

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**LA SECRECIÓN DE LH DE LAS CABRAS EXPUESTAS
INTERMITENTEMENTE A LOS MACHOS FOTO-ESTIMULADOS
INDUCE LA OVULACIÓN EN LAS CABRAS EN ANESTRO
ESTACIONAL**

POR:

GONZALO DOMÍNGUEZ ALVAREZ

TESIS:

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



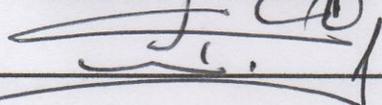
**LA SECRECIÓN DE LH DE LAS CABRAS EXPUESTAS
INTERMITENTEMENTE A LOS MACHOS FOTO-ESTIMULADOS
INDUCE LA OVULACIÓN EN LAS CABRAS EN ANESTRO
ESTACIONAL**

TESIS

POR:

GONZALO DOMÍNGUEZ ALVAREZ

ASESOR PRINCIPAL



DR. JOSÉ ALBERTO DELGADILLO SÁNCHEZ

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



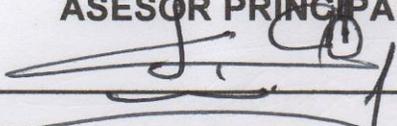
**LA SECRECIÓN DE LH DE LAS CABRAS EXPUESTAS
INTERMITENTEMENTE A LOS MACHOS FOTO-ESTIMULADOS INDUCE LA
OVULACIÓN EN LAS CABRAS EN ANESTRO ESTACIONAL**

TESIS

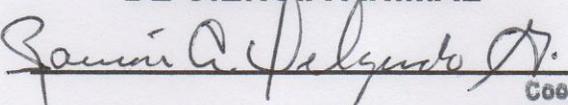
POR:

GONZALO DOMÍNGUEZ ALVAREZ

ASESOR PRINCIPAL


DR. JOSÉ ALBERTO DELGADILLO SÁNCHEZ

**COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**


M.C. RAMON ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TESIS

POR

GONZALO DOMÍNGUEZ ALVAREZ

PRESIDENTE DE JURADO

Dr. JOSÉ ALBERTO DELGADILLO SÁNCHEZ

VOCAL

Dr. Gerardo Duarte Moreno

VOCAL

Dr. Gonzalo Fitz Rodríguez

VOCAL SUPLENTE

Dr. José Alfredo Flores Cabrera

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2014

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**LA SECRECIÓN DE LH DE LAS CABRAS EXPUESTAS
INTERMITENTEMENTE A LOS MACHOS FOTO-ESTIMULADOS
INDUCE LA OVULACIÓN EN LAS CABRAS EN ANESTRO
ESTACIONAL**

POR:

GONZALO DOMÍNGUEZ ALVAREZ

Elaborado bajo la supervisión del comité particular de asesoría

ASESOR PRINCIPAL:

Dr. JOSÉ ALBERTO DELGADILLO SÁNCHEZ

ASESORES:

Dr. GERARDO DUARTE MORENO

Dr. GONZALO FITZ RODRÍGUEZ

Dr. JOSÉ ALFREDO FLORES CABRERA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2014

Dedicatorias

A mis Padres Gonzalo y Alicia por la confianza que han depositado en mí, por todo su apoyo incondicional y el gran esfuerzo que han realizado durante toda mi vida, por ellos ahora soy un profesionalista.

A mi hermana Aidé por su apoyo y amor incondicional.

A mis abuelos Jesús y Jovita por su gran amor, su paciencia y apoyo incondicional.

A mi tío Francisco por su gran apoyo y credibilidad en mí.

A mi mejor amiga Nidia “nena” que en gloria este, por brindarme su amor, su confianza y su inigualable amistad que pude disfrutar durante el tiempo que estuvo con nosotros.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por su bondad y su gran amor, por darme la guía para alcanzar una etapa más de mi vida y cumplir un sueño que desde pequeño creció en mí.

A mi ALMA TERRA la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por darme los conocimientos y formarme como un Médico Veterinario Zootecnista.

Al Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez y al Dr. Gonzalo Fitz Rodríguez por la oportunidad que me dieron de realizar mi trabajo de tesis, por el tiempo que me brindaron al estar siempre pendiente de mi trabajo, gracias a ellos culminé una meta más de vida.

A mis Maestros que durante la carrera me impartieron clase, por compartirme de sus conocimientos, experiencias y enseñarme a querer cada vez más mi carrera.

A mis amigos y compañeros por su apoyo y amistad.

Al Sr. Alejandro Sandoval por darme la oportunidad de trabajar con sus animales.

A todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

A la Lic. Dolores López por su excelente apoyo secretarial y administrativo.

Al Laboratorio de la Estación de Fisiología de la Reproducción y del Comportamiento del INRA de Nouzilly, Francia, por llevar a cabo las determinaciones hormonales.

A Marie Christine Aline Bedos por permitirme trabajar en sus experimentos.

El presente trabajo fue financiado por el “Programa de Cooperación CONACYT (México) - ANR (France) (159884: “El efecto macho en ungulados: reproducción aplicada y mecanismos neuroendocrinos) / ANR Blanche internationale France-Mexique (11-ISV7-001-01).

Índice

Dedicatorias	i
Agradecimientos	ii
Índice de figuras y tablas	v
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	3
2.1. Estacionalidad reproductiva.....	3
2.1.1 Machos.....	3
2.1.2 Tratamientos fotoperiódicos para los machos cabríos	4
2.1.3 Hembras.....	5
2.2 Relaciones socio sexuales.....	6
2.1.4.1. Efecto macho.....	6
2.1.4.2. Respuesta de las cabras al efecto macho	6
2.1.4.3. Factores que afectan la respuesta al efecto macho	6
2.1.4.4. Intensidad del comportamiento sexual del macho	7
2.1.4.5. Tiempo de contacto.....	10
III. Objetivo.....	12
IV. Hipótesis	12
V. Materiales y Métodos.....	13
5.1 Localización.....	13
5.2. Animales	14
5.2.1 Hembras.....	14

5.2.2 Machos.....	14
5.3. Efecto macho	15
5.4. Variables determinadas	16
5.4.1. Hormona Luteinizante (LH)	16
5.4.2. Determinación de la secreción de LH	16
5.4.3. Actividad Ovulatoria.....	17
5.5. Análisis estadísticos.....	17
VI. Resultados.....	19
6.1 Secreción de LH.....	19
6.2 Actividad Ovulatoria	20
VII. Discusión.....	22
VIII. Conclusión	25
IX. Bibliografía.....	26

Índice de figuras y tablas

Figura 1. Representación esquemática de las variables del comportamiento sexual de los machos cabríos al estar en contacto con las hembras. (Adaptada de Hart y Jones 1975; Price *et al.*, 1986; Fabre-Nys 2000).

