

Los machos cabríos sexualmente activos y vasectomizados estimulan y mantienen la ciclicidad sexual de cabras en anestro estacional

Sexually active vasectomized bucks stimulate and maintain sexual cyclicity in the seasonally anestrus goats

Rodrigo Manuel Aroña¹, Gonzalo Fitz-Rodríguez¹, Horacio Hernández¹, José Alfredo Flores¹, Jesús Vielma¹, Gerardo Duarte¹, Ilda Graciela Fernández¹, José Alberto Delgadillo^{1*}

¹Centro de Investigación en Reproducción Caprina, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México. *Tel.: (52) 871 729 7642; Fax: (52) 871 729 7650. Correo electrónico: joaldesa@yahoo.com [*Autor responsable].

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta ovulatoria y de comportamiento estral de las cabras en anestro estacional, expuestas a los machos vasectomizados sexualmente activos e inactivos. Dos machos cabríos se sometieron a un tratamiento de días largos (16 h de luz por día) del 1 de noviembre al 15 de enero, para estimular su actividad sexual en marzo y abril, en tanto que otros dos se sometieron a las variaciones del fotoperiodo natural. Las cabras multíparas y anovulatorias se dividieron en dos grupos (n = 10 cada uno) de acuerdo con su peso vivo y condición corporal. Un grupo de cabras se expuso a machos sexualmente activos (SA), mientras que otro a machos sexualmente inactivos (SI). El contacto entre machos y hembras fue durante 55 días. La ovulación se determinó con las concentraciones plasmáticas de progesterona, y el comportamiento estral se detectó dos veces cada día. Las cabras del grupo SI no presentaron respuesta estral ni ovulatoria (0/10), mientras que las del grupo SA tuvieron estro y ovularon (10/10; P = 0.0001). De las cabras del grupo SA, la mayoría presentó un ciclo de corta duración (5.3 ± 0.3 d; 7/10), seguido de un ciclo de duración normal (7/7), en tanto que la mayoría de ellas (6/7) presentaron otro ciclo de duración normal. Las del grupo SI, luego de introducir al macho, respondieron (3/10) con un ciclo de duración normal, y después con otro ciclo más. Los machos sexualmente activos, vasectomizados, estimularon y mantuvieron la actividad sexual de las cabras por al menos dos ciclos estrales de duración normal.

Palabras clave: caprinos, efecto macho, estro, ovulación, fotoperiodo, subtrópicos

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the ovulatory and estrus behavior responses of the seasonally anestrus goats exposed to vasectomized sexually active and inactive males. Two bucks were submitted to a day-long treatment (16 h of light per day) from November 1st to January 15th to stimulate their sexual activity in March and April. Another two males were submitted to natural photoperiod conditions. Multiparous and anovulatory goats were divided in two groups (n = 10 each one) balanced for body weight and body condition score. One group of goats was exposed to sexually active males (SA) and the other group of goats was exposed to sexually inactive males (SI). The contact between males and females was during 55 days. Ovulations were determined with plasma concentrations of progesterone. Estrous behavior was detected twice daily. The goats in SI group didn't display ovulatory or estrous behavior responses (0/10), while all the goats in SA group ovulated and displayed estrous behavior (10/10; P = 0.0001). In last group, most of goats displayed a short estrous cycle (5.3 ± 0.3 d; 7/10) followed by a normal estrous cycle (7/7); the majority of them (6/7) showed another normal estrous cycle. The other goats (3/10) displayed a normal estrous cycle after male introduction and after that showed another cycle more. The sexually active vasectomized males stimulate and maintain the sexual activity of the goats in almost two normal estrous cycles.

