

# Protocolo para Proyecto de Investigación 2014

## Titulo del proyecto

Efecto del rango social de las hembras caprinas anéstricas en la respuesta endocrina, sexual y reproductiva al efecto macho

## Introducción

Desde el punto de vista productivo, los caprinos son una de las especies más importantes para el hombre, ya que son capaces de producir leche y carne en los diferentes ecosistemas del mundo, sobre todo en aquellas regiones áridas donde la agricultura es escasa o limitada. En México, los caprinos son explotados principalmente en las regiones semidesérticas de Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí, Puebla y Oaxaca. Además de la escasa vegetación para la producción caprina, los productores de estas regiones tienen que lidiar con la estacionalidad en la actividad reproductiva que presentan la mayoría de las razas caprinas (Valencia *et al.*, 1990; Delgadillo *et al.*, 1999; Duarte *et al.*, 2010). Por ejemplo, en la Comarca Lagunera, una de las principales regiones productoras de caprinos en el país, las hembras caprinas locales presentan un periodo de inactividad sexual de marzo a agosto (Duarte *et al.*, 2010). En los machos cabríos de esta región, la libido, el peso testicular y la secreción de testosterona, disminuyen de enero-abril (periodo de reposo sexual), mientras que estas variables se incrementan notablemente de mayo-diciembre (periodo de actividad sexual; Delgadillo *et al.*, 1999). Durante muchos años se ha tratado de contrarrestar los problemas causados por la estacionalidad reproductiva y para ello se han desarrollado diversos tratamientos. Algunos de ellos incluyen la manipulación del número de horas luz que los animales perciben diariamente. Por ejemplo, se ha logrado inducir la actividad sexual de los machos durante el periodo de reposo sexual al exponerlos en el otoño e invierno (días cortos naturales) a 16 horas de luz por día (días largos artificiales) durante dos meses y medio (Delgadillo *et al.*, 2002). Debido a este tratamiento, los machos manifiestan una intensa actividad sexual durante el periodo de reposo natural (marzo-abril). Una vez sexualmente activos estos machos, son muy eficientes para estimular la actividad sexual (estro y ovulación: Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002) y endocrina (Vielma *et al.*, 2009; Fernández-García *et al.*, 2011) de las cabras anéstricas mediante un fenómeno conocido como efecto macho (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; Bedos *et al.*, 2010). Sin embargo, las interacciones sociales entre las hembras probablemente juegan un papel importante ya que podrían modificar la respuesta sexual de estas hembras al estímulo del macho. Existen estudios que indican que las relaciones jerárquicas de los animales dentro del rebaño, pueden afectar considerablemente su actividad reproductiva. En ovinos, la sola presencia de un carnero dominante, afecta el comportamiento sexual y la fertilidad de los machos subordinados (Hulet *et al.*, 1962; Fowler y Jenkins, 1976; Lindsay *et al.*, 1976; Synnott y Fulkerson 1984; Ungerfeld y González-Pensado, 2009). Al parecer, lo anterior es debido a que los machos subordinados tienen un acceso limitado a las hembras en estro, comparado con los carneros dominantes (Preston *et al.*, 2003). En las hembras pasa un fenómeno similar. Por ejemplo, en las hembras del ciervo rojo (*Cervus elaphus*) se ha demostrado que durante la época de reproducción, las hembras dominantes quedan gestantes antes que las hembras subordinadas (Clutton-Brock *et al.*, 1986). De igual manera, en cabras lecheras se ha demostrado que las hembras dominantes establecen un contacto más estrecho con los machos y la ovulación en estos animales se produce antes que las hembras subordinadas (Álvarez *et al.*, 2003). Sin embargo, no existen estudios en las hembras estimuladas con machos tratados con días largos sobre el efecto del rango social que ocupan dentro del rebaño pueda afectar su actividad endocrina (LH), sexual (actividad estral y ovulatoria) y reproductiva de las cabras estimuladas mediante el efecto macho utilizando machos foto-estimulados. Por ello, el objetivo del presente estudio es determinar el efecto del rango social de las hembras caprinas en su respuesta al efecto macho utilizando machos foto-estimulados con 2.5 meses de días largos.