..... 9

Figura 2. Perfiles individuales de las concentraciones plasmáticas de LH en cabras expuestas de manera intermitente (2/24 horas por día; arriba) o permanente (24/24 horas por día; abajo) a machos cabríos foto-estimulados.

..... 21

Tabla 1.- Frecuencia de pulsos de LH (promedio \pm el error estándar del promedio) y respuesta ovulatoria de las cabras expuestas a machos de manera intermitente (2horas/24 por día) o 24/24 horas por día permanente a machos sexualmente activos.

..... 20

Resumen

El presente experimento se realizó para determinar el perfil de secreción de LH y la actividad ovulatoria de las cabras expuestas de manera intermitente (2 horas/24) o permanente (24horas/24) durante 5 días a machos cabríos foto-estimulados. Los machos se sometieron a 2.5 meses de días largos artificiales a partir del 1 de noviembre. Posteriormente, ellos percibieron solamente el fotoperiodo natural. Este tratamiento estimula su actividad sexual en el periodo de reposo sexual (marzo-abril). Un grupo de cabras anéstricas (n=5) se puso en contacto durante 24 horas/día a los machos cabríos foto-estimulados. Otro grupo de cabras (n=6) se puso en contacto intermitentemente (2 horas/día) a los machos foto-estimulados. La pulsatilidad de la hormona luteinizante (LH) aumentó en los grupos después de la introducción de los machos ($P < 0.05$). En el grupo permanente, esta pulsatilidad permaneció elevada durante el estudio, en cambio, en el grupo intermitente, la pulsatilidad de LH disminuyó una vez que se retiró el macho ($P = 0.32$ y 0.05 , respectivamente) y permaneció baja hasta el día siguiente. No hubo diferencia en la proporción de cabras que ovularon en los grupos que permanecieron en contacto permanente o intermitente con los machos. Se concluye que los perfiles de secreción de la LH son diferentes en las cabras en contacto permanente o intermitente con los machos foto-estimulados, y que estos perfiles de secreción hormonal inducen la ovulación en las cabras en anestro estacional en ambos casos.

Palabras Clave: *Caprinos, gonadotropinas, fotoperiodo, anestro estacional, tiempo de contacto.*

I. Introducción

En las razas de caprinos y ovinos originarios de latitudes templadas, así como en algunas razas originarias o adaptadas a latitudes subtropicales, existe estacionalidad reproductiva, la cual es determinada principalmente por el fotoperiodo. La introducción de un macho en un grupo de hembras en anestro estacional puede inducir un incremento de los niveles plasmáticos de la hormona luteinizante (LH) y la ovulación en 72 horas después del primer contacto entre los dos sexos (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986; Martin *et al.*, 1986; Claus *et al.*, 1990; Vielma *et al.*, 2009). Esta estimulación sexual es conocida como “efecto macho” y ha sido descrita ampliamente en ovejas y cabras (Underwood *et al.*, 1944; Shelton, 1960; Martin *et al.*, 1986; Gelez *et al.*, 2004; Chemineau *et al.*, 2006; Delgadillo *et al.*, 2009). La secreción de la LH y la ovulación de las hembras expuestas al efecto macho puede ser influenciada por algunos factores como la intensidad del comportamiento sexual del macho y la duración del contacto entre machos y hembras, entre otros (Oldham y Pearce, 1983; Delgadillo *et al.*, 2006; 2009; Vielma *et al.*, 2009). Desde hace aproximadamente 30 años se sugirió que la presencia continua del macho era necesaria para maximizar la respuesta endocrina y ovulatoria de las hembras expuestas a los machos (Signoret y Lindsay, 1982; Oldham y Pearce, 1983). En efecto, en las ovejas se demostró que el contacto macho-hembra debe ser continuo (24 horas/día) y prolongado para inducir la ovulación en la mayoría de las hembras. De hecho, sólo 18 % de las ovejas ovularon cuando se expusieron a los machos durante 1 día, mientras que el

53 % y 61 % de las ovejas ovularon cuando se mantuvieron en contacto con los machos durante 4 y 13 días, respectivamente (Signoret *et al.*, 1982). La presencia continua del macho es necesaria para mantener la concentración de LH elevada y que ocurra la ovulación, dado que al retirarlo del grupo de hembras, la secreción de LH en éstas disminuye evitando la ovulación (Oldham y Pearce, 1983). Sin embargo, en las cabras se demostró recientemente que es posible disminuir la duración del contacto diario entre sexos, sin reducir la respuesta ovulatoria en éstas. En efecto, la mayoría (> 85 %) de las cabras ovularon cuando se expusieron a los machos cabríos foto-estimulados, sexualmente activos, por 4 horas/día durante 15 días consecutivos; este porcentaje fue similar al de las cabras en contacto permanente (24 horas/día) con los machos (Flores *et al.*, 2000; Bedos *et al.*, 2010; 2012). Los resultados de Bedos *et al.* (2010) pueden deberse al hecho de que ellos utilizaron machos cabríos inducidos a una intensa actividad sexual al someterlos a 2.5 meses de días largos a partir del 1 de noviembre, seguidos del fotoperiodo natural. La intensidad del comportamiento sexual de los machos mantiene elevada la pulsatilidad de LH en las cabras y conduce a la ovulación (Vielma *et al.*, 2009; Martínez-Alfaro *et al.*, 2011). Considerando los resultados descritos anteriormente, el objetivo del presente estudio fue determinar los perfiles de la secreción de LH y la ovulación en las cabras anéstricas expuestas de manera continua (24 horas/día) o intermitente (2 horas/día) a machos cabríos foto-estimulados.

II. Revisión de literatura

2.1. Estacionalidad reproductiva

La estacionalidad reproductiva que presentan los ovinos y los caprinos originarios de latitudes templadas o adaptadas a regiones subtropicales, se caracteriza por la sucesión de un periodo de actividad sexual y un periodo de inactividad o de reposo sexual. Esta estacionalidad reproductiva permite que los partos ocurran a finales de invierno o principios de primavera (Ortavant *et al.*, 1985; Gerlach y Aurich, 2000).