Key words: caprine, male effect, estrous, ovulation, photoperiod, sub-tropics

INTRODUCCIÓN

La estacionalidad de la reproducción es una característica en algunas razas de cabras desarrolladas en latitudes subtropicales (Delgadillo *et al.*, 2003). En cabras no gestantes, en el hemisferio norte la actividad sexual ocurre de agosto-septiembre a febrero-marzo; la temporada de anestro, en los meses restantes del año (Duarte *et al.*, 2008). En machos de estas razas subtropicales, la actividad sexual ocurre de mayo-junio a diciembre-enero, mientras que el periodo de reposo sexual sucede durante los meses restantes del año (Delgadillo *et al.*, 1999). En ambos sexos, el ritmo anual de reproducción lo controla principalmente el fotoperiodo (Duarte *et al.*, 2010; Delgadillo *et al.*, 2002), por lo que en machos y hembras se utiliza para inducir la actividad sexual durante el anestro estacional (Chemineau *et al.*, 1992; Delgadillo, 2011). Otra posibilidad para estimular la actividad sexual de las hembras anéstricas durante el anestro estacional, es el uso de las relaciones socio-sexuales, particularmente el fenómeno llamado “efecto macho”. Y es que, la introducción de un macho dentro de un grupo de ovejas o cabras anovulatorias estimula el comportamiento de estro y la ovulación (Chemineau *et al.*, 1986, 1987; Delgadillo, 2011; Walkden-Brown *et al.*, 1999). En cabras, la mayoría de las hembras (97%) ovulan alrededor del día tres después de la introducción del macho. Esta primera ovulación se asocia al comportamiento estral de más del 50% de las hembras, seguido, en la mayoría de los casos (75%), de un ciclo de 5.3 días, promedio. Después del ciclo corto, la mayoría de las cabras ovularon una segunda vez, y tuvieron un ciclo ovárico subsecuente de duración normal; este ciclo, que se manifestó después de la introducción del macho, se asoció con el comportamiento estral seguido por un ciclo ovárico de duración normal (Chemineau *et al.*, 1987).

La respuesta sexual de las cabras expuestas a los machos cabríos puede modificarse por el comportamiento sexual de éstos. En efecto, una baja proporción de un grupo de cabras (< 10 %) ovuló cuando se expusieron a machos en reposo sexual. En cambio, la mayoría de las hembras de otro grupo (>90%) ovularon, o cuando se expusieron a machos inducidos a una intensa actividad sexual durante el periodo de reposo sexual mediante la exposición a días largos seguidos del fotoperiodo natural, o por implantes subcutáneos de melatonina (Bedoset *al.*, 2012; Delgadillo *et al.*, 2002; Flores *et al.*, 2000). La respues-

ta a largo plazo de las hembras expuestas a machos fotoestimulados no se ha determinado, porque en la mayoría de los estudios se usaron machos intactos y las hembras quedaban gestantes. El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta ovulatoria y de comportamiento estral de las cabras en anestro estacional, expuestas a los machos vasectomizados sexualmente activos e inactivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en la región de La Laguna, Coahuila, México (Latitud 26°23' N y Longitud 104°47' W). Se usaron machos y cabras locales de esta región (*Caprahircus*). En estas hembras, aisladas de machos, el periodo anovulatorio aparece desde febrero-marzo hasta agosto-septiembre, mientras que el periodo de reposo sexual de los machos va de enero-febrero a mayo-junio (Duarte *et al.*, 2008; Delgadillo *et al.*, 1999). Durante todo el experimento, los animales estuvieron en corrales abiertos y con sombra. Machos y hembras se alimentaron con 2 kg de heno de alfalfa (18% PC) y de 200 g por día de concentrado comercial (14% PC; 1.7 Mcal/kg) por animal, con libre acceso a piedra mineral y agua.

En este trabajo, que inició el 1 de noviembre de 2012 y concluyó el 20 de mayo de 2013, se usaron 20 caprinos locales, cuatro machos y 20 hembras.

Machos

Se utilizaron cuatro machos cabríos vasectomizados de entre dos y cinco años de edad, que se mantuvieron en dos corrales abiertos provistos con sombra. Dos de los machos se sometieron a 2.5 meses de días largos (16 h de luz por día) desde el 1 de noviembre, y del 16 de enero en adelante, se expusieron a las condiciones naturales del fotoperiodo. Este tratamiento fotoperiódico estimuló la actividad sexual de los machos durante el periodo de reposo sexual (Delgadillo, 2011; Delgadillo *et al.*, 2006). Los otros dos machos se expusieron a las condiciones naturales del fotoperiodo (13 h 41 min de luz en el solsticio de verano y 10 h 19 min de luz en el solsticio de invierno) durante todo el estudio. Tanto los machos tratados como los no tratados se seleccionaron aleatoriamente.