## Objetivos

Determinar la influencia del rango social de las hembras caprinas en su respuesta endocrina (secreción de LH, pico preovulatorio de LH), sexual (actividad estral y ovulatoria) y reproductiva al efecto macho

## Hipótesis

La respuesta endocrina, sexual y reproductiva de las hembras anéstricas al efecto macho es afectada por el rango social que ocupan dentro del rebaño.

Las hembras con mayor rango social tienen un mayor índice de asociación con el macho y su respuesta es más rápida que en las hembras con un rango social bajo.

## Revisión de Literatura

Los mamíferos habitan en casi todos los ecosistemas desde el ecuador hasta los polos. La mayoría de estos hábitats experimentan cambios estacionales en el clima y la disponibilidad de alimentos y estas variaciones son más pronunciadas conforme aumenta la latitud. Para afrontar los cambios antes descritos, la mayoría de las especies han desarrollado ciclos estacionales en sus funciones fisiológicas, morfológicas y conductuales (Bronson, 1989). Estos cambios incluyen (dependiendo de la especie), la migración, cambio de pelaje, aumento o disminución de la tasa metabólica, etc. Sin embargo, el mecanismo de adaptación más ampliamente observado en la naturaleza, es la capacidad de algunas especies para restringir su actividad reproductiva a una época determinada del año con el fin de que las etapas más difíciles de la reproducción (última etapa de la preñez, el parto, la lactancia y el destete de las crías) coincidan con la disponibilidad de alimentos y por ello con las condiciones más propicias para la supervivencia del recién nacido (Bronson y Heideman, 1994). Ello ha llevado a estas especies a desarrollar una estacionalidad en su actividad reproductiva. En el caso de los ovinos y caprinos, algunas razas han desarrollado desde una marcada estacionalidad reproductiva, mientras que otras razas tienen una moderada o hasta nula estacionalidad, dependiendo de la latitud donde se originaron o se adaptaron. En las zonas templadas del hemisferio norte y sur (latitudes mayores a 40°), los caprinos muestran marcadas variaciones estacionales de su actividad reproductiva (Restall, 1992; Walkden-Brown *et al.*, 1994; Delgadillo *et al.*, 1999; Rivera *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2008). Por ejemplo, en los machos Alpinos y Saanen mantenidos a 46° de latitud norte, la reducción en la duración del día en otoño es acompañada de un aumento en la secreción de testosterona, un aumento de la libido, y un aumento cuantitativo y cualitativo en la producción de semen (Delgadillo *et al.*, 1991; Delgadillo y Chemineau, 1992). Las hembras de razas originarias de latitudes templadas (>40°) también presentan una marcada estacionalidad de su actividad sexual. En cabras de la raza Alpina, por ejemplo, la frecuencia con que ocurren las ovulaciones y el comportamiento de estro varía drásticamente de 0% de marzo a septiembre durante el anestro estacional, a 100% de octubre a febrero durante la estación sexual (Chemineau *et al.*, 1992). La estacionalidad sexual se ha descrito también en algunas razas de cabras originarias o adaptadas a las latitudes subtropicales (Restall, 1992; Rivera *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2008). En las cabras locales del subtrópico mexicano, particularmente las de la Comarca Lagunera, el periodo de actividad sexual inicia en agosto y termina en febrero, mientras que el periodo de anestro se observa de marzo a julio (Duarte *et al.*, 2008).