2.1.1 Machos

Los machos cabríos de razas originarias de latitudes templadas presentan una marcada estacionalidad de su actividad sexual. En Francia (45°N), los machos de raza Alpina o Saanen, presentan un periodo de reposo sexual de marzo a agosto; la estación sexual se desarrolla de septiembre a febrero (Delgadillo *et al.*, 1991; 1992). Debido a la estacionalidad sexual, el peso testicular, la producción espermática y el comportamiento sexual varían durante el año. Los valores de estas variables son más elevados durante la estación sexual (Delgadillo *et al.*, 1991). Los machos locales del norte de México, en particular los de la Comarca Lagunera (26° N), manifiestan también estacionalidad en su actividad sexual: la estación sexual inicia en mayo y termina en diciembre, mientras que el reposo sexual inicia enero y termina en abril. Durante la estación sexual, los valores de las concentraciones plasmáticas de LH y de la testosterona, el comportamiento

sexual, el volumen testicular y la producción espermiática, son más elevados que durante el periodo de reposo (Delgadillo *et al.*, 1999; 2001).

En los caprinos de latitudes templadas y subtropicales, la estacionalidad sexual es el resultado de la existencia de un ritmo endógeno de reproducción que es sincronizado por el fotoperiodo. La percepción de los días largos determina el inicio de la estación sexual, mientras que la percepción de los días cortos determina su duración (Malpaux *et al.*, 1989; Malpaux y Karsch, 1990). Por ello, los tratamientos fotoperiódicos que alternan días largos y cortos permiten estimular la actividad sexual de los animales durante el reposo sexual.

2.1.2 Tratamientos fotoperiódicos para los machos cabríos

En los machos cabríos de la Comarca Lagunera, la sucesión de un periodo de días largos artificiales (16 h de luz por día) del 1 de noviembre al 15 de enero, seguido solo del fotoperiodo natural, permite inducir su actividad sexual durante el periodo de reposo. Este tratamiento estimula la secreción de testosterona, así como el comportamiento sexual y el olor de los machos en marzo y abril, meses que corresponden al periodo de reposo sexual (Delgadillo *et al.*, 2002; Rivas-Muñoz *et al.*, 2007; Bedos *et al.*, 2010, 2012).

2.1.3 Hembras

Las cabras de razas originarias de latitudes templadas o adaptadas a las latitudes subtropicales, presentan una marcada estacionalidad de su actividad sexual. La estación sexual, determinada por estros y ovulaciones, en las cabras Alpinas y Saanen en Francia (45° N), así como las cabras locales de la Comarca Lagunera en México (26° N), inicia en septiembre y termina en febrero. El reposo sexual o anestro inicia en marzo y termina en agosto (Chemineau *et al.*, 1992; Duarte *et al.*, 2008). Las ovejas de las razas Suffolk, Ile de France y Vendéen originarias de zonas templadas, así como las cabras de latitudes subtropicales presentan variaciones estacionales de su actividad sexual similares a las de las cabras Alpinas, Saanen y las locales de la Comarca Lagunera (Karsch *et al.*, 1989; Restall *et al.*, 1992; Rivera *et al.*, 2003; Chanvallon *et al.*, 2011).

En las cabras y ovejas que presentan una estacionalidad reproductiva, la actividad sexual puede ser inducida, a través de tratamientos fotoperiódicos. Otra posibilidad para romper el anestro estacional en las hembras, son las relaciones socio-sexuales, en particular el “efecto macho”.

2.2 Relaciones socio sexuales

2.1.4.1. Efecto macho

La introducción de machos en grupos de hembras en anestro estacional, estimula la secreción de LH, el estro y la ovulación. Este fenómeno es conocido como “efecto macho” (Chemineau, 1987; Ungerfeld *et al.*, 2004; Delgadillo, 2002, 2010).

2.1.4.2. Respuesta de las cabras al efecto macho

El contacto entre machos y hembras induce un incremento inmediato en la secreción de LH, que culmina con un pico preovulatorio de esta hormona, provocando la ovulación (Poindron *et al.*, 1980). La primera ovulación inducida por el efecto macho está asociada con 60% de estros, y es seguida de un ciclo ovulatorio de corta duración en el 75% de los casos que dura de 5 a 7 días. Después de este tiempo se produce otra ovulación que es acompañada en el 100% de los casos de estro, y de una fase lútea de duración normal de aproximadamente 21 días (Chemineau, 1987; Flores *et al.*, 2000).

2.1.4.3. Factores que afectan la respuesta al efecto macho

En ovejas y cabras, la respuesta al efecto macho puede ser influenciada por varios factores como la intensidad del comportamiento sexual del macho y la duración del contacto entre machos y hembras, entre otros (Signoret *et al.*, 1982; Delgadillo *et al.*, 2006, 2009)

2.1.4.4. Intensidad del comportamiento sexual del macho

El comportamiento sexual del macho, es el conjunto de movimientos, gestos, actitudes y acciones que muestra un animal como manifestación de deseo o disposición y capacidad en su caso, de efectuar la cópula con otro animal. Entonces, la conducta sexual completa tiene dos componentes: el impulso y el deseo sexual o libido, que se ha definido como “la disposición y ansiedad de un macho por montar e intentar penetrar a un hembra” (Figura 1; Hart y Jones, 1975; Chenoweth, 1981; Price *et al.*, 1986; Fabre-Nys, 2000). En ovejas y cabras se demostró que la intensidad del comportamiento sexual de los machos es un elemento clave para estimular el estro y la ovulación en la mayoría de las hembras expuestas a los machos (Signoret *et al.*, 1982; Perkins y Fitzgerald, 1994; Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002). En efecto, los carneros intactos que exhibieron un comportamiento sexual intenso, fueron capaces de estimular la ovulación en una proporción mayor de ovejas que los machos con un comportamiento sexual más débil (95% vs 78%, respectivamente; Perkins y Fitzgerald, 1994). En las cabras que manifiestan una marcada estacionalidad reproductiva, la proporción de hembras que ovulan al ser expuestas al efecto macho a la mitad del anestro, es muy baja y en muchas ocasiones no hay respuesta ovulatoria de las hembras. Esta falta de respuesta de las hembras puede deberse al hecho que los machos también están en reposo sexual y despliegan un débil comportamiento sexual. Esta hipótesis se comprobó al utilizar machos cabríos foto-estimulados. Así, en las cabras de la Comarca Lagunera, el 100 % de las hembras presentaron una

actividad estral y ovulatoria al ser expuestas, durante el anestro estacional, a machos inducidos a una intensa actividad sexual al someterlos a 2.5 meses de días largos artificiales a partir del 1 de noviembre seguidos o no, de la aplicación de 2 implantes subcutáneos de melatonina (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; Rivas-Muñoz *et al.*, 2007; Fitz-Rodríguez *et al.*, 2009). En cambio, ninguna de las cabras ovularon cuando se expusieron a machos no tratados que estaban en reposo sexual (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002). Estos resultados se debieron, muy probablemente, al intenso comportamiento sexual desplegado por los machos sometidos a los tratamientos fotoperiódicos.