Hembras

Se utilizaron 20 cabras múltiparas, en anestro estacional, que tenían entre dos y cuatro años de edad. El 10

de marzo, las hembras se distribuyeron en dos grupos balanceados por peso vivo (PV) y condición corporal (CC; en rangos de 1 a 4; 1 = muy delgada, 4 = gorda; Walkden-Brown *et al.*, 1997). La separación entre los dos grupos fue de alrededor de 200 m, para evitar interferencia entre ellos. Un grupo de hembras (n=10; PV: 32.6 ± 1.9 ; CC: 2.0 ± 0.1 ; Promedio + Error Estándar del Promedio) se expuso a los machos con fotoperiodo, sexualmente activos. El otro grupo (n=10; PV: 32.5 ± 1.8 ; CC: 1.9 ± 0.1) se expuso a machos no tratados con fotoperiodo, sexualmente inactivos.

Efecto macho

El 26 de marzo, a las 08:00 h (día 0), un grupo de hembras se expuso a los machos sexualmente activos, mientras que el otro se puso en contacto con los machos sexualmente inactivos (n=1 por grupo). En ambos grupos de cabras en contacto con machos activos o inactivos, éstos se rotaron dos veces por día: a las 08:00 y 18:00 h, para evitar un efecto individual de los machos, y para prevenir un posible efecto de “novedad” debido al contacto con un macho desconocido (Jorre de St Jorre *et al.*, 2012), uno de ellos que no estaban en contacto con las hembras se alojó, desde la primera introducción, en corrales abiertos adyacentes. Los machos sólo estuvieron separados de las hembras por una barrera de madera, lo que permitió el contacto visual, olfatorio y nariz-nariz entre sexos. Los machos permanecieron con las hembras desde el 26 de marzo hasta el 20 de mayo.

Determinaciones

La actividad ovulatoria se determinó a través de las concentraciones plasmáticas de progesterona, la cual se obtuvo diariamente, del día 0 al 38, con una muestra sanguínea de la vena yugular. Posteriormente, las muestras sanguíneas se obtuvieron cada tres días, hasta el día 51, después de la introducción de los machos. Todas las muestras se obtuvieron a las 08:00 h, en tubos de 5 bml, que contenían heparina. El plasma se obtuvo después de centrifugar las muestras a $3500 \times g$ por 30 min, y se almacenaron a -20°C hasta que se midieron las concentraciones hormonales.

Análisis de progesterona. Las concentraciones de progesterona en plasma se determinaron por análisis inmuno-enzimático, según la técnica descrita por Canépa *et al.* (2008). La sensibilidad del ensayo fue de 0.25 ng/ml. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayos fueron de 3% y 7%. Las hembras que tenían concentraciones plasmáticas de

progesterona ≥ 0.5 ng/ml, se consideró que habían ovulado.

Comportamiento estral. El comportamiento estral se monitoreó dos veces al día, durante todo el experimento, mediante observación visual directa de 08:00 a 09:00 h y de 18:00 a 19:00 h. Si una hembra permanecía inmóvil cuando la montaba el macho, se consideraba en estro. Los ciclos estrales se clasificaron como cortos (<17 días), normales (17-25 días) o largos (> 25 días; Chemineau *et al.*, 1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento estral y ovulatoria a la introducción de los machos

Del grupo de cabras expuestas a los machos sexualmente inactivos, ninguna ovuló o presentó comportamiento estral, mientras que todas lo hicieron ($P = 0.0001$) en el grupo de hembras expuestas a los machos sexualmente activos. La mayoría de las cabras expuestas a los machos fotoestimulados presentaron un ciclo de corta duración, después de la introducción del macho. Todos los ciclos estrales cortos, normales y largos detectados después de la introducción del macho, se asociaron a ovulación. Después del ciclo corto, todas las cabras presentaron ciclo de duración normal, pero otras tuvieron un ciclo de larga duración o entraron en anestro (Figura 1).

