkins and Fitzgerald (1994), it was found that 97% of ewes ovulated following the introduction of males showing an intense sexual behavior, while only 78% of females did so in response to stimulation by males with a lesser sexual behavior. Also, the proportion of females ovulating in response to exposure to a male is greater when both sexes can interact physically as compared with when physical contact is prevented by a fence line that does not block visual contact (goats (Chemineau, 1987); ewes (Pearce and Oldham, 1988). Another factor that can influence the response to ME is the presence of females in estrus at the time of male exposure to females. Thus, exposing rams (Rosa et al., 2000) or bucks (Walkden-Brown et al., 1993b) to estrous females shortly before or at the time of introduction of the males into a group of anovulatory females, increases the response induced in these anovulatory females. In a study by Walkden-Brown et al. (1993b), 87% of goats responded to the male effect when estrous females were present at the time of male introduction versus 72% in their absence. In fact, the presence of only a few estrous ewes or goats may induce sexual activity in the rest of the females, even in the absence of any male (ewes (Zarco et al., 1995); goats (Bouillon et al., 1982; Restall et al., 1995; Álvarez-Ramírez et al., 1999). In subtropical northern Mexico, it has been recently reported that seasonally anovulatory lactating female goats only respond to the male effect if sexually active males are used. Indeed, in a study performed in mid-March, about 80% of Mexican Creole goats showed at least one bout of estrous behavior within 14 days after the introduction of bucks in which sexual activity had been stimulated by a long-days + melatonin treatment, while virtually no

response was found in females exposed to control males that were sexually inactive (Flores et al., 2000). However, it has not been determined if the response of anovulatory females to sexually inactive males can be improved by exposing those males to estrous females at the time of male introduction. The hypothesis of the present study was that in a group of seasonally anovulatory goats estrous response to the introduction of sexually inactive bucks would be greater if some females were in estrus when the bucks were introduced as compared to when no females were in estrus at that time. A third group was also studied, in which sexually active bucks were used to have a positive control group, to make sure that, if no response was observed in either of the two groups with inactive bucks, it was not due to the inability of the females to respond, independently of the type of males used. In the three groups sexual behavior of the males was measured because the hypothesis implied that the response of the females in a given group would also be related with the sexual activity of the males in that group.

## 2. Materials and methods

### 2.1. *Animals, maintenance conditions and treatments*

#### 2.1.1. *Males*

Ten adult Mexican Creole male goats of the Laguna region in the State of Coahuila, Mexico (26°N) were used. The characteristics of these bucks were the same as those described previously by Delgadillo et al. (1999) and used by Flores et al. (2000). All animals were kept outdoors and fed alfalfa (18% CP) ad libitum, and 300 g of commercial concentrate (14% CP) and free access to water and mineral blocks. The preparation of the males started on 1 November 1999. One group (sexually inactive (SI);  $n = 5$ ) was exposed to natural photoperiodic variations throughout the study (13 h and 41 min of light at the summer solstice and 10 h and 19 min at the winter solstice). The other group (sexually active (SA);  $n = 5$ ) was subjected to a treatment of long days (16 h of light/8 h of darkness) from 1 November 1999 to 15 January 2000. On 16 January, each SA male received two subcutaneous implants containing 18 mg of melatonin in each implant (Regulin-Mélovine, CEVA Santé Animale, Libourne, France). From this day onwards, the light treatment was stopped and the males were exposed to natural day length variations until the end of the study. This treatment has been shown previously to stimulate LH and testosterone secretion and, as a consequence, to improve sexual behavior of bucks during the non-breeding season (Flores et al., 2000; Delgadillo et al., 2001a).

#### 2.1.2. *Females*

One hundred and two multiparous Mexican Creole goats were used. They had given birth between 1 October 1999 and 15 February 2000. All females were hand milked once a day during the time the experiment was conducted, and none of them were rearing kids during the experimental period. Kids had been weaned at about 25 days of age. The females were not allowed with males from 1 January 2000, and the nearest bucks were in another flock situated about 2 km away from the experimental farm. The females were maintained under extensive management system before the study was started. On 23 February, the goats were

penned in a yard and fed alfalfa (18% CP) ad libitum, and 200 g of commercial concentrate (14% CP), with free access to water and mineral blocks until the end of the study. On 24 February and 5 March, blood samples were taken by veinipuncture and plasma progesterone concentrations determined by RIA, a procedure which allows for distinguishing females which have initiated estrous cycles from those which remain anovulatory (Terqui and Thimonier, 1974). Thirty-four does showed ovarian activity and were, therefore, separated from the main flock and removed from the experiment. As a consequence, only 68 females were used in the experiment.

### 2.1.3. *Male effect*

On 14 March 2000, females were divided in three homogeneous groups balanced for parturition date (month), body weight and amount of milk production. The distance between each group was more than 130 m (Walkden-Brown et al., 1993b). The control group (SI group) consisted of 20 anovulatory females that were exposed on 15 March to two control bucks in non-breeding season selected at random from the SI group described previously. The second group (SI+E group) consisted of 24 anovulatory females, of which 20 remained untreated, while the remaining four were synchronized to be in estrus on the day of exposure to bucks (see details of synchronization technique below). These females were exposed to two randomly selected SI bucks as in the first group. In the third group (SA + E group), 24 anovulatory females were used. Twenty were left untreated and the four remaining ones were synchronized into estrus as in the SI + E group. On the day of buck exposure (day 0), this group was exposed to two sexually active bucks selected at random from the SA group of bucks. Finally, an additional blood sample was collected on the day of buck exposure from all females of the three groups, to check that no females other than the ones induced into estrus had initiated ovarian activity at this time.

### 2.1.4. *Estrous induction in stimulus females*

Females to come into estrus on the day of introducing the males were treated with vaginal sponges impregnated with 45 mg of a progestagen for 10 days (FGA, Chronogest, Intervet), and 48 h before the sponge removal, the animals were injected with, 200 IU of eCG i.m. (Folligon, Intervet, Holland) and 250 µg of prostaglandin PGF<sub>2α</sub> i.m. (Lutalyse, Upjohn, Mexico; Leboeuf et al., 1998). Four females were treated in each of the SI + E and SA + E groups. Of these, three in the SI + E and four in the SA + E groups were in estrus at the time of male exposure to females. They remained in their respective group until the end of the study, on 30 March 2000.

## 2.2. *Measurements*

The males were introduced into their respective group on 15 March 2000 at 08:00 h. In each group, the sexual behavior of the bucks was observed for two consecutive hours, from 08:00 to 10:00 h during the first five days of the male exposure period. Trained observers followed bucks individually and recorded the following behaviors: ano-genital sniffing, nudging, mounting attempts, mounts (without and with ejaculation) and self-urination (Flores et al., 2000; Walkden-Brown and Bocquier, 2000). For the females, in addition to acceptance of the male during the daily observations up to day 5, the presence of estrous behavior

was checked twice daily from 15 to 30 March. To accomplish this, the bucks used for male exposure were permanently fitted with marking harnesses and does were inspected at 08:00 and 18:00 h for recording of new raddle marks (Radford et al., 1960; Walkden-Brown et al., 1993b).

### 2.3. *Statistical analyses*

Because the data consisted of frequencies of occurrence, non-parametric statistics were used (Siegel and Castellan, 1994). The total proportions of anovulatory females coming into estrus were compared using Fisher exact probabilities. Differences in the frequencies of male sexual behaviors recorded in each group were analyzed using  $\chi^2$  for goodness of fit or a Binomial test, depending on sample size and presence of low frequencies (Siegel and Castellan, 1994). The frequencies observed in each group were compared against the null hypothesis that behaviors would be equally distributed in the three groups, that is the expected frequency of a given behavior in any group would be one-third of the total observed frequency for this behavior. Also the frequencies of sexual behavior were compared between any two groups, using a Binomial test with a theoretical expected probability of 0.5 in each group.

## 3. Results

### 3.1. *Response of females to the male effect*

One female of the SA + E group showed health problems at the beginning of the study, therefore, data from this female were excluded from the analyses. The proportion of females that responded to the male effect by showing at least one behavioral estrus during the first 15 days following the introduction of the bucks was significantly greater in the SA + E group as compared with the SI or SI + E groups (18/19 versus 2/20 and 0/20, respectively; Fisher's exact  $P < 0.001$  in both cases). No significant difference was found between the latter two groups.