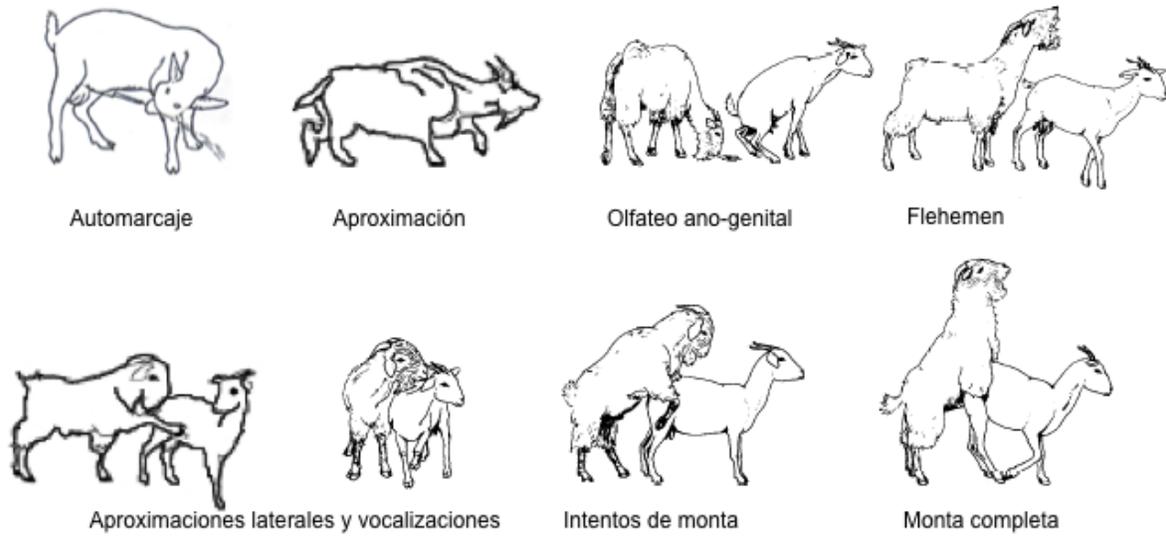


Figura 1. Representación esquemática de las variables del comportamiento sexual de los machos cabríos al estar en contacto con las hembras. (Adaptada de Hart y Jones 1975; Price *et al.*, 1986; Fabre-Nys 2000).

2.1.4.5. Tiempo de contacto

El tiempo de contacto entre los dos sexos influye en el porcentaje de hembras que ovulan al ser expuestas al efecto macho. En las ovejas, 3 horas de contacto con los machos estimula la secreción de la LH, pero no permite la ovulación (Oldham y Pearce, 1983). Esto se debe, muy probablemente, a que la secreción de la LH disminuye al retirar los machos del grupo de ovejas. Por ello, la presencia permanente del macho es necesaria para estimular la ovulación en las ovejas. En efecto, sólo el 20% de las hembras ovuló cuando se expusieron a los machos por 1 día, pero este porcentaje se incrementó al prolongar el tiempo de contacto por 4 (51%) o 13 días (61%; Signoret *et al.*, 1982). Contrariamente a los resultados descritos en los ovinos, recientemente se demostró en cabras que la presencia continua de los machos foto-estimulados no es necesaria para inducir el estro en la mayoría de las cabras anéstricas. En efecto, el porcentaje de cabras expuestas a los machos sexualmente activos por 16 horas por día durante 18 días fue similar al de las hembras que permanecieron en contacto con los machos 24 horas por día durante el mismo periodo (95 y 92% respectivamente; Rivas *et al.*, 2007). Además, se demostró que se puede reducir aun más el tiempo de contacto diario entre los dos sexos sin disminuir la respuesta ovulatoria o reproductiva de las cabras. En efecto, el contacto diario entre los dos sexos se redujo de 24 a 16, 12, 8 y 4 horas por día durante 15 días consecutivos. Los porcentajes de hembras que ovularon (>88%) o parieron (>60%) no difirieron entre las cabras que tuvieron un contacto intermitente o permanente (24/24 horas) con los machos (Rivas-Muñoz *et al.*, 2007; Bedos *et al.*, 2010). Estos resultados difieren de los reportados

en las ovejas, en las cuales la presencia permanente de los machos es necesaria para mantener elevada la secreción de LH y favorecer la ovulación. Es interesante señalar que en las cabras expuestas a los machos foto-estimulados, la mayoría de las hembras ovuló al estar en contacto con los machos solamente 4 horas por día, y la proporción de cabras que ovuló no fue diferente de la observada en aquellas en contacto permanente con los machos. Sin embargo, no se conocen los perfiles de secreción de LH en las cabras expuestas de manera intermitente o permanente a los machos foto-estimulados.

III. Objetivo

Determinar los perfiles de secreción de LH en las cabras expuestas a los machos cabríos foto-estimulados de manera intermitente (2/24 horas por día) o permanente (24/24 horas por día).

IV. Hipótesis

Las cabras anéstricas expuestas a los machos cabríos foto-estimulados de manera intermitente (2/24 horas por día) o permanente (24/24 horas por día), presentan diferentes perfiles de secreción de LH que inducen la ovulación.

V. Materiales y Métodos

5.1 Localización

El presente estudio se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y El Ejido El Cambio, Municipio de Matamoros Coahuila, ambos localizados en la Comarca Lagunera del estado de Coahuila, México (latitud 26° 23 minutos norte longitud, 104° oeste). El experimento se realizó en abril, durante el anestro estacional. En el presente estudio se utilizaron cabras (*Capra hircus*) locales de la Comarca Lagunera. En estas cabras, el periodo de anestro estacional ocurre de marzo a agosto, mientras que en los machos, el periodo de reposo sexual ocurre de enero a abril (Delgadillo *et al.*, 1999; Duarte *et al.*, 2008).