De las cabras que presentaron ciclo de duración normal luego de la introducción del macho, todas tuvieron un segundo ciclo. Después, estas cabras presentaron diferentes patrones reproductivos: estro con ovulación, estro sin ovulación y retorno al anestro (Figura 1).

La duración promedio de los ciclos estrales fue de 5.4 ± 0.3 días para los ciclos de corta duración, 21.1 ± 0.4 para los de duración normal y 29.3 ± 1.8 para los de larga duración.

La latencia al estro no fue diferente entre las cabras que presentaron un ciclo de corta duración o normal (44 ± 4.0 vs. 46.3 ± 3.1 h, respectivamente; $P = 0.696$). La duración del primer comportamiento estral no fue diferente entre las cabras que presentaron un ciclo de corta duración, que en aquellas que presentaron un ciclo de duración normal después de la introducción del macho (13.7 ± 1.7 vs. 16 ± 4.0 h, respectivamente; $P = 0.513$), ni en los comportamientos estrales subsecuentes que tuvieron una duración promedio de 17.5 ± 3.5 h.

Grupo con machos sexualmente activos vasectomizados

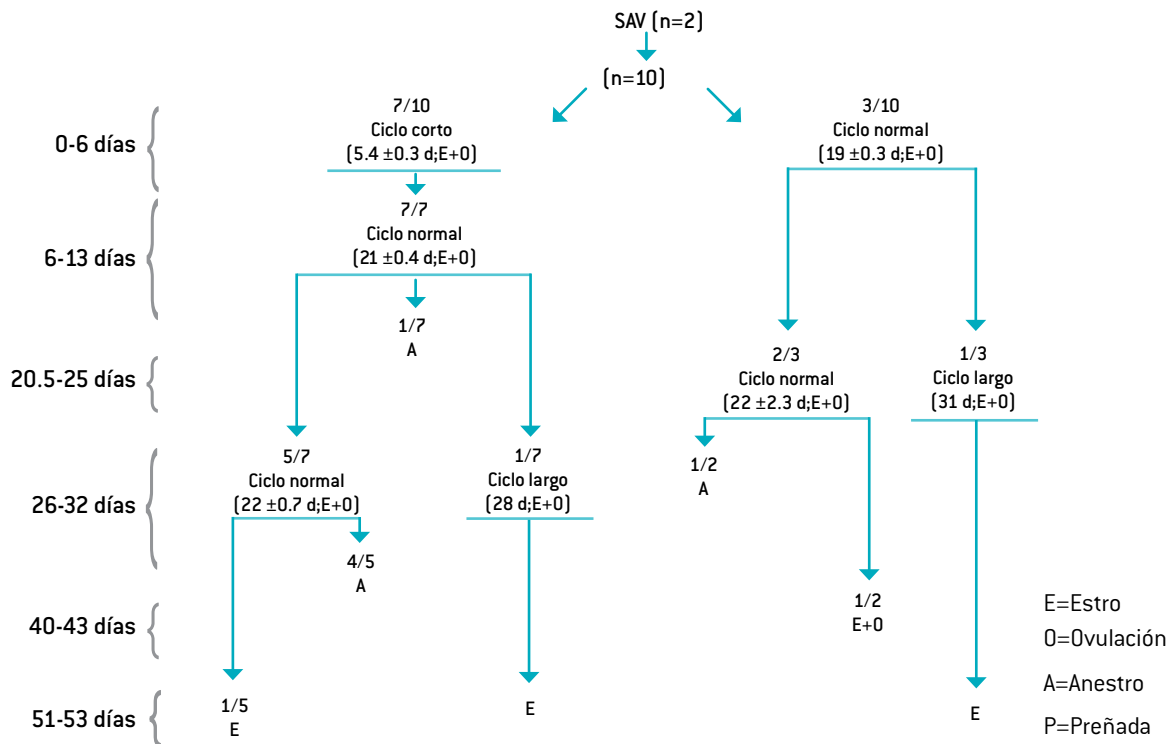


Figura 1. Respuesta estral y ovulatoria de las cabras anéstricas expuestas a machos sexualmente activos vasectomizados (SAV). Los corchetes de la izquierda indican el tiempo en que suceden los eventos que se señalan en la figura. A manera de cascada se muestran los distintos patrones de actividad sexual y ovulatoria que presentaron las cabras en anestro estacional.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que la actividad sexual de las cabras expuestas a los machos fotoestimulados y vasectomizados, perdura después del primer ciclo de duración normal. En efecto, la mayoría de las cabras expuestas a los machos vasectomizados presentaron actividad sexual después de la primera fase lútea de corta duración, la cual se registró después de la introducción de los machos. En conjunto, los resultados del presente estudio confirman la hipótesis de que los machos vasectomizados sexualmente activos disparan, en mayor proporción, las respuestas de comportamiento estral y ovulatoria de las cabras que los vasectomizados, sexualmente inactivos.

La respuesta sexual que se observó en los primeros 15 días del estudio, en las cabras expuestas a

los machos vasectomizados, coinciden con lo descrito anteriormente en diferentes estudios en los que se han utilizado machos fotoestimulados (Delgadillo *et al.*, 2002; Flores *et al.*, 2000; Rivas-Muñoz *et al.*, 2007). Contrariamente a lo observado en los grupos de cabras expuestas a los machos fotoestimulados, en los que ninguna de las cabras en contacto con los machos sexualmente inactivos presentó actividad estral u ovulatoria. Los resultados observados en las hembras expuestas a machos no fotoestimulados son similares a los encontrados con anterioridad en el laboratorio (Delgadillo *et al.*, 2002; Flores *et al.*, 2000; Rivas-Muñoz *et al.*, 2007). Los resultados del presente estudio y los descritos anteriormente confirman que, al utilizar machos fotoestimulados y en reposo sexual, la intensidad de la actividad sexual de los machos es un factor importante para provocar la