Durante muchos años se ha tratado de contrarrestar los problemas causados por la estacionalidad reproductiva y para ello se han desarrollado diversos tratamientos. Algunos de ellos incluyen la manipulación del número de horas luz que los animales perciben diariamente. Por ejemplo, se ha logrado inducir la actividad sexual de los machos durante el periodo de reposo sexual al exponerlos en el otoño e invierno (días cortos naturales) a 16 horas de luz por día (días largos artificiales) durante dos meses y medio (Delgadillo *et al.*, 2002). Debido a este tratamiento, los machos manifiestan una intensa actividad sexual durante el periodo de reposo natural (marzo-abril). Una vez sexualmente activos estos machos, son muy eficientes para estimular la actividad sexual (estro y ovulación: Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002) y endocrina (Vielma *et al.*, 2009; Fernández-García *et al.*, 2011) de las cabras anéstricas mediante un fenómeno conocido como efecto macho (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; 2011; Bedos *et al.*, 2010). Sin embargo, algunos factores como las relaciones sociales entre los machos y hembras son de gran importancia, ya que podrían modificar la respuesta sexual de estas hembras al estímulo del macho. Por ejemplo, en ovinos existen estudios que indican que las relaciones jerárquicas de los animales dentro del rebaño, pueden afectar considerablemente su actividad reproductiva. En esta especie, la sola presencia de un carnero dominante, afecta el comportamiento sexual y la fertilidad de los machos subordinados (Synnott y Fulkerson 1984; Ungerfeld y Gonzalez-Pensado, 2009). Al parecer, lo anterior es debido a que los machos subordinados tienen un acceso limitado a las hembras en estro, comparado con los carneros dominantes (Preston *et al.*, 2003). En las hembras pasa un fenómeno similar. Por ejemplo, en las hembras del ciervo rojo (*Cervus elaphus*) se ha demostrado que durante la época de reproducción, las hembras dominantes quedan gestantes antes que las hembras subordinadas (Clutton-Brock *et al.*, 1986). De igual manera, en cabras (*Capra hircus*), se ha demostrado que las hembras con alto y medio rango social ovulan antes que las cabras con bajo rango (Álvarez *et al.*, 2003). Sin embargo, no existen estudios en las hembras estimuladas con machos tratados con días largos sobre el efecto del rango social en la secreción de LH, se desconoce si en las hembras dominantes el pico preovulatorio de LH, la actividad estral y la actividad ovulatoria se presenta antes que en los animales subordinados. Por ello, el objetivo del presente estudio es determinar el efecto del rango social de las hembras caprinas en su respuesta endocrina (LH), sexual (actividad estral y ovulatoria) y reproductiva (tasa de preñez y fertilidad) al ser estimuladas mediante el efecto macho utilizando machos foto-estimulados con 2.5 meses de días largos.

El presente estudio se llevará a cabo en las instalaciones pecuarias del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) ubicadas dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna.

### Animales experimentales

#### Machos

Se utilizarán 6 machos cabríos Criollos adultos de 3.0 años de edad. Estos machos se mantendrán alojados en instalaciones abiertas donde serán sometidos a un tratamiento de días largos artificiales (16 h de luz/día) a partir del 1 de noviembre de 2013 al 15 de enero de 2014 (Delgadillo et al., 2002). Durante el estudio, los machos serán alimentados con heno de alfalfa a libre acceso y 300 gr. de concentrado comercial (14% de P.C.), por día y por animal

#### Hembras

Para determinar si el rango social de las hembras caprinas influye en su respuesta endocrina y reproductiva al efecto macho, se utilizarán 28 hembras adultas de 2.5 años de edad. Estas cabras estarán estabuladas y serán alimentadas con 2.0 kg de heno de alfalfa y 200 gr. de concentrado comercial (14% de P.C.) por día y por animal; el agua y los minerales se proporcionarán a libre acceso. La ciclicidad de las hembras se determinará mediante ultrasonografía transrectal 10 días antes de la introducción de los machos. El criterio para determinar si una hembra esta cíclica, será la presencia de al menos un cuerpo lúteo en los ovarios durante la ecografía (de Castro et al., 1999). Se utilizarán únicamente las hembras anovulatorias que no estén cíclicas (ausencia de cuerpo lúteo).