In the SA + E group, 15 of 19 does displayed estrous behavior within the first three days after male introduction and 3/19 did so 8 and 9 days later. The interval between the introduction of males and the first estrous behavior was  $3.0 \pm 0.6$  days (Fig. 1), while 13/18 females showed a second estrus between days 6 and 11 (short estrous cycle duration:  $5.4 \pm 0.4$  days). By contrast, in the SI group neither of the two goats that came in estrus 3 and 4 days after introduction of males showed a second estrous behavior within 15 days.

### 3.2. *Sexual behavior of bucks*

The frequency of manifestation of all sexual behaviors during the first five days following the introduction of the males differed significantly between groups. For all behaviors, the majority of them (80% or more; Fig. 2) was expressed in the SA + E group (489 ano-genital sniffing, 758 nudging, 14 mounting attempts, 16 mounts and 8 self-urination). This was significantly greater than a random distribution ( $P < 0.001$  in all cases,  $\chi^2$  or Binomial



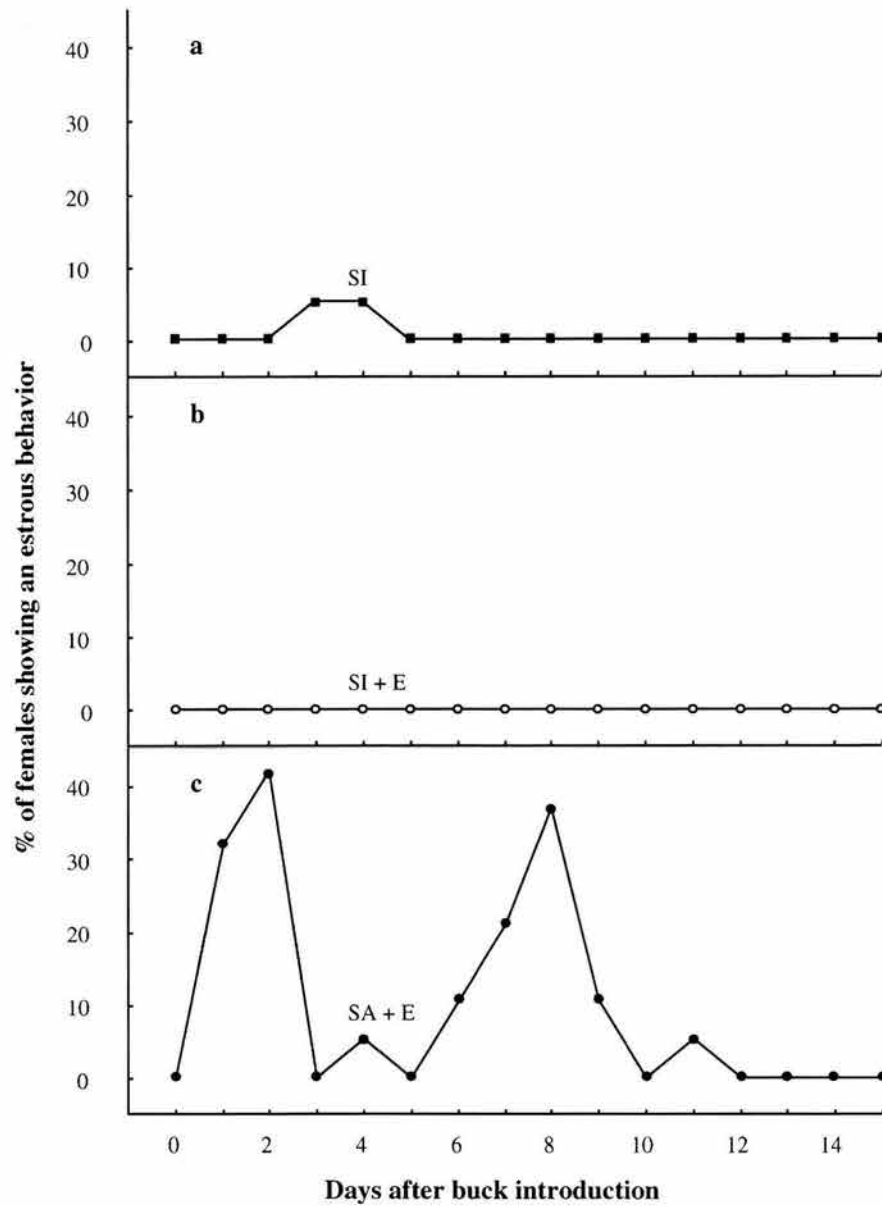


Fig. 1. Proportion of seasonally anovulatory goats responding to a male effect with estrous activity being displayed. Goats showed estrous behavior in a group of females that did not contain estrous females at the time of introduction of sexually inactive (SI) bucks (a); no goats showed estrous behavior in a group of females that contained estrous females at the time of introduction of sexually inactive (SI + E) bucks (b); goats showed estrous behavior in a group of females that contained estrous females at the time of introduction of sexually active (SA + E) bucks (c); day 0 is day of buck exposure.

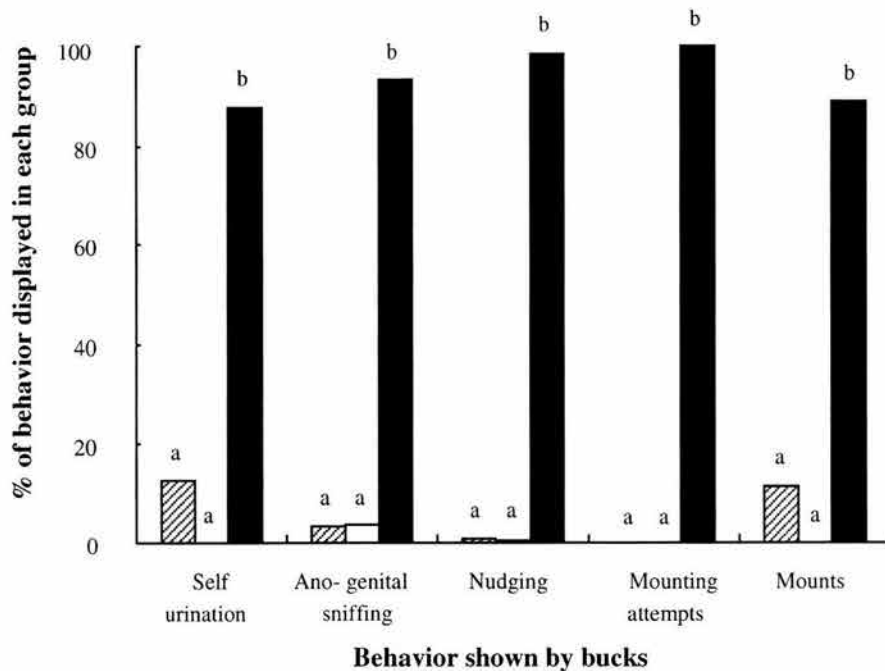


Fig. 2. Sexual behavior of bucks following their introduction in a group of anovulatory females. For each variable, results are expressed as the percentage of behavior displayed in each group, relative to the total number of behaviors observed in the three groups during the first five days after buck exposure and with 2 h of observation daily per group (9 self-urination, 526 ano-genital sniffing, 769 nudging, 14 mounting attempts, and 18 mounts, total number, respectively). Shaded bars: sexually inactive bucks introduced in a group of 20 anovulatory females (SI). Open bars: sexually inactive bucks introduced in a group of 20 anovulatory females also containing three estrous females (SI + E). Solid bars: sexually active males introduced in a group of 20 anovulatory females also containing four estrous females. For each variable, between groups values with different letters are significantly different (Binomial test,  $P < 0.05$ ).

test), and greater than in any of the two other groups (Binomial test,  $P < 0.001$ ), whereas no differences were found between SI and SI + E groups (Binomial test,  $P > 0.05$ ).

#### 4. Discussion

The results of the present study fail to support our initial hypothesis that the presence of estrous females in a group of anovulatory goats would facilitate their response to the male effect. Indeed, the presence of estrous-induced females did not result in a significant response in anovulatory lactating Creole goats to the male effect using sexually inactive males under to the natural photoperiod variations (SI): only two females of the SI group and none of the SI + E group showed estrous behavior. On the contrary, the females in contact with SA males displayed a clear activation of behavioral reproductive activity, indicating that the lack of response in the other two groups was not due to some inherent inability of these females



to respond to buck exposure with an induced ovulation and initiation of estrous cycles. However, a greater percentage (68%) of females of the SA + E group initiated estrous cycles of short duration as compared with the other groups. This physiological response is similar to the estrous cycle duration reported by others in sheep and goats (Walkden-Brown et al., 1993a,b; Chemineau et al., 1993). The mechanisms of early luteolysis are probably due to the early regression of corpora lutea induced by the male effect in anoestrous females. However, it appears that the “quality” of preovulatory follicles could be one of the major factors regulating the length of induced estrous cycles (Chemineau et al., 1993; Lassoued, 1998).