actividad sexual de las cabras en anestro estacional (Delgadillo *et al.*, 2002; Vielma *et al.*, 2009). En efecto, la presencia de los machos fotoestimulados mantiene elevada la secreción de LH, lo que permite la ovulación de las cabras durante el anestro estacional (Vielma *et al.*, 2009; Martínez-Alfaro *et al.*, 2014). En el presente estudio, los machos vasectomizados mantuvieron la secreción de LH elevada, lo que permitió prolongar la actividad sexual de las cabras durante el anestro estacional.

Al observar el grupo de cabras expuestas a machos vasectomizados sexualmente activos se detectó que, entre 20 y 25 días después del primer contacto con los machos, la gran mayoría tuvo actividad estral acompañada de ovulación. La respuesta sexual registrada en este grupo coincide con la descrita, de manera esquemática, por Chemineau (1987). En efecto, después de la primera fase lútea de corta duración del grupo de cabras en contacto con los machos vasectomizados, la mayoría presentó actividad sexual en el tiempo señalado. Es interesante señalar que en este grupo, algunas hembras presentaron actividad estral y ovulatoria al final del estudio (Figura 1), lo que sugiere que la presencia de los machos fotoestimulados vasectomizados fue capaz de mantener la actividad sexual de las cabras durante al menos los dos meses que duró el estudio.

El presente diseño experimental no permitió concluir si las cabras expuestas a los machos vasectomizados entraron en anovulación por su insensibilidad a la presencia de los machos vasectomizados, o si la anovulación que se presentó en algunas de ellas fue resultado de que los machos disminuyeron su actividad sexual en el transcurso del estudio. En efecto, la actividad sexual de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de días naturales dura, aproximadamente, 2.5 meses después de ocho semanas de finalizado el tratamiento de días largos, es decir, desde marzo hasta principios de mayo (Delgadillo *et al.*, 2002). Es probable que las hembras presentaran anestro estacional debido a la disminución de la actividad sexual de los machos fotoestimulados. Esta hipótesis se basa en el hecho de que la presencia de machos sometidos a diferentes tratamientos fotoperiódicos que permiten tener machos fotoestimulados vasectomizados durante todo el anestro estacional, evita la aparición de la anovulación estacional. En cambio, la presencia de los machos en reposo sexual no estimulan ni mantienen la actividad sexual durante el anestro estacional (Delgadillo *et al.*, resultados no publicados).