### Variables a determinar

#### 1). Determinación del rango social en las hembras caprinas

El rango social de cada cabra será determinado mediante un muestreo de comportamiento donde se registrarán las interacciones agonísticas de las hembras durante 5 h por día (07:00-12:00 h) durante 10 días consecutivos (Álvarez et al., 2003). Para ello, se registrará el iniciador, el ganador y el perdedor de cada interacción. A partir de estos registros se creará una matriz de dominio y se calculará un índice de éxito (IE) para cada cabra de acuerdo con el método desarrollado por Galindo y Broom (2000) y Barroso et al. (2000). El IE de una hembra representa la proporción de sus interacciones agonísticas que culminaron cuando un animal desplazó al otro animal (ganar la interacción). Una cabra que gana todas sus interacciones tiene un IE de 1, mientras que un animal que pierde todas sus interacciones tiene un IE de 0. Después de calcular el IE de todas las cabras, se seleccionarán las 10 cabras con la mayor IE y las 10 cabras con el menor IE. Los dos grupos de hembras serán separadas del grupo y serán colocados en corrales aparte y separados entre sí. Cada grupo contará con cinco hembras dominantes y cinco hembras subordinadas.

#### 2). Efecto macho

En el mes de abril (época de reposo sexual natural) dos machos sexualmente activos (tratado previamente con el tratamiento de 2.5 meses de días largos a partir del 1 de noviembre; Delgadillo et al., 2002), serán puestos en contacto con cada grupo de hembras. Los machos permanecerán con las hembras las 24 horas durante 18 días consecutivos.

#### 3). Respuesta endocrina (LH), estral, ovulatoria y reproductiva de las hembras

##### a). Determinación del grado de asociación entre las hembras y el macho

El grado de asociación de las hembras con los machos se registrarán durante los primeros 5 días después de la introducción de los machos. Las actividades de las hembras serán descritos en voz alta por un observador y esta descripción será grabado, durante 4 horas diarias (8:00-12:00 PM), por una cámara de vídeo para facilitar el análisis posterior de los video-grabaciones en el laboratorio. Las grabaciones de vídeo se analizarán con el software Video-Pro Observer (versión 4.0; Noldus, Países Bajos).

##### b). Determinación de la secreción de la LH en las hembras

En cada grupo de hembras se tomarán muestras por punción de la vena yugular cada 20 minutos a partir de 2 horas antes y durante 4 horas después de la introducción de los machos. Todas las muestras sanguíneas serán centrifugadas a 2500 rpm durante 20 minutos y el plasma sanguíneo será separado y congelado hasta la determinación de las concentraciones de LH, la cual se realizará mediante ELISA.

**c). Píco preovulatorio de LH**

Para la determinación del pico preovulatorio de LH, en 5 hembras de cada grupo el muestro sanguíneo continuará durante 4 días consecutivos a intervalos de 4 horas.

**d). Actividad estral**

La actividad estral de todas las hembras de los dos grupos será determinado dos veces por día (8:00 AM y 5:00 PM), durante 15 días. El criterio para determinar una hembra en estro será su inmovilidad o aceptación de la monta por parte del macho (Flores et al., 2000).

**e). Actividad ovulatoria (porcentaje de hembras que ovulan y tasa ovulatoria)**

La actividad ovulatoria de cada hembra será determinada mediante una ecografía transrectal al día 6 y al 18 después de la introducción de los machos. Para ello, se utilizará un equipo de ultrasonido marca ALOKA con un transductor de 7.5 Mhz. La tasa ovulatoria de cada hembra será determinada mediante el número de cuerpos lúteos registrados a al momento de realizar las ecografías al día 6 y 18 después de la introducción de los machos.

**f) Tasa de gestación**

El porcentaje de hembras que resulten gestantes será determinado a los 35 días después de la introducción de los machos mediante una ecografía abdominal. Para ello, se utilizará un equipo de ultrasonido marca Aloka un transductor de 5.0 Mhz.

**g). Fertilidad al parto**

La fertilidad se determina el numero de hembras que paren entre el número de hembras que son estimuladas. Esta variable será determinada al parto.

**4. Análisis de los datos**

Los datos obtenidos de las concentraciones LH serán analizados con un análisis de varianza considerando dos factores (grupo y tiempo del experimento). La tasa de ovulación de las hembras serán analizados con la prueba U de Mann-Whitney. Las proporciones (% de ovulaciones, tasa de gestación y fertilidad) serán comparadas mediante una prueba  $\chi^2$ . para todos los análisis se utilizara el paquete estadístico SYSTAT 10.