Concerning the behavior of the males, the non-treated bucks showed lesser amounts of sexual behavior when introduced with the females, and the presence of receptive goats in the group had no effect in this respect. This is in agreement with the premise that exposure to estrous females does not result in immediate stimulation of LH and testosterone secretion and sexual behavior in bucks outside of the breeding season (Walkden-Brown et al., 1994). Bucks submitted to photoperiod plus melatonin treatment did, however, have greater sexual behavior. This is consistent with the results of previous studies using similar photoperiodic treatments to induce out of season reproductive activity in bucks (Delgadillo et al., 2001a; Flores et al., 2000). The results from the present study are not consistent with those of Rosa et al. (2000) in sheep and of Restall et al. (1995) and Álvarez-Ramírez et al. (1999) in goats. Contrary to these earlier findings, we found no evidence that the presence of estrous females in the group facilitated, either directly or indirectly, the sexual behavior of the bucks, or the activation of the reproductive activity of anovulatory does.

Several factors may account for these differences. The time of the non-breeding season at which buck exposure is performed (Restall, 1992; Mellado and Hernandez, 1996), the fact that females were lactating as well as in seasonal anestrus in previous studies (McNeilly, 1994; Flores et al., 2000), and the level of nutrition before male exposure (Wright et al., 1990), are known to influence the response of the females to ME, both in sheep and goats. Some of these factors may have influenced the ability of the females to respond to bucks by initiating ovulatory cycles in the present experiment, and explain that no effect was observed when seasonally anovulatory goats were exposed to sexually inactive bucks during non-breeding season, even in the presence of estrous females. However, and regardless of the possible contribution of these factors to the absence of response in the SI and SI+E groups, it remains that females of the SA + E group responded to buck exposure (95%), despite the fact that all females were from the same flock and management conditions. This indicates (a) that females were able to respond if adequately stimulated by bucks and (b) that the difference of response between treatments cannot be attributed to pre-experimental differences between the groups of females. The response of anovulatory females exposed to SA males was not studied in the present study. Nevertheless, it is known from previous experiments conducted under similar conditions (Flores et al., 2000; Delgadillo et al., 2001b), that such females are fully able to respond to SA males (93%), even in the absence of estrous females in the group at the time of buck exposure. Therefore, it appears that the photoperiodic + melatonin treatments applied to the males prior to their introduction was a key element of successful induction of onset of estrous cycles in seasonally anovulatory and lactating goats. At these times, females did not respond to sexually inactive males. One clear effect of the treatment was to induce a great amount of sexual activity in the bucks, all components of sexual behavior being significantly greater as compared with the two other groups, and male sexual

behavior is known to be one of the factors that induces ovarian activity in anestrus ewes and goats (Cohen-Tannoudji et al., 1986; Flores et al., 2000). Therefore, this is certainly one of the ways by which treatment of the males induces the response in the females. In addition, this treatment also activates the physiological events normally occurring during the breeding season in the male (Lincoln, 1998; Delgadillo et al., 2001a). In turn, this probably results in an increase in the production of olfactory signals by the male, which are also known to have a role in the male effect, even though they only induce ovulation in about 40% of females versus 95% when a buck is used (Walkden-Brown et al., 1993a). At this stage, however, it is not clear whether male sexual behavior by itself is a sufficient stimulus to induce the response in the conditions of the present study, or if the combination of behavior and olfactory signals is needed to obtain response.

## 5. Conclusion

We can conclude from results of the present study and those of Flores et al. (2000) that a photoperiodic treatment of long days and melatonin is effective in ensuring the success of the male effect in seasonally anestrus females.

## Acknowledgements

We thank Crescencio Sandoval and Demetrio Merlín for providing the females goats for this study; all members of the Centro de Investigación en Reproducción Caprina from the Antonio Narro University for their technical assistance; Dolores López and Esther Peña for their excellent secretarial assistance, Sonia López for kindly logistic assistance; Graciela Viera, Guadalupe Bugarín, Lorena Ríos and David Villarreal for their administrative assistance.

## References

- Álvarez-Ramírez, L., Ducoing-Watty, A.E., Zarco-Quintero, L.A., Trujillo-García, A.M., 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. Méx.* 30, 25–31.
- Bouillon, J., Lajous, A., Fourcaud, P., 1982. Mise en évidence d'un effet chèvres induites, comparable à l'effet bouc chez les caprins. 7èmes. J. Rech. Ov. et Cap., INRA-ITOVIC-SPEOC, Paris, 1–2 December, 325–333.
- Chemineau, P., 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats: a review. *Livest. Prod. Sci.* 17, 135–147.
- Chemineau, P., Daveau, A., Locatelli, A., Maurice, F., 1993. Ram-induced short luteal phases: effects of hysterectomy and cellular composition of the corpus luteum. *Reprod. Nutr. Dev.* 33, 253–261.
- Cohen-Tannoudji, J., Locatelli, A., Signoret, J.P., 1986. Non-pheromonal stimulation by the male of LH release in the anoestrous ewe. *Physiol. Behav.* 36, 921–924.
- 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., Carrillo, E., Morán, J., Duarte, G., Chemineau, P., Malpaux, B., 2001a. Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *J. Anim. Sci.* 79, 2245–2252.
- Delgadillo, J.A., Véliz, F.G., Moreno, S., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P., Malpaux, B., 2001b. Inducción de la actividad sexual de las cabras anovulatorias mediante el efecto macho, utilizando machos cabríos tratados con días largos artificiales y días cortos naturales. In: II Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Ruminantes y Camélidos Sudamericanos y XI Congreso Nacional de Producción Ovina. Mérida, Yucatán, México, 22–25 May.
- Flores, J.A., Véliz, F.G., Pérez-Villanueva, J.A., Martínez de la Escalera, G., Chemineau, P., Poindron, P., Malpaux, B., Delgadillo, J.A., 2000. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol. Reprod.* 62, 1409–1414.
- Gerlach, T., Aurich, J.E., 2000. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 197–213.
- Leboeuf, B., Manfredi, E., Boue, P., Piacère, A., Brice, G., Baril, G., Broqua, C., Humblot, P., Terqui, M., 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest. Prod. Sci.* 55, 193–203.
- Lincoln, G.A., 1998. Reproductive seasonality and maturation throughout the complete life-cycle in the mouflon ram (*Ovis musimon*). *Anim. Reprod. Sci.* 53, 87–105.
- Lassoued, N.G., 1998. Induction de l'ovulation par effet belier chez les brebis de race Barbarine en anoestrus saisonnier. PhD Thesis, Université de Tunis II, Tunis, 190 pp.
- Malpaux, B., 1999. The neuroendocrine control of seasonal rhythms. In: Conn, P.M., Freeman, M.E. (Eds.), *Neuroendocrinology and Physiology and Medicine*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 435–452.
- McNeilly, A.S., 1994. Suckling and the control of gonadotropin secretion. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York, pp. 1179–1212.
- Mellado, M., Hernandez, J.R., 1996. Ability of androgenized goat wethers and does to induce estrus in goats under extensive conditions during anestrus and breeding seasons. *Small Rumin. Res.* 23, 37–42.
- Pearce, G.P., Oldham, C.M., 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 84, 333–339.
- 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., Ravault, 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.
- Radford, H.M., Watson, R.H., Wood, G.F., 1960. A crayon and associated harness for the detection of mating under field conditions. *Aust. Vet. J.* 36, 57–66.
- Restall, B.J., 1992. Seasonal variations in reproductive activity in Australian goats. *Anim. Reprod. Sci.* 27, 305–318.
- 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.
- Rosa, H.J.D., Juniper, D.T., Bryant, M.J., 2000. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 67, 293–305.
- Shelton, M., 1960. The influence of the presence of the male goat on the initiation of oestrous and ovulation in Angora does. *J. Anim. Sci.* 19, 368–375.
- Siegel, S., Castellán, N.J., 1994. *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. Trillas, México, 437 pp.
- Signoret, J.P., 1990. The influence of the ram effect on the breeding activity of ewes and its underlying physiology. In: Oldham, C.M., Martin, G.B., Purvis I.W. (Eds.), *Reproductive Physiology of Merino Sheep: Concepts and Consequences*. University of Western Australia, Perth, pp. 59–70.
- Terqui, M., Thimonier, J., 1974. Nouvelle méthode radio-immunologique rapide pour l'estimation du niveau de progesterone plasmatique. Application pour le diagnostic précoce de la gestation chez la brebis et la chèvre. *CR Acad. Sci. Paris*. D279, 1109–1112.
- Underwood, E.J., Shier, F.L., 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.