Las cabras que se utilizaron en la presente investigación parieron entre agosto y septiembre y se ordeñaban manualmente una vez al día durante el estudio. Durante el estudio, los machos y las hembras se estabularon y se alimentaron con 2 kg de heno de alfalfa (18% proteína cruda) y 200 g de concentrado comercial (14% proteína cruda) cada uno, con libre acceso al agua y a las sales minerales. Los procedimientos utilizados en el experimento se apegaron estrictamente a la guía de cuidado y uso de animales para la agricultura (FASS, 2010).

5.2. Animales

5.2.1 Hembras

Se utilizaron 11 cabras multíparas anéstricas. El 18 de marzo y el 12 abril, la actividad ovulatoria de las hembras se evaluó mediante ultrasonido transrectal utilizando el aparato Aloka ssd-500 y una sonda de 7.5 Mhz. La ausencia de cuerpos lúteos en los dos ultrasonidos realizados fue el criterio para detectar las hembras en anovulación estacional (Ginter y Kot, 1994). El 12 abril, las hembras se dividieron en 2 grupos de acuerdo a su condición corporal: el grupo intermitente (n=6 condición corporal: 2.6 ± 0.2 ; promedio \pm EEM), y el grupo permanente (n=5; 2.5 ± 0.2). Los grupos se alojaron en corrales abiertos, sombreados que medían 6 x 4 m.

5.2.2 Machos

Los machos (n=4) se alojaron en un corral abierto de 6 x 6 m donde se sometieron a días largos (16 horas de luz / 8 horas de oscuridad) del 1 de noviembre al 15 de enero. A partir del 16 de enero, los machos se expusieron solo a las variaciones naturales del fotoperiodo hasta el final del estudio (Delgadillo *et al.*, 2002). Este tratamiento que combina la luz artificial y natural estimula la secreción de testosterona en marzo y abril, y en consecuencia, la intensidad del olor y la conducta sexual de los machos durante la época de reposo sexual (Delgadillo *et al.*, 2002; Rivas-Muñoz *et al.*, 2007). El 23 de marzo, antes de iniciar el experimento, se verificó individualmente el comportamiento sexual de los

machos. Para ello, cada macho se expuso durante 15 minutos a hembras en anestro. Todos los machos efectuaron aproximaciones, olfateos ano-genitales, automarcajes, intentos de monta y montas sin penetración.

5.3. Efecto macho

El día 14 de abril (día 0), las hembras de cada grupo experimental se expusieron a los machos (n=2/grupo) durante 5 días consecutivos. En el grupo de contacto permanente (24 horas/24 horas), el macho se introdujo a las 10:00 en el día 0, y permaneció con las cabras durante todo el estudio. En el grupo de contacto intermitente (2 horas/24 horas), el macho se introducía cada día a las 10:00, y se retiraba a las 12:00 horas, llevándolo a un corral situado a 100 metros de distancia del corral de las hembras permaneciendo hasta el día siguiente.

5.4. Variables determinadas

Muestras sanguíneas

5.4.1. Hormona Luteinizante (LH)

Un día antes de la introducción del macho, a las hembras se les colocó una cánula en la vena yugular para facilitar la toma de muestras sanguíneas. Las muestras de sangre se obtuvieron cada 15 minutos durante 6 horas, de 08:00 a 14:00, los días 0, 1, 2, 3 y 4, para determinar los niveles plasmáticos de la LH. Este régimen de muestreo sanguíneo se utilizó para determinar los niveles de secreción de LH 2 horas antes de la introducción de los machos, 2 horas durante la presencia de los machos, y 2 horas después de retirar los machos del grupo de hembras de contacto intermitente. El plasma se obtuvo después de centrifugar las muestras a 3500 rpm durante 30 minutos, y se almacenaron a -20° C hasta la determinación de las concentraciones plasmáticas de LH.

5.4.2. Determinación de la secreción de LH

Las concentraciones plasmáticas de LH se determinaron por radioinmunoanálisis (RIA), de acuerdo a la técnica descrita por Canépa *et al.* (2008). La sensibilidad del ensayo fue 0.1ng/mL. El coeficiente de variación intra e inter ensayo fue de 5% y 7%, respectivamente. La secreción pulsátil de LH se determinó de acuerdo a lo descrito por Martin *et al.* (1980). Se consideró la existencia de un pulso de LH cuando existió un incremento de 3 desviaciones estándar de la concentración de base. Los pulsos incompletos al inicio o al final de

los periodos de muestreo no fueron incluidos en los resultados a menos que dos valores consecutivos fueran mayores a 0.5 ng/mL.

5.4.3. Actividad Ovulatoria

La ovulación se determinó a través de las concentraciones plasmáticas de progesterona. Para ello, una muestra de sangre de cada hembra se obtuvo de la vena yugular, para determinar las concentraciones plasmáticas de progesterona por radioinmunoanálisis (Canepa *et al.*, 2008), durante los primeros 5 días de contacto con los machos. Todas las muestras se realizaron en un solo ensayo y el coeficiente de variación intraensayo fue del 7%. Se consideró que las cabras habían ovulado cuando presentaron una concentración plasmática de progesterona (≥ 0.5 ng/ml; Chemineau *et al.*, 2006).

5.5. Análisis estadísticos

El porcentaje de cabras que ovularon o que presentaron un pulso de LH en los primeros 15 minutos después de la exposición al macho, se analizaron utilizando la prueba de Chi-cuadrada. La pulsatilidad de la LH antes, durante y después del contacto con el macho (grupo intermitente) o el tiempo correspondiente en el grupo permanente, se comparó con un análisis de varianza utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. La pulsatilidad de LH de los grupos intermitente o permanente se comparó solamente los días 0 y 1. El día 1, esta comparación se hizo solo de -2 a 0 horas, es decir antes de la introducción

del macho, debido a que en el día 1, algunas hembras del grupo permanente presentaron un pico pre-ovulatorio de LH; declinando de manera importante la secreción de la hormona. Los datos se expresaron en promedio \pm el error estándar del promedio. Las diferencias estadísticas entre grupos corresponden a $P \leq 0.05$.

