

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Los machos fotoestimulados no incrementan, durante el anestro estacional, los niveles de LH en cabras ovariectomizadas portadoras de un implante subcutáneo de 3 mm de longitud que contiene 17-β estradiol”

**POR
MIRIAM PALACIOS FLORES**

**TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2017

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

“Los machos fotoestimulados no incrementan, durante el anestro estacional, los niveles de LH en cabras ovariectomizadas portadoras de un implante subcutáneo de 3 mm de longitud que contiene 17-β estradiol”

POR
MIRIAM PALACIOS FLORES

TESIS
QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

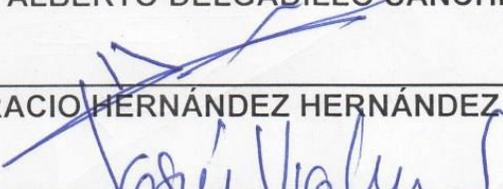
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

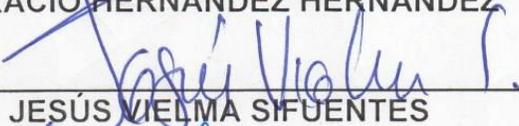
PRESIDENTE:


DR. JOSÉ ALBERTO DELGADILLO SÁNCHEZ

VOCAL:

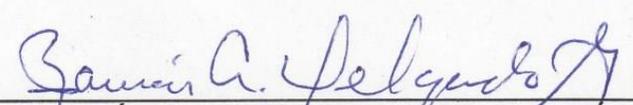

DR. HORACIO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

VOCAL:


DR. JESÚS VIELMA SIFUENTES

VOCAL SUPLENTE:


DR. ALFONSO LONGINOS MUÑOZ BENÍTEZ


DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZALEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

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

“Los machos fotoestimulados no incrementan, durante el anestro estacional, los niveles de LH en cabras ovariectomizadas portadoras de un implante subcutáneo de 3 mm de longitud que contiene 17- β estradiol”

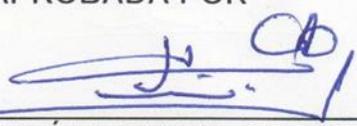
POR
MIRIAM PALACIOS FLORES

TESIS
QUE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ ASESOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

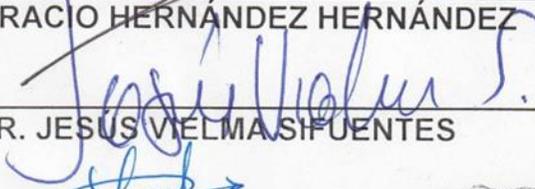
ASESOR PRINCIPAL:


DR. JOSÉ ALBERTO DELGADILLO SÁNCHEZ

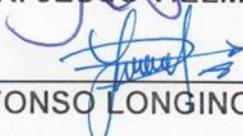
ASESOR:


DR. HORACIO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

ASESOR:


DR. JESÚS VELMA SIFUENTES

ASESOR:


DR. ALFONSO LONGINOS MUÑOZ BENÍTEZ


DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
la División
Regional de Ciencia Animal



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Sergio Palacios González y Verónica Flores Bencomo por haberme dado la vida, la oportunidad y el apoyo incondicional para obtener un logro tan grande como es el convertirme en profesionalista.

A mis hermanas, Gladys Palacios Flores, Gabriela Palacios Flores y L. Alejandra Ruiz Flores, por ser parte de mi familia y darme su ayuda y consejos incondicionalmente.

A mi abuela y demás familia que siempre estuvieron al pendiente de mi bienestar.

A mi Alma Mater, por haberme brindado el espacio y darme una formación como profesionalista.

A mi asesor principal Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez por el apoyo y tiempo que me brindó para que éste trabajo se llevara a cabo.

Al Dr. Alfonso Longinos Muñoz Benítez por el apoyo y dedicación que me ha brindado para realizar este trabajo y por el conocimiento que me ha transmitido, pero sobre todo por la amistad que me ha brindado.

A todos los maestros que durante la carrera me brindaron su conocimiento, amistad y consejos.

A mi comité particular formado por los doctores José Alberto Delgadillo Sánchez, Horacio Hernández Hernández, Jesús Vielma Sifuentes y Alfonso Longinos Muñoz Benítez.

A mis amigos y compañeros de toda la carrera.

¡A TODOS, MUCHAS GRACIAS!

DEDICATORIAS

A Dios, por guiarme en el camino hacia mis sueños, por permitirme haber vivido esta gran experiencia y nunca dejarme sola en medio de las dificultades.

“Me gozaré y me alegraré en tu amor inagotable, porque has visto mis dificultades y te preocupas por la angustia de mi alma. No me entregaste a mis enemigos sino que me pusiste en un lugar seguro.” **Salmo 31: 7-8**

A mis padres, Sergio Palacios González y Verónica Flores Bencomo, por haberme dado la vida, por su amor, cariño y apoyo incondicional. Agradecida infinitamente porque si no fuera por ustedes, no sería lo que ahora soy. Ustedes me enseñaron todo lo que sé de la vida.

“Hijo mío, presta atención cuando tu padre te corrige; no descuides la instrucción de tu madre. Lo que aprendas de ellos te coronará de gracia y será como un collar de honor alrededor de tu cuello.” **Proverbios 1:8-9**

A mis hermanas, Gladys Palacios Flores, Gabriela Palacios Flores, y L. Alejandra Ruiz Flores por todo lo bueno y malo que nos ha tocado vivir juntas, su cariño y amistad incondicional.

“En todo el tiempo ama el amigo; y el hermano para la angustia es nacido.” **Proverbios 17:17**

Al Sr. J. Edmundo Ruiz Chacón, que siempre se sintió orgulloso de mí. Gracias por sus enseñanzas y por siempre creer en mí y en mi capacidad para lograr lo que me propusiera.

“Escucha el consejo y acepta la corrección, para que seas sabio el resto de tus días.” **Proverbios 19:20**

A todos mis amigos que me acompañaron en la carrera, los que estuvieron en las buenas fueron muchos y los que estuvieron en las malas les agradezco infinitamente.

“Hay amigos que llevan a la ruina, pero otros que son más fieles que un hermano” **Proverbios 18:24**

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar si los machos foto estimulados son capaces de inducir un incremento en los niveles plasmáticos de LH en cabras ovariectomizadas portadoras de un implante de estradiol de 3 mm de longitud. En el mes de abril, un grupo de cabras (n=6) se expuso a un macho foto estimulado, y otro grupo de cabras (n=6) se expuso a un macho control, en reposo sexual. Las concentraciones plasmáticas de LH se determinaron cada 15 minutos, 6 horas previas a la introducción del macho (7:00 a 13:00 h), y 6 horas después de la introducción del macho en cada grupo de hembras (13:15 a 19:00 h). Las concentraciones plasmáticas de LH no difirieron entre ambos grupos antes de la introducción del macho ($P > 0.05$). De la misma manera, 6 horas posteriores a la introducción del macho, no existió ninguna diferencia significativa entre las concentraciones plasmáticas de LH de ambos grupos ($P > 0.05$). Estos resultados nos permite concluir que los machos cabríos foto estimulados no incrementan los niveles plasmáticos de LH en cabras ovariectomizadas tratadas con implantes de 3 mm de longitud que contienen estradiol.