- Walkden-Brown, S.W., Bocquier, F., 2000. Nutritional regulation of reproduction in goats. In: Proceedings of the Seventh International Conference on Goats, Tours, France, 15–21 May, 389–395.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Henniawati., 1993a. The male effect in the Australian cashmere goat. 2. Role of olfactory cues from the male. *Anim. Reprod. Sci.* 32, 55–67.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Henniawati., 1993b. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Anim. Reprod. Sci.* 32, 69–84.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, R.J., 1994. The “female effect” in Australian cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrous does. *J. Reprod. Fertil.* 100, 521–531.
- Walkden-Brown, S.W., Martin, G.B., Restall, B.J., 1999. Role of male–female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 52, 243–257.
- Wright, P.J., Geytenbeek, P.E., Clarke, I.J., 1990. The influence of nutrient status of post-partum ewes on ovarian cyclicity and on the oestrous and ovulatory responses to ram introduction. *Anim. Reprod. Sci.* 23, 293–303.
- Zarco, L., Rodríguez, E.F., Angulo, M.R.B., Valencia, J., 1995. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 39, 251–258.

**La presencia del macho en un grupo de cabras anéstricas no impide su respuesta estral a la introducción de un nuevo macho**

**Previous segregation between sexes is not a requisite to succesful male effect in anestrus goats**

Francisco Gerardo Véliz Deras<sup>\*,\*\*</sup>  
Leonardo Iván Vélez Monroy,  
José Alfredo Flores Cabrera,  
Gerardo Duarte Moreno,  
Pascal Poindron Massot,  
Benoît Malpau,  
José Alberto Delgadillo Sánchez

---

**Abstract**

This study was performed to determine whether previous separation between sexes is necessary to stimulate the sexual activity of anestrus female goats by the male effect. Fifty Creole female goats from subtropical Mexico (26°23' N and 104°47' W) in permanent contact with two male goats from December were used. On March 15th, does were allocated in two groups (n = 25 each, one male per group). On March 16th, the males in contact with females were removed, and immediately, one group of does was put in contact with another three bucks in rest season, while the other group was exposed to three bucks previously treated with 2.5 months of long days to stimulate their sexual activity. The frequency of self urination, ano-genital sniffing, nudging, mounting attempts and mounts of the males during the first five days following their introduction was lower in control than in treated males (P < 0.05). In the first 10 days, more than 95% of females in contact with control and treated bucks showed at least one estrus behavior (P > 0.05). These results indicate that the previous isolation of the two sexes is not necessary to stimulate the sexual activity of the anestrus female goats by the male effect, at least when the anestrus condition of the females is moderately expressed.

**Key words:** GOATS, MALE EFFECT, PREVIOUS ISOLATION, SEXUAL BEHAVIOR, ESTRUS INDUCTION, SUBTROPICS.

**Resumen**

Este estudio se efectuó para determinar si la separación previa de los dos sexos es necesaria para estimular la actividad sexual de las cabras anéstricas mediante el efecto macho. Se utilizaron 50 hembras Criollas del subtrópico mexicano (26°23' N y 104°47' O), que estuvieron en contacto permanente con dos machos cabríos desde diciembre. El 15 de marzo se formaron dos grupos (n = 25 cada uno, un macho por grupo). El 16 de marzo los dos machos fueron retirados e inmediatamente un grupo de cabras fue puesto en contacto con otros tres machos en reposo sexual, mientras que el otro fue expuesto a tres machos tratados con 2.5 meses de días largos para estimular su actividad sexual. Las frecuencias de automarcajes con orina, olfateos ano-genitales, aproximaciones, intentos de montas y montas de los machos testigo durante los primeros cinco días después de su introducción, fueron inferiores que las de

---

Recibido para su publicación el 23 de mayo de 2003 y aceptado el 21 de octubre 2003.

\* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F

\*\* Physiologie de la Reproduction et des, UMR 6173 INRA-CNRS- Université de Tours, 37380, Francia Nouzilly.

Responsable para correspondencia y envío de sobretiros: José Alberto Delgadillo Sánchez, CIRCA, Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Periférico y Carretera a Santa Fe, A.P. 940, Torreón, Coahuila, México. Teléfono y Fax: 52 871 733 12 10. E mail: joaldesa@yahoo.com



los tratados ( $P < 0.05$ ). En los primeros diez días de estimulación, más de 95% de las hembras en contacto con los machos testigo y tratados, mostraron al menos un estro ( $P > 0.05$ ). Estos resultados indican que la separación previa de los dos sexos no es necesaria para estimular la actividad sexual de las cabras sometidas al efecto macho, al menos cuando el anestro es moderado.

**Palabras clave:** CABRAS, EFECTO MACHO, PREVIO AISLAMIENTO, COMPORTAMIENTO SEXUAL, INDUCCIÓN DEL ESTRO, SUBTRÓPICO.

## Introduction

In anovulatory female sheep and goats, sexual activity can be induced by the male effect.<sup>1-3</sup> The intensity of libido in males influences the response of females.<sup>4</sup> In local goats of the Comarca Lagunera region in subtropical northern Mexico (26°23' North latitude and 104° 47' West longitude), more than 80% of females show at least one behavioral estrus during the first 12 days following the introduction of bucks which sexual activity has been induced by exposure to 2.5 months of long days, followed or not by the insertion of subcutaneous melatonin implants.<sup>1</sup> In contrast, less than 10% of goats exposed to control bucks in sexual rest, show estrus in this same period.<sup>5-7</sup> The sexual motivation in Cashmere goats in Australia is stimulated during the annual period of sexual rest by high quality feeding. Such males stimulate the sexual activity of a larger number of anovulatory females through the male effect than bucks in sexual rest.<sup>8</sup> The separation between males and females (odor, sound, sight and tactile stimulation) before the male effect is considered indispensable to obtain a good stimulation of sexual activity in the females.<sup>1,9,10</sup> However, in ewes maintained in permanent contact with rams, the introduction of other males induces ovulation in the females (85%), as it does in ewes which had been previously totally separated from rams (86%).<sup>11</sup> This and other studies carried out in sheep,<sup>12,13</sup> suggest that, at least in some breeds of this species, the preliminary separation of sexes is not an absolute requisite for the male effect.<sup>12,11</sup> In goats also, it has been suggested that sexual separation for at least three weeks is necessary to obtain a response to the introduction of bucks.<sup>3,10</sup> However, in goats there is no study that demonstrates that anovulatory females require a preliminary separation from bucks to respond to their introduction. Therefore the objective of the present study was to determine whether a complete isolation from males before the male effect is necessary for their stimulation by the buck, or if this response depends on the libido intensity of the males introduced in the group of females.

## Introducción

La actividad sexual de las cabras y ovejas anéstricas puede ser inducida a través del efecto macho.<sup>1-3</sup> La intensidad de la libido de los machos influye en la respuesta de las hembras.<sup>4</sup> En las cabras locales de la Comarca Lagunera (latitud, 26°23' N y longitud, 104° 47' O), en el norte subtropical de México, más de 80% muestran al menos un comportamiento estral durante los primeros 12 días después de la introducción de los machos, cuya actividad sexual es inducida con 2.5 meses de días largos, seguidos o no de la inserción subcutánea de dos implantes de melatonina.<sup>1</sup> En cambio, menos de 10% de las cabras expuestas a machos testigo, en reposo sexual, muestran estro en ese mismo periodo.<sup>5-7</sup> La libido de los machos Cashmere en Australia es estimulada durante el periodo de reposo sexual al ofrecerles una dieta alimentaria de buena calidad. Estos machos estimulan la actividad ovulatoria de un mayor número de cabras anovulatorias expuestas al efecto macho que los machos en reposo sexual.<sup>8</sup> La separación (olor, sonido, vista, tacto) de los dos sexos previa al efecto macho, se considera indispensable para obtener una buena estimulación de la actividad sexual de las hembras.<sup>1,9,10</sup> Sin embargo, en las ovejas mantenidas en contacto permanente con carneros, la introducción de otros machos estimula la ovulación de las hembras (85%) al igual que en aquellas sometidas a una previa separación (86%).<sup>11</sup> Este último estudio y otros efectuados en las ovejas,<sup>12,13</sup> sugieren que al menos en algunas razas de la especie ovina, la separación de los dos sexos no es necesaria antes del efecto macho.<sup>12,11</sup> En las cabras también se sugirió la necesidad de separar los dos sexos, de por lo menos tres semanas antes del efecto macho.<sup>3,10</sup> Sin embargo, en las cabras no existe ningún estudio que demuestre si las hembras anovulatorias requieren un previo aislamiento para responder a la introducción de otros machos. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar si es necesaria la completa separación de los dos sexos para estimular la actividad sexual de las cabras sometidas al efecto macho, o si esta respuesta