VI. Resultados

6.1 Secreción de LH

En el día 0, antes de la introducción de los machos (-2 a 0 horas), la frecuencia de los pulsos de LH de las hembras fue bajo y no difirió entre los grupos de cabras expuestos a los machos de manera intermitente o permanente ($P=0.60$; Tabla 1). La proporción de hembras que presentaron un pulso en los primeros 15 minutos después de la introducción de los machos, se incrementó en los grupos de cabras que permanecieron en contacto con los machos de manera intermitente y permanente ($P<0.05$), y este incremento no difirió entre en los dos grupos ($P>0.05$; Tabla 2). Además, la pulsatilidad de LH se incrementó en los dos grupos al introducir los machos ($P<0.05$), y este incremento no fue diferente entre ellos ($P>0.05$). En el grupo en contacto permanente con los machos, la pulsatilidad de LH permaneció elevada en el periodo de muestreo (2-4 horas después de la introducción del macho), y se mantuvo elevada hasta el día siguiente, sin que existiera diferencia de un día a otro ($P=0.32$; Figura 2). En cambio, en el grupo de cabras en contacto intermitente con los machos, la pulsatilidad de LH decreció significativamente después de que el macho fue retirado (2-4 horas después del introducción del macho; $P<0.05$) y existió una tendencia a la disminución al siguiente día ($P=0.08$; Figura 2). Por esta razón, la pulsatilidad de LH en las hembras del grupo intermitente fue mayor durante la presencia del macho que antes de introducirlo o después de retirarlo ($P<0.001$). Además, en el grupo intermitente no hubo diferencia en el número de pulsos de LH antes o después de la presencia del macho ($P=0.50$; Tabla 1; Figura 2).

6.2 Actividad Ovulatoria

La proporción de cabras que ovuló durante el estudio no fue superior en el grupo permanente (60%; 3/5) que en el intermitente (33%; 2/6; P=0.09)

Tabla 1.- Frecuencia de pulsos de LH (promedio \pm el error estándar del promedio) y respuesta ovulatoria de las cabras expuestas a machos de manera intermitente (2horas/24 por día) o 24/24 horas por día permanente a machos sexualmente activos.

	Intermitente (2/24 horas)	Permanentes (24/24 horas)
Cabras	6	5
Hembras que presentaron un pulso de LH en los primeros 15 minutos	5/6 ^a	3/5 ^a
Número de pulsos de LH		
Día 0		
Horas -2 a 0	0.5 \pm 0.2 ^a	0.2 \pm 0.2 ^a
Horas 0 a 2	1.8 \pm 0.3 ^b	1.4 \pm 0.4 ^b
Horas 2 a 4	0.7 \pm 0.2 ^a	1.0 \pm 0.0 ^a
Día 1		
Horas - 2 a 0	0.2 \pm 0.2 ^a	1.0 \pm 0.3 ^b

^{a b} Diferentes superíndices en cada columna denotan diferencias significativas (P<0.05).

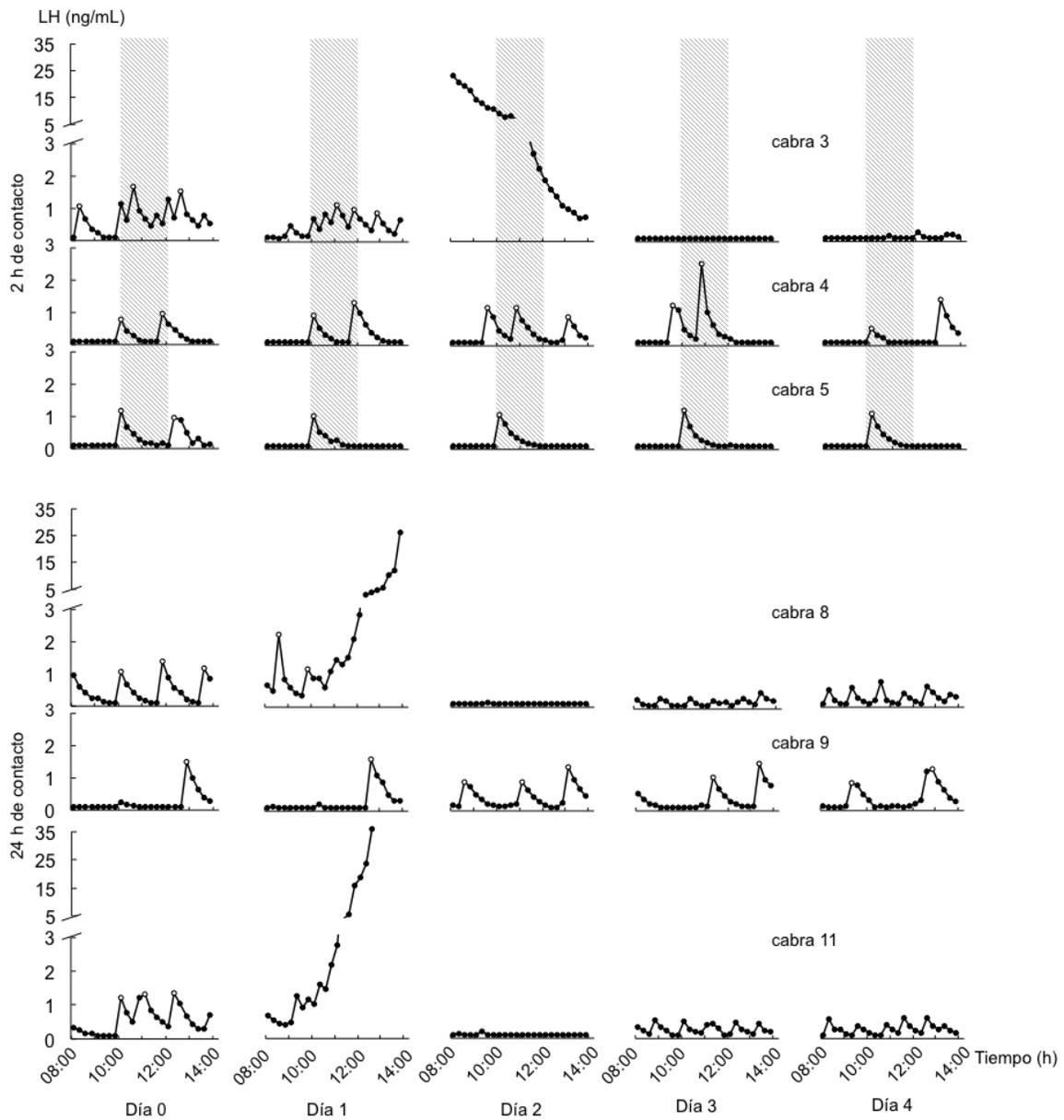


Figura 2. Perfiles individuales de las concentraciones plasmáticas de LH en cabras expuestas de manera intermitente (2/24 horas por día; arriba) o permanente (24/24 horas por día; abajo) a machos cabríosfoto-estimulados.