CONCLUSIONES

Los machos fotoestimulados vasectomizados estimulan y mantienen la actividad sexual de las cabras en anestro estacional durante al menos dos ciclos estrales de duración normal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por su asistencia técnica, y a Dolores López por su excelente trabajo secretarial y administrativo. Agradecemos también a Corinne Laclie y Anne Lyse Lainé, del laboratorio de análisis hormonales de la Station de la Physiologie et des comportements del INRA en Nouzilly, Francia, por realizar los análisis de progesterona. Rodrigo Manuel Aroña Serrano recibió el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), con una beca escolar durante sus estudios de Maestría en Ciencias.

LITERATURA CITADA

- 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. *Physiol. Behav.*, 106: 259-263.
- CANÉPA, S., Lainé, A.L. Bluteau, A. Fagu, C., Flon, Ch., Monniaux, D. 2008. Validation d'une méthode immunoenzymatique pour le dosage de la progesterone dans le plasma des ovins et des bovins. *Cahier des Tech del'INRA.*, 64: 19-30.
- CHEMINEAU, P. 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycle in anovulatory goats. A review. *Livest. Prod. Sci.*, 17: 135-147.
- CHEMINEAU, P., Daveau, A., Maurice, F., and Delgadillo, J.A. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rumin. Res.*, 8: 299-312.
- CHEMINEAU, P., Normant, E., Ravault, J.P., and Thimonier, J. 1986. Induction and persistence of pituitary and ovarian activity in the out-of-season lactating dairy goat after a treatment combining a skeleton photoperiod, melatonin and the male effect. *J. Reprod. Fert.*, 78: 497-504.

- DELGADILLO, J.A. 2011. Environmental and social cues can be used in combination to develop sustainable breeding techniques for goat reproduction in the subtropic. *Animal*, 5: 1-8.
- 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., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Malpoux, B. 2003. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. *Vet. Méx.*, 34: 69-79.
- DELGADILLO, J.A., Flores, J.A., Véliz, F.G., Duarte, G., Vielma, J., Hernández, H.F., Fernández, I.G. 2006. Importance of the signals provided by the buck for the success of the male effect in goats. *Reprod. Nutr. Dev.*, 46: 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. *J. Anim. Sci.*, 80: 2780-2786.
- 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. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 35: 362-370.
- 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. *Anim. Reprod. Sci.*, 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 anestrous in female goats. *Biol. Reprod.*, 62: 1409-1414.
- JORRE DE ST. JORRE, T., Hawken, P.A.R. and Martin, G.B. 2012. Role of male novelty and familiarity in male-induced LH secretion in female sheep. *Reprod. Fert. Dev.*, 24: 523-530.
- MARTÍNEZ-ALFARO, J.C., Hernández, H., Flores, J.A., Duarte, G., Fitz-Rodríguez, G., Fernández, I.G., Bedos, M., Chemineau, P., Keller, M., Delgadillo, J.A., Vielma, J. 2014. Importance of intense male sexual behavior for inducing the preovulatory LH surge and ovulation in seasonally anovulatory female goats. *Theriogenology*. Doi:10.1016/j.theriogenology.2014.07.024.
- RIVAS-MUÑOZ, R., Fitz-Rodríguez, G., Poindron, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A. 2007. Stimulation of estrous behavior in grazing female goats by continuous or discontinuous exposure to male. *J. Anim. Sci.*, 85: 1257-1263.
- 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. *Horm. Behav.*, 56: 444-449.
- 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.*, 54: 243-257.
- WALKDEN-BROWN, S.W., Restall, B.J., Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B., Blackberry, M.A. 1997. Seasonality in male Australian Cashmere goats: long term effects of castration and testosterone or oestradiol treatment on changes in LH, FSH and prolactin concentrations, and body growth. *Small Rumin. Res.*, 26: 239-252.