## Material and methods

### Inductive males

Nine local males from the Comarca Lagunera in Coahuila were used, which are known as Mexican creole goats or "Criollos". The Comarca Lagunera is located in subtropical Mexico (26°23' N; 104°47' W). The males were 4 years old at the beginning of the study and belonged to the Research Centre for Goat Reproduction (CIRCA) of the Autonomous Agrarian University Antonio Narro. The reproductive characteristics of males submitted to natural photoperiodic variation in the Comarca Lagunera have been described previously.<sup>15</sup> On November 1<sup>st</sup> 2000, these males were divided into two homogeneous groups, according to their body and testicular weights. Both groups were maintained in 5 × 7 m open pens. One control group, in sexual rest (n = 4), was submitted to the natural variations of the Comarca Lagunera photoperiod (13h 41m of light at the summer solstice and 10h 19 m at the winter solstice). The treated group, sexually active (n = 5), was submitted to long days (16h light, 8 h dark), from November 1<sup>st</sup> 2000 to January 15<sup>th</sup> 2001. To this end the corral of the treated group was illuminated with lights providing a luminous intensity of 250 to 350 lx at the level of the animals' eyes. Turning on and off of the lights was controlled automatically by programmable automatic clocks. Long days were obtained by the combination of artificial and natural light. The lights were turned on from 6 to 10 a.m. and 17 to 22 p.m. On January 16<sup>th</sup>, the light treatment was stopped and the males were exposed only to the natural photoperiodic variations until the end of the study. This treatment stimulates the secretion of testosterone and the sexual behavior of males during the normal period of sexual rest.<sup>16</sup> Animals were fed with alfalfa hay *ad libitum* and 300 g of commercial concentrate (14% crude protein, 2.5 M kcal/kg) per day and per animal. Water and minerals were also *ad libitum*.

### Females

Seventy-six adult and multiparous local Creole goats were used in this study. They had given birth in November and December 2000. All the females were identified with a plastic cartag in the left ear. The kids were weaned at day 30 of lactation and the goats were hand-milked once a day until the end of the study. These females were kept in permanent contact with two adult bucks during three months, starting on December 15<sup>th</sup> 2000. The males were fitted with an apron to prevent the fecundation of the females. The animals of both sexes were kept under extensive management before the beginning of the study. On Febru-

depende de la intensidad de la libido de los machos introducidos en los grupos de hembras.

## Material y métodos

### Machos cabríos inductores

Se utilizaron nueve machos cabríos, Criollos, locales de la Comarca Lagunera de Coahuila, México. Esta Comarca se localiza en el subtrópico mexicano (latitud, 26°23' N y longitud, 104°47' O). Los machos tenían cuatro años de edad al inicio del estudio, pertenecían al Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro de ese estado. Las características reproductivas de los machos sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo de la Comarca Lagunera se describieron previamente.<sup>15</sup> El 1 de noviembre de 2000 se formaron dos grupos homogéneos con estos machos, de acuerdo con su peso corporal y testicular. Los dos grupos se mantuvieron estabulados en instalaciones abiertas de 5 × 7 m. Un grupo testigo, en reposo sexual (n = 4), se sometió a las variaciones naturales del fotoperiodo de la Comarca Lagunera (13 h 41 min de luz durante el solsticio de verano y 10 h 19 min en el solsticio de invierno); el grupo tratado, sexualmente activo (n = 5), se sometió a días largos (16 h luz y 8 h de oscuridad) del 1 de noviembre de 2000 al 15 de enero de 2001. Para esto, el corral del grupo tratado fue equipado con cuatro lámparas fluorescentes con una intensidad luminosa entre 250 y 350 lx al nivel de los ojos de los animales. El encendido y apagado de las lámparas se efectuó con relojes automáticos y programables. Los días largos se lograron combinando la luz artificial y natural. Las lámparas se encendían de seis a diez de la mañana y de 17 a 22 h. El 16 de enero se suspendió el tratamiento fotoperiódico y los machos fueron expuestos únicamente a las variaciones naturales del fotoperiodo hasta el fin del estudio. Este tratamiento estimula la secreción de testosterona y el comportamiento sexual de los machos durante el período natural de reposo.<sup>16</sup> Los animales se alimentaron con heno de alfalfa a libre acceso y 300 g de concentrado comercial (14% de proteína cruda, 2.5 M kcal/kg) por día y por animal. El agua y los minerales se proporcionaron también a libre acceso.

### Cabras

Se utilizaron 76 cabras locales adultas multiparas, Criollas, que parieron de noviembre a diciembre de 2000. Todas fueron identificadas con un arete de plástico en la oreja izquierda. Las crías fueron des-

<sup>15</sup>Digital Timer, U.S.A

ary 23<sup>rd</sup> 2001, the females were placed in a 15 × 20 m pen, together with the 2 males, where they were fed with alfalfa hay ad libitum and 200 g of commercial concentrate (14% of crude protein, 2.5 Mkal/kg) per day and per animal. Animals had also free access to water and minerals. On February 24<sup>th</sup> and March 5<sup>th</sup>, blood samples were taken from each female to determine the plasma levels of progesterone by RIA, using the technique described by Terqui and Thimonier,<sup>16</sup> that allows to discriminate between cyclic and non cyclic females. Twenty-six females were diagnosed as cyclic and excluded from the experiment on March 15<sup>th</sup>. Immediately after, the remaining females were divided into two anovulatory groups balanced by body weight, body condition and milk production, with one of the two bucks previously kept with them in each group. Each group was placed in a 10 × 5 m pen, separated from each other by more than 120 meters, to prevent any interference between groups.<sup>8,17</sup>

### **Male effect**

On March 16<sup>th</sup>, at 8:00 in the morning (day 0), the two bucks in sexual rest that had been kept with the females, were removed. Immediately after, three control bucks in sexual rest were introduced in one group of females (n=25). In the other group, three treated, sexually active bucks were put in contact with the females (n = 25). The males remained with the females for 36 days.

### **Evaluated variables**

The individual sexual activity of the inductive bucks was studied during the first 5 days following their introduction to the females. The observations were carried out in the morning (from 8:00 to 10:00), before the daily feeding. The variables recorded for male sexual behavior were frequencies of self marking with urine, ano-genital nasal inspection, approaching, mounting attempts and mounts.<sup>5,18,19</sup>

In the females, estrus detection was carried out in the morning (from 8:00 to 10:00) and in the afternoon (from 17:00 to 19:00), from day 0 to day 36 following the introduction of the bucks. To this end the bucks were fitted with a marking harness of a different color for each male.<sup>8,20</sup> During the observations of sexual behavior, females which stood immobile when mounted by a buck were considered in estrus.<sup>21</sup> From day 6 to 36, females with a colored wax mark on the rump were observed to verify whether they accepted the mount by the buck and could be considered in estrus. If a females did not accept being mounted at that time, she was not considered to be in estrus. The percentage of pregnant females was

tetadas a los 30 días posparto, y las cabras fueron ordeñadas manualmente una vez por día, hasta el final del estudio. Estas hembras estuvieron en contacto permanente con dos machos adultos durante tres meses a partir del 15 de diciembre de 2000. Los machos portaban un peto para impedir que efectuaran montas con penetración. Las hembras y los machos eran explotados de manera extensiva antes de empezar el estudio. El 23 de febrero de 2001, las cabras se estabularon en un corral de 15 × 20 m junto con los dos machos, y fueron alimentadas con heno de alfalfa a libre acceso y 200 g de concentrado comercial (14% de proteína cruda, 2.5 Mkal/kg) por día y por animal. El agua y los minerales se proporcionaron a libre acceso. El 24 de febrero y 5 de marzo se obtuvieron muestras sanguíneas para determinar los niveles plasmáticos de progesterona por RIA mediante la técnica descrita por Terqui y Thimonier.<sup>16</sup> Este procedimiento permite distinguir las hembras anovulatorias y las cíclicas. Se detectaron 26 cabras con actividad ovárica, por lo que fueron retiradas del experimento el 15 de marzo. Inmediatamente después se formaron dos grupos homogéneos con las hembras anovulatorias, de acuerdo con el peso corporal, condición corporal y producción láctea. A cada uno de los grupos de hembras se agregó uno de los machos que se encontraban previamente con ellas. Cada grupo de cabras fue alojado en un corral de 10 × 5 m a una distancia mayor de 120 m entre corrales, para evitar cualquier interferencia entre los grupos.<sup>8,17</sup>

### **Efecto macho**

El 16 de marzo de 2001 a las ocho de la mañana (día 0), se retiraron los dos machos en reposo sexual que se encontraban en contacto con las hembras. Inmediatamente después, un grupo de hembras (n = 25) fue puesto en contacto con tres machos testigo, en reposo sexual. El otro grupo de hembras (n = 25) se contactó con tres machos tratados, sexualmente activos. Los machos permanecieron con las hembras 36 días.