VII. Discusión

Los resultados del presente estudio muestran por primera vez que el perfil de secreción de LH es diferente en las cabras expuestas de manera intermitente o permanente a los machos cabríos foto-estimulados. Además, estos resultados demuestran que estos perfiles de LH diferentes, inducen la ovulación en las cabras anéstricas expuestas a los machos foto-estimulados. En efecto, no existió diferencia en la proporción de cabras que ovularon al estar en contacto con los machos foto-estimulados de manera intermitente o permanente.

En el grupo de contacto intermitente, la frecuencia de pulsos de LH se incrementó inmediatamente después de la introducción del macho, pero luego disminuyó al retirarlo, y se mantuvo baja hasta el día siguiente. Lo anterior coincide con el estudio previo reportado en las ovejas, en el cual se demostró que cuando los machos son retirados del grupo de hembras, la secreción de LH disminuye (Oldham y Pearce, 1983). Sin embargo, en el grupo de contacto intermitente, la frecuencia de pulsos de LH se incrementó nuevamente en los días subsiguientes al re-introducir nuevamente al macho, permitiendo la presentación del pico preovulatorio y la ovulación en algunas hembras. Este resultado confirma la hipótesis de Delgadillo et al. (2009), quienes postularon que en caprinos, cuando existe un contacto intermitente entre machos y hembras, cada re-introducción del macho estimula la secreción de LH, permitiendo la presentación del pico pre-ovulatorio de esta hormona. Contrariamente a lo observado en el grupo de contacto intermitente, en las cabras del grupo de contacto permanente, la frecuencia de pulsos de LH se mantuvo elevada desde la introducción del

macho hasta que ocurrió el pico pre-ovulatorio de LH y la ovulación. En conjunto, estos resultados muestran que los perfiles de secreción de LH en las cabras son diferentes cuando están en contacto intermitente o permanente con los machos foto-estimulados, y que estos perfiles diferentes de secreción de LH estimulan la ovulación en las cabras durante el anestro estacional.

Las proporciones de cabras que ovularon en el presente estudio, no fueron diferentes en aquellas en contacto permanente (60%) o intermitente (33%) con los machos. Estos porcentajes son similares a los reportados por Bedos et al. (2014) cuando las cabras estuvieron en contacto con los machos cabríos foto-estimulados de manera intermitente (27%) o permanente (55%) como en el presente estudio. Sin embargo, los porcentajes de hembras que ovularon en el presente estudio, fueron inferiores a los reportados cuando el tiempo de contacto entre machos y hembras se redujo de 4 a 2 o 1 hora por día, pero durante 15 días consecutivos (Bedos et al., 2010, 2012). En el presente estudio, el contacto entre machos y hembras duró solamente 5 días, tiempo que permite observar solamente la primera ovulación en algunas hembras expuestas a los machos. En efecto, la respuesta total al efecto macho se observa después del día 10 del primer contacto entre los dos sexos (Flores et al., 2000; Delgadillo et al., 2002; Bedos et al., 2014). Es probable que la baja respuesta ovulatoria registrada en el presente estudio, se debió a la duración del mismo. Los resultados del presente estudio confirman que la exposición intermitente a los machos cabríos foto-estimulados estimula la ovulación en las cabras en anestro estacional.

Los resultados del presente estudio son consistentes con estudios previos en los cuales el tiempo de contacto entre hembras y machos se redujo de 24 a 4 o 2 horas por día (Bedos et al., 2010; 2012). Una explicación al éxito del efecto macho cuando se reduce el tiempo de contacto entre hembras y machos, es la utilización de machos foto-estimulados. En efecto, se mostró que el tratamiento fotoperiódico de días largos del 1 de noviembre al 15 de enero, induce un incremento en las concentraciones de testosterona, tamaño testicular, olor y comportamiento sexual durante el periodo de reposo sexual (Delgadillo et al., 2002; Flores et al., 2000; Rivas-Muñoz et al., 2007). El comportamiento sexual de los machos cabríos foto-estimulados, es crucial para mantener elevada la secreción de LH que estimule la ovulación (Vielma et al., 2009; Rivas-Muñoz et al., 2007).

VIII. Conclusión

Los resultados del presente estudio permiten concluir que la secreción de LH es diferente entre las cabras expuestas de manera intermitente o permanente a los machos cabríos foto-estimulados. Estos perfiles de secreción de LH inducen la ovulación en las cabras en anestro estacional. Estos resultados acrecentan nuestro conocimiento relacionado con los mecanismos fisiológicos subyacentes implicados en la realización del efecto macho.

IX. Bibliografía

Bedos, M., Flores, J.A., Fitz-Rodríguez, G., Keller, M., Malpaux, B., Poindron, P. 2010. Four hours of daily contact with sexually active males is sufficient to induce fertile ovulation in anestrus goats. *Hormones and Behavior*. 58, 473–7.

Bedos, M., Velázquez, H., Fitz-Rodríguez, G., Flores, J.A., Hernández, H., Duarte, G., Vielma, J., Fernández, I.G., Retana-Márquez, M.S., Muñoz-Gutiérrez, M., Keller, M., Delgadillo, J.A. 2012. Sexually active bucks are able to stimulate three successive groups of females per day with a 4-hour period of contact. *Physiology and Behavior*. 106, 259-263.

Bedos, M., Duarte, G., Flores, J.A., Fitz-Rodríguez, G., Hernández, H., Vielma, J., Fernández, I.G., Chemineau, P., Keller, M., Delgadillo, J.A. 2014. Two or 24 h of daily contact with sexually active males results in different profiles of LH secretion that both lead to ovulation in anestrus goats. *Domestic Animal Endocrinology*. 48, 93-99.

Canépa, S., Lainé, A.L., Bluteau, A., Fagu, C., Flon, C., Monniaux, D. 2008. Validation d'une méthode immunoenzymatique pour le dosage de la progestérone dans le plasma des ovins et des bovins. *Cahier des Techniques de l'INRA*. 64,19–30.