**Cronograma de actividades.**

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Tratamiento fotoperiódico de los machos	X											
Determinación del rango social en las hembras			X	X								
Determinación de la actividad endocrina (LH)				X								
Determinación de la actividad sexual de las hembras				X	X							
Determinación de la actividad ovulatoria de las hembras				X	X							
Determinación de la tasa de gestación						X						
Determinación de la fertilidad al parto									X			

**5.-Productos esperados**

- 1 Presentación en un Congreso Internacional
- 1 Tesista de Maestría en Ciencias Agrarias
- 2 Tesista de Licenciatura (Medicina Veterinaria y Zootecnia)
- 1 Artículo científico

**6.-Literatura citada**

Álvarez, L., Martín, G.B., Galindo, F., Zarco, L.A. 2003. Social dominance of female goats affects their response to the male effect. Applied Animal Behaviour Science. 84:119-126.

Bedos, M., Flores, J.A., Fitz-Rodríguez, G., Keller, M., Malpoux, B., Poindron, P., Delgadillo, J.A. 2010. Four hours of daily contact with sexually active males is sufficient to induce fertile ovulation in anestrus goats. Horm. Behav. 58:473-477.

- Bronson, F., 1989. Seasonal strategies: Ultimate factors. In: FH Bronson (Ed.), *Mammalian Reproductive Biology*. University of Chicago Press, Chicago, pp. 28-59.
- Chemineau, P., Daveau A., Maurice F., Delgadillo, J.A. 1992. Seasonality of oestrus and ovulation is not deeply modified by submitting Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rumin. Res.* 8:299-312.
- Clutton-Brock, T.J., Albon, S.D., Binness, F.E. 1986. Great expectations: dominance, breeding success and offspring sex ratios in red deer. *Animal Behaviour*. 34:460-471.
- Delgadillo, J.A., Chemineau, P. 1992. Abolition of seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. *J. Reprod. Fertil.* 94:45-55.
- Delgadillo, J.A., 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., Flores, J.A., Véliz, F.G., Hernández, H.F., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P., Malpoux, B. 2002. Induction of sexual activity of lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J. Anim. Sci.* 80: 2780-2786.
- Duarte, G., Nava-Hernández, M.P. Malpoux, B., Delgadillo, J.A. 2010. Ovulatory activity of female goats adapted to the subtropics is responsive to photoperiod. *Animal Reproduction Science*. 120: 65-70.
- Flores, J.A., Véliz, F.G., Pérez-Villanueva, J.A., Martínez de la Escalera, G., Chemineau, P., Poindron, P., Malpoux, 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.
- Fernández-García, I.G., Luna-Orozco, J.R., Vielma, J., Duarte, G., Hernández, H., Flores, J.A., Gelez, H., Delgadillo, J.A. 2011. Lack of sexual experience does not reduce the responses of LH, estrus or fertility in anestrus goats exposed to sexually active males. *Horm. Behav.* 60:484-488.
- Fowler, D.G., Jenkins, L.D. 1976. The effects of dominance and infertility of rams on reproductive performance. *Appl. Anim. Ethol.* 2:327-337.
- Hulet, C.V., Ercanbrack S.K., Blackwell, R.L., Price, D.A., Wilson, L.O. 1962. Mating behavior of the ram in the multisire pen. *J. Anim. Sci.* 21:865-869.
- Lindsay, D.R., Dunsmore, D.G., Williams, J.D., Syme, G.J. 1976. Audience effects on the mating behaviour of rams. *Anim. Behav.* 24:818-821.
- Restall, B.J. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim. Reprod. Sci.* 27:305-318.
- Rivera, G., Alanís, G., Chaves, M., Ferrero, S., Morello, H., 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Rumin. Res.* 48:109-117.
- Synnot, A.L., Fulkerson, W.J. 1984. Influence of social interaction between rams on their serving capacity. *Appl. Anim. Ethol.* 11:283-289.
- Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J.M., Coltman, D.W., Wilson, K. 2003 Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *Proc. R. Soc. Lond.* 270:633-640.
- Ungerfeld, R., González-Pensado, S. P. 2008. Social rank affects reproductive development in male lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 109:161-171.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzy, R.J., Martin, G.B. 1994. 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.* 102:351-360.