### **Variables evaluadas**

Durante los primeros cinco días después de haber puesto los machos en contacto con las hembras, se registró la actividad sexual de cada uno de ellos. Las observaciones se realizaron en la mañana (de 8 a 10 h) antes de proporcionarles el alimento. Como variables del comportamiento sexual se registraron las frecuencias de automarcajes con orina, olfateos ano-genitales, aproximaciones, intentos de montas y montas.<sup>5,18,19</sup>



determined by abdominal echography 50 days after the last registered estrus. In addition, fertility and prolificity were determined in both groups.

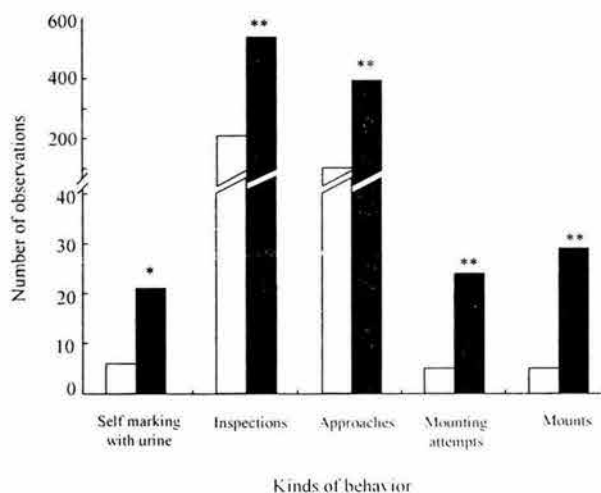
### Statistical analyses

To compare the sexual behavior of the bucks in the two groups, the total frequency of each variable for each group was calculated. The frequencies of self marking with urine, ano-genital nasal inspections, approaches, mounting attempts and mounts, were compared using the Chi-square test. The proportions of females which showed estrus activity in each group, of females diagnosed pregnant, as well as fertility, were compared using the exact probability test of Fisher. The interval between the introduction of the bucks and the beginning of the estrus, the duration of the estrous cycle and the prolificity, were compared with a Student t test. All the statistical analyses were carried out with the Systat 5.03\* program.

## Results

### Sexual behavior of the bucks

The sexual behavior recorded in the control bucks was lower than that of the treated males (Figure 1). In total, 27 self marking with urine were observed, of which only 6 (22%) were performed by the control bucks ( $P < 0.05$ ). Amongst the 746 anogenital nasal inspections, only 210 (28%) were performed by the control bucks ( $P < 0.001$ ). One hundred and one approaches out of 495 (20%), were performed in the control group by the bucks in sexual rest ( $P < 0.001$ ). Similarly, only 5 out of 29 mounting attempts (17%) were done by the males in sexual rest ( $P < 0.001$ ). Finally, 5/34 mounts (15%) were performed by the males of the control group ( $P < 0.01$ ).



En las hembras se detectó el estro en la mañana (de 8 a 10 h) y en la tarde (de 17 a 19 h) desde el día 0 hasta el día 36 posintroducción de los machos. Para ello, los machos fueron provistos de un arnés con un marcador de cera de diferentes colores.<sup>8,20</sup> Durante las observaciones del comportamiento sexual, las hembras que se inmovilizaban al ser montadas por los machos, fueron consideradas en estro.<sup>21</sup> Del día 6 al 36, las hembras con marcas de cera en la parte pélvica se observaron para verificar si aceptaban la monta del macho y ser consideradas en estro. Si la hembra no aceptaba la monta, no se consideraba en estro. El porcentaje de hembras gestantes se determinó mediante una ecografía abdominal a los 50 días después de la presentación del último comportamiento estral. También se determinó la fertilidad y la prolificidad de las cabras de los dos grupos.

### Análisis de datos

Para comparar el comportamiento sexual de los machos tratados y no tratados, se calculó la frecuencia total de cada variable para cada grupo. Las frecuencias de automarcajes con orina, olfateos anogenitales, aproximaciones, los intentos de montas y las montas, se compararon mediante la prueba de Ji-cuadrada. Las proporciones de hembras que manifestaron actividad estral en los grupos, las proporciones de hembras detectadas gestantes y la fertilidad se compararon mediante una prueba exacta de probabilidades de Fisher. El intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro, la duración del ciclo estral, así como la prolificidad, se compararon mediante una prueba t de Student. Todos los análisis estadísticos se efectuaron mediante el paquete estadístico SYSTAT 5.03.\*

\* Evenston, ILL, USA, 1990-1992.

**Figura 1.** Número de conductas sexuales de los machos del grupo testigo (cuadros blancos;  $n = 3$ ) y tratado (cuadros negros;  $n = 3$ ), registrado durante dos horas en los primeros cinco días después de introducidos en los dos grupos de hembras. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

Number of observations of each sexual behavior in males of the control group (empty histograms,  $n = 3$ ) and in treated males (black histograms,  $n = 3$ ), recorded during 2 h in the first five days following their introduction in the two groups of females. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

## Response of the females to the male effect

### Estrus behavior

All the females exposed to the control bucks (25/25, 100%) and the majority of the females in contact with the treated bucks (24/25, 96%), showed at least one estrus behavior during the first ten days following the introduction of the new males ( $P > 0.05$ ; Figure 2). The interval between the introduction of the males and the beginning of the estrus activity was longer in females exposed to control bucks ( $2.3 \pm 0.2$  days) than in females exposed to treated bucks ( $1.8 \pm 0.1$  days;  $P < 0.01$ ). The accumulated percentage of females in estrus on days 1 and 2 after the introduction of the new bucks was higher in the treated group (40% and 80%) than in the control group (12% and 44% respectively,  $P < 0.01$ ). The proportion of estrous cycles of short duration did not differ significantly between groups (56% and 64% of goats in contact with control and treated bucks, respectively;  $P > 0.05$ ). The duration of the short cycles in females with control bucks and in females with treated bucks did not differ significantly ( $4.8 \pm 0.2$  days *versus*  $5.1 \pm 0.1$  days, respectively;  $P > 0.05$ ).

### Pregnancy at 50 days, fertility and prolificity

The number of pregnant goats at 50 days, the fertility and the prolificacy did not differ between the two groups ( $P > 0.05$ ). 88% (22/25) of the females exposed to control males were diagnosed pregnant. Eighty-six percent of these (19/22) gave birth, with a prolificacy of  $2.0 \pm 0.2$  kids. The 3 other females

## Resultados

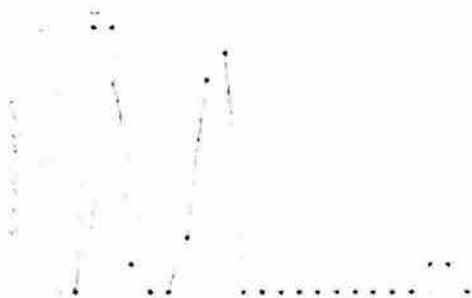
### Comportamiento sexual de los machos

El comportamiento sexual registrado en los machos testigo fue inferior al de los machos tratados (Figura 1). En total se observaron 27 automarcajes con orina, de los cuales únicamente seis (22%) fueron realizados por los machos del grupo testigo ( $P < 0.05$ ). De los 746 olfateos ano-genitales, sólo 210 (28%) fueron efectuados por los machos en reposo sexual ( $P < 0.001$ ). De las 495 aproximaciones registradas, 101 (20%) fueron realizadas por el grupo de machos testigo ( $P < 0.001$ ). De igual manera, de los 29 intentos de monta observados, sólo cinco (17%) fueron realizados por el grupo en reposo sexual ( $P < 0.001$ ). Finalmente, cinco de las 34 montas observadas (15%) fueron efectuadas por el grupo testigo ( $P < 0.01$ ).