Chanvallon, A., Sagot, L., Pottier, E., Debus, N., François, D., Fassier, T., Scaramuzzi, R.J., Fabre-Nys, C. 2011. New insights into the influence of breed and time of the year on the response of ewes to the “ram effect”. *Animal*. 5 (10), 1594-1604.

Chemineau, P. 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrus cycles in anovulatory goats - a review. *Livestock Production Science*. 17, 135-147.

Chemineau, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A., Guerin, Y., Ravault, J.P., Thimonier, J., Pelletier, J. 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*. 30, 157-184.

Chemineau, P., Pellicer-Rubio, M.T., Lassoued, N., Khaldi, G., Monniaux, D. 2006. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reproduction, Nutrition and Development*. 46, 417- 429.

Chenoweth, P.J. 1981. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. *Theriogenology*. 16(2), 155-177.

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

Cohen-Tannoudji, J., Locatelli, A., Signoret, J.P. 1986. Non-pheromonal stimulation by the male of LH release in the anoestrous ewe. *Physiology and Behavior*. 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., Malpoux, B. 2001. Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *Journal of Animal Science*. 79, 2245-52.

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

Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Véliz, F.G., Duarte, G., Vielma, J., Hernández, H., Fernández, I.G. 2006. Importance of the signals provided by the buck for the success of the male effect in goats. *Reproduction, Nutrition and Development*. 44, 391-400.

Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Véliz, F.G., Hernández, H.F., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P., Malpoux, B. 2002. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *Journal of Animal Science*. 80, 2780-2786.

Delgadillo, J.A., Gelez, H., Ungerfeld, R., Hawken, P.A.R., Martin, G.B. 2009. The 'male effect' in sheep and goats - Revisiting the dogmas. *Behavioural Brain Research*. 200, 304-314.

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

Delgadillo, J.A., Vélez, L.I. 2010. Stimulation of reproductive activity in anovulatory Alpine goats exposed to bucks treated only with artificially long days. *Animal*. 4, 2012-2016.

Duarte, G., Flores, J.A., Malpoux, B., Delgadillo, J.A. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domestic Animal Endocrinology*. 35, 362-370.

Fabre-Nys, C. 2000. Le comportement sexuel des caprins : contrôle hormonal et facteurs sociaux. INRA Productions Animales. 13, 11-23.

FASS: Guide for the care and use of agriculture animals in research and teaching Champaign 2010. pp. 128-142.

Fitz-Rodríguez, G., De Santiago-Miramontes, M.A., Scaramuzzi, R.J., Malpaux, B., Delgadillo, J.A. 2009. Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect. *Animal Reproduction Science*. 116, 85-94.

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. *Biology of Reproduction*. 62, 1409-1414.

Gelez, H., Fabre-Nys, C. 2004. The “male effect” in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Hormones and Behaviour*. 46 , 257-271.

Gerlach, T., Aurich, J.E. 2000. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Animal Reproduction Science*. 58, 197-213.

Ginther, O.J., Kot, K. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*. 42, 987-1001.

Hart, B.I., Jones, T.O.A.C. 1975. Effects of castration on sexual behavior of tropical male goats. *Hormones and Behavior*. 6, 247-258.

Karsch, F.J., Robinson, J.E., Woodfill, C.J.I., Brown, M.B. 1989. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod: Evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biology of Reproduction*. 41, 1034-1046.

Malpaux, B., Karsch, F.J. 1990. A role for short days in sustaining seasonal reproductive activity in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 90, 555-562.

Malpaux, B., Robinson, J.E., Wayne, N.L., Karsch, F.J. 1989. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *Journal of Endocrinology*. 122, 269- 278.

Martin, G.B., Oldham, C.M. Lindsay, D.R. 1980. Increased plasma LH levels in seasonally anovular Merino ewes following the introduction of rams. *Animal Reproduction Science*. 3, 125-132.

Martin, G.B., Oldham, C.M., Cognie, Y., Pearce, D.T. 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams - A review. *Livestock Production Science*. 15, 219-247.

Martínez-Alfaro, J.C., Flores, J.A., Hernández, H., Duarte, G., Fitz-Rodríguez, G., Delgadillo, J.A., Vielma, J. 2011. El comportamiento sexual del macho induce la ovulación en cabras anéstricas. *Revista Argentina de Producción Animal*. 31, pp 434.

Oldham, C.M., Pearce, D.T. 1983. Mechanism of the ram effect. *Proceedings of the Australian Society for Reproductive Biology*. 15, 72-75.

Ortavant, R., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland, P. 1985. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*. 7, 305-345.

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. *Journal of Animal Science*. 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. *Physiology and Behavior*. 25, 227-236.

Price, E.O., Smith, V.M., Katz, L.S. 1986. Stimulus conditions influencing self-enurination, genital grooming and flehem in male goats. *Applied Animal Behaviour Science*. 16, 371-381.

Restall, B.J. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Animal Reproduction Science*. 27, 305-318.

Rivas-Muñoz, R., Fitz-Rodríguez, G., Poindron, P., Malpaux, B., Delgadillo, J.A. 2007. Stimulation of estrous behavior in grazing female goats by continuous or discontinuous exposure to males. *Journal of Animal Science*. 85, 1257-1263.

Rivera, G.M., Alanis, G.A., Chaves, M.A., Ferrero, S.B., Morello, H.H. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Ruminant Research*. 48, 109-117.

Shelton, M. 1960. Influence of the presence of a male goat on the initiation of estrous cycling and ovulation of angora does. *Journal of Animal Science*. 19, 368-375.

Signoret, J.P., Fulkerson, W.J., Lindsay, D.R. 1982. Effectiveness of testosterone-treated wethers and ewes as teasers. *Applied Animal Ethology*. 9, 37-45.

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. *Journal of Agriculture, Western Australia*. 11, 135-143.

Ungerfeld, R., Forsberg, M., Rubianes, E. 2004. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. *Reproduction, Fertility and Development*. 16, 479-490.

Vielma, J., Chemineau, P., Poindron, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A. 2009. Male sexual behavior contributes to the maintenance of high LH pulsatility in anestrous female goats. *Hormones and Behavior*. 56, 444-449.

Vielma, J., Terrazas, A., Véliz, F.G., Flores, J.A., Hernández, H., Duarte, G., Malpoux, B., Delgadillo, J.A. 2008. Vocalizations of male goats do not stimulate neither LH secretion nor ovulation on anovulatory female goats. *Técnica Pecuaria en México*. 46, 25-36.