### Respuesta de las hembras al efecto macho

#### Comportamiento estral

Todas las cabras expuestas a los machos testigos (25/25, 100%), y la mayoría de las hembras (24/25, 96%) en contacto con los machos tratados, mostraron al menos un comportamiento de estro durante los primeros diez días después de la introducción de los nuevos machos ( $P > 0.05$ ; Figura 2). El intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro fue más prolongado en las hembras expuestas a los machos testigo ( $2.3 \pm 0.2$  días) que a los tratados ( $1.8 \pm 0.1$  días;  $P < 0.01$ ). El porcentaje acumulado de hembras en estro los días uno y dos después de la



**Figura 2.** Porcentaje de hembras que presentaron una actividad estral después de la introducción de machos del grupo testigo (círculos abiertos) y del grupo tratado (círculos negros). D0 es el día de la introducción de los nuevos machos.  $**P < 0.01$

Percentage of females showing an estrous activity after the introduction of the males in the control group (open circles) and in the treated group (black circles). D0 is the day of introduction of the new bucks.  $**P < 0.01$

(14%) aborted in the second third of pregnancy. Eighty percent (20/25) of the goats exposed to males of the treated group were diagnosed pregnant, of which 85% (17/20) gave birth, with a prolificacy of  $1.8 \pm 0.2$  kids. The remaining 15% (3/20) aborted during the second third of pregnancy.

## Discussion

In the goat, a total separation between sexes before the male effect has been considered a crucial condition to stimulate the sexual activity of anovulatory females. However, in contrast with the results of others,<sup>3,6</sup> the results of the present study demonstrate that the lack of separation did not prevent the goats to show a good response to the introduction of new bucks, either sexually active or in sexual rest. In both groups of females, more than 95% of the goats responded, showing at least one estrus.

The response found in females exposed to treated bucks coincides with results reported by others.<sup>17</sup> On the other hand, the response of the females in contact with males in sexual rest was unexpected, given that it had been found previously that the sexual activity of females of this genotype could be stimulated only when using bucks exposed for two months to long days, followed or not by the insertion of two subcutaneous implants of 18 mg of melatonin each.<sup>17</sup> At least three non exclusive factors may account for this discrepancy:

- 1) It is likely that the continuous presence of the males in the two groups of females delayed the ending of the breeding season. If so, the females may have been anovulatory, but weakly inhibited. Indeed, Cashmere goats maintained in continuous presence of males extend their period of sexual activity, which ends later than in females isolated from males.

- 2) The introduction of the same males every month or two in a group of females, allows these females to extend the period of time during which they respond to the male.<sup>22</sup> In this case, the period of ovulatory activity of goats exposed intermittently to males is longer than that of fully isolated females or of females in permanent contact with males.<sup>17</sup> In the present study, the presence of the bucks may have extended the period during which the females respond to the introduction of other males, independently of their physiological condition.<sup>22</sup>

- 3) Although the sexual behavior of the males undergoing a photoperiodic treatment was higher than that of control males, these control males were sexually more active than the ones recorded in previous studies, in which control bucks did not stimulate any sexual activity in the females.<sup>17</sup> The males of the control group in the present study did more

introducción de los machos fue superior en el grupo tratado (40% y 80%) que en el grupo testigo (12% y 14%, respectivamente;  $P < 0.01$ ). La proporción de ciclos estrales de corta duración no se diferenció significativamente entre grupos (56% y 64% de hembras en contacto con machos testigo y tratados, respectivamente;  $P > 0.05$ ). La duración del ciclo estral corto no fue diferente en las hembras en contacto con machos del grupo testigo ( $4.8 \pm 0.2$  días) y tratados ( $5.1 \pm 0.1$  días;  $P > 0.05$ ).

## Gestación a los 50 días, fertilidad y prolificidad

El número de cabras gestantes a los 50 días, la fertilidad y prolificidad no fue diferente entre los dos grupos de hembras ( $P > 0.05$ ). El 88% (22/25) de las hembras expuestas a machos del grupo testigo fueron diagnosticadas gestantes. El 86% de ellas (19/22) parió y tuvo una prolificidad de  $2.0 \pm 0.2$  crías. El 14% (3/22) abortó en el segundo tercio de la gestación. El 80% (20/25) de las hembras expuestas a los machos del grupo tratado fueron diagnosticadas gestantes, de éstas 85% (17/20) de ellas parieron y la prolificidad fue de  $1.8 \pm 0.2$  crías. El 15% (3/20) abortó en el segundo tercio de la gestación.

## Discusión

La separación total de los dos sexos antes del efecto macho se ha considerado como condición indispensable para estimular la actividad sexual de las cabras. Sin embargo, contrariamente a lo registrado por algunos investigadores,<sup>3,6</sup> los resultados del presente estudio demuestran que la falta de separación no impidió a las cabras responder adecuadamente a la introducción de los nuevos machos, unos sexualmente activos y otros en reposo sexual. En los dos grupos de hembras, más de 95% de las cabras respondieron manifestando al menos un estrus.

La respuesta observada en las hembras expuestas a los machos tratados coincide con lo registrado por otros autores.<sup>17</sup> En cambio, la respuesta de las hembras en contacto con machos en reposo sexual fue inesperada, ya que anteriormente se había demostrado que la actividad sexual de las cabras de este genotipo era estimulada sólo utilizando machos sexualmente activos por ser tratados con 2.5 meses de días largos, seguidos o no de la inserción de dos implantes subcutáneos de melatonina con 18 mg cada uno.<sup>17</sup> La explicación de este fenómeno podría atribuirse al menos a tres factores que no son excluyentes:

- 1) Es probable que la presencia continua de los machos en los dos grupos de hembras haya retardado

than twice as many ano-genital nasal inspections and approaches ( $P < 0.01$ ) than control bucks of other experiments carried out in the same zone, with animals of the same genotype and at the same time of the year.<sup>27</sup>

This suggests that the end of the breeding season of Mexican Creole bucks like those used in the present study, varies between years and coincides with what has been reported in Alpine bucks.<sup>27</sup> Therefore it is possible that the sexual activity shown by the control bucks was the factor responsible for the sexual response of the females in this group. It has been reported that at some times of the year, females do not respond to the male effect.<sup>1,22</sup> This is not due to the insensitivity of the females to the presence of the males, but rather to the low stimulatory quality of the males, which are in sexual rest.<sup>21</sup> Since sexual activity initiates earlier in males than in females,<sup>1,22,23</sup> goats respond to the male effect a few weeks before the beginning of their annual reproductive cycle, probably because of the improvement of male sexual behavior and pheromone production at that time. Nevertheless, the differences between the two groups, regarding the latency of the response and the proportion of females which showed estrus in the first two days, indicate that sexually active males are more efficient to induce a response. This difference may have been due to the level of sexual activity shown by control and treated males. Indeed, the quality of the stimulus, determined by the intensity of the sexual behavior of males, influences the response of females. Males which show a higher libido induce sexual activity in a larger number of females.<sup>27</sup>

Finally, it is interesting to mention that in spite of the lower libido in the control than in the treated bucks, the results of fertility and prolificacy suggest that the spermatic production was similar, quantitatively and qualitatively, in the two groups of males. A reduction of the quantity of spermatozooids, and even more so of their progressive motility during the period of sexual rest, causes a reduction of fertility in the females.<sup>28</sup>

The results of the present study suggest that in March the control males had not yet reached sexual rest, that takes place normally between January and April.<sup>27</sup> The results obtained here allow to conclude that in the goats of the Comarca Lagunera in subtropical Mexico, the separation of sexes is not necessary to stimulate the reproductive activity in females with the male effect. It is possible that this positive response without previous separation, was due to the fact that the females, although anestrus, were only weakly inhibited. It would be important to determine if a similar response can be obtained in deeply inhibited anestrus females. This would allow defining more

el final de la estación sexual. En estas circunstancias, las cabras estarían anovulatorias, pero débilmente inhibidas. En efecto, las cabras de la raza Cashmere mantenidas en presencia continua de machos, prolongan su actividad ovulatoria, que termina después que en las hembras aisladas.

2) La introducción de los mismos machos cada mes o dos meses en un grupo de cabras, permite que éstas prolonguen el período que responden a la introducción de los machos.<sup>27</sup> En estas circunstancias, el período de actividad ovulatoria de las cabras expuestas intermitentemente a los machos es más prolongada que la observada en las hembras aisladas o mantenidas en contacto continuo con machos.<sup>22</sup> En el presente estudio, la presencia de los machos pudo haber prolongado el período en el cual las hembras responden a la introducción de otros machos, independientemente de su condición fisiológica.<sup>24</sup>

3) Aunque el comportamiento sexual de los machos sometidos al tratamiento fotoperiódico fue superior que el de los machos del grupo testigo, éstos tuvieron un comportamiento sexual más intenso que el registrado en estudios anteriores, en que los machos testigo no estimularon la actividad sexual de las cabras.<sup>27</sup> Los machos en el grupo testigo del presente estudio efectuaron más del doble de olfateos ano-genitales y aproximaciones que los registrados en machos testigo de otros experimentos ( $P < 0.01$ ) efectuados en la misma región, con animales del mismo genotipo y en la misma época del año.<sup>27</sup>

Esto último sugiere que el final de la actividad sexual de los machos Criollos del presente estudio varía de un año a otro, y coincide con lo descrito en machos cabríos de la raza Alpina.<sup>23</sup> Por consiguiente, es posible que el comportamiento sexual desplegado por los machos testigo fuese el factor responsable de la respuesta sexual del grupo de cabras al que fueron introducidos. Se ha mencionado que en algunas épocas del año, las hembras no responden al efecto macho.<sup>22</sup> Lo anterior no se debe a la insensibilidad de las hembras ante la presencia de los machos, sino a la débil calidad estimulatoria de éstos, que se encuentran en reposo sexual.<sup>27</sup> Como la actividad sexual de los machos cabríos inicia antes que el de las hembras,<sup>1,22,23</sup> éstas responden al efecto macho algunas semanas antes de iniciar el ciclo anual de reproducción, debido probablemente al mejoramiento del comportamiento sexual de los machos y al incremento de la producción de feromonas en este período. Sin embargo, las diferencias entre los dos grupos en cuanto a la latencia de respuesta de las hembras y a la proporción de hembras que mostraron estrus en los dos primeros días, indican que los machos sexualmente activos son más eficientes para



precisely the importance of previous sexual segregation for the success of the male effect in the goat.

## Acknowledgments

We are grateful to Crescencio Sandoval for providing the goats used in this study; to all the members of the Research Center for Goat Reproduction (CIRCA) of the Autonomous Agrarian University Antonio Narro, for their technical assistance; to Norma Serafin for the echographies; to Dolores Lopez for her excellent administrative and secretary help; to Conacyt for the PhD scholarship; to Francisco Gerardo Veliz; to the scientific cooperation program between Mexico (Conacyt, SEP, ANUIES) and France (ECOS), to have made possible the collaboration between the PRC of INRA and the CIRCA of the UAAAN (M02-M04).

## Referencias

1. Shelton, M. Influence of the presence of a male goat on the initiation of oestrous cycling and ovulation of Angora does. *J Anim Sci* 1960;19:368-375.
2. Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J Reprod Fertil Suppl* 1999;52: 243-257.
3. Álvarez L, Zarco LA. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet Méx* 2001;32:117-129.
4. Delgadillo JA, Flores JA, Veliz FG, Duarte G, Vielma J, Pointron P, et al. Control de la reproducción de los caprinos del subtropico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. Revisión. *Vet Méx* 2003;34:69-79.
5. Flores JA, Veliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Pointron P, et al. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol Reprod* 2000;62:1109-1111.
6. Delgadillo JA, Flores JA, Veliz FG, Hernández HE, Duarte G, Vielma J, et al. Induction of sexual activity of lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J Anim Sci* 2002;80:2780-2786.
7. Veliz FG, Moreno S, Duarte G, Vielma J, Chemineau P, Pointron P, et al. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not oestrous females. *Anim Reprod Sci* 2002;72:197-207.
8. Walkden-Brown SW, Restall BJ, Hemmawatt. The male effect in Australian cashmere goats. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1993;32:69-81.
9. Martin GB, Oldham CM, Cognie Y, Penco DL. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. A review. *Livest Prod Sci* 1986;15:219-247.

estimular la actividad sexual de las hembras. Esta diferencia pudo deberse al nivel de actividad sexual mostrado por los machos tratados y testigos. En efecto, la calidad del estímulo, determinada por la intensidad del comportamiento sexual de los machos, influye en la respuesta de las hembras. Los machos que muestran una mayor libido estimulan la actividad sexual de un mayor número de hembras.<sup>8,25</sup>

Finalmente, es interesante señalar que a pesar de que los machos testigo mostraron una libido inferior a la de los machos tratados, los resultados de fertilidad y prolificidad sugieren que la producción espermática fue similar cuantitativa y cualitativamente en los dos grupos de machos. Una reducción de la cantidad de espermatozoides por eyaculado, sobre todo de la motilidad progresiva de los espermatozoides durante el periodo de reposo sexual, provoca reducción de la fertilidad de las hembras.<sup>26</sup>

Los resultados del presente estudio sugieren que en marzo, los machos testigo no habían iniciado el periodo de reposo, que se desarrolla normalmente de enero a abril.<sup>13</sup> Los resultados concluyen que en las cabras de la Comarca Lagunera en el subtropico mexicano, la separación de los dos sexos no es necesaria para estimular la actividad reproductiva de las hembras al someterlas al efecto macho. Es posible que esa respuesta positiva, sin necesidad de una previa separación, se deba a que las hembras, aunque anéstricas, estaban débilmente inhibidas. Sería importante determinar si una respuesta similar a la del presente experimento se puede obtener en hembras en anestro, fuertemente inhibidas, lo cual permitiría definir en la especie caprina la importancia de la separación previa de los dos sexos antes del efecto macho.

## Agradecimientos

Se agradece a Crescencio Sandoval por proporcionar las cabras utilizadas en este estudio; a todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por su asistencia técnica; a Norma Serafin por haber efectuado las ecografías; a Dolores López por su excelente apoyo secretarial y administrativo; al Conacyt por la beca doctoral otorgada a Francisco Gerardo Veliz; al Programa de Cooperación Científica entre México (Conacyt, SEP, ANUIES) y Francia (ECOS) por hacer posible la colaboración entre la PRC del INRA y el CIRCA de la UAAAN

10. Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987;17:135-147.

11. Cushman WL, Bradford GE, Stabenfeldt GH, Berger VM, Dally MR. Ram influence on ovarian and sexual

- activity in anestrus ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *J Anim Sci* 1992;70:1195-1200.
12. Pearce GP, Oldham CM. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1988;84:333-339.
  13. Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC. Ovarian activity during sexual maturation and following introduction of the ram to ewe lambs. *Small Ruminant Res* 2002;43:37-44.
  14. Rosa HJD, Bryant MJ. The "ram effect" as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. A review. *Small Ruminant Res* 2002;45:1-16.
  15. Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpoux B. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 1999;52:727-737.
  16. Terqui M, Thimonier J. Nouvelle méthode radio-immunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application pour le diagnostic précoce de la gestation chez la brebis et la chèvre. *CR Acad Sc Paris* 1974;D279:1109-1112.
  17. Shelton, M. Goats: influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res* 1980;1:156-162.
  18. Gonzalez R, Poindron P, Signoret JP. Temporal variation in LH and testosterone responses of rams after the introduction of oestrous females during the breeding season. *J Reprod Fertil* 1988;83:201-208.
  19. Fabre-Nys C. Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. *INRA Prod Anim* 2000;13:11-23.
  20. Radford HM, Watson RH, Wood GF. A crayon and associated harness for the detection of mating under field conditions. *Austr Vet J* 1960;36:57-66.
  21. Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Ruminant Res* 1992;8:299-312.
  22. Restall BJ. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim Reprod Sci* 1992;27:305-318.
  23. Delgadillo JA, Lebouef B, Chemineau P. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology* 1991;36:755-768.
  24. Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ, Martin GB. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *J Reprod Fertil* 1994;102:351-360.
  25. Perkins A, Fitzgerald JA. The behavioral 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.
  26. Corteel JM. Variations de la motilité et de la fécondance des spermatozoïdes de bouc. *Ann Zootech* 1976;25:567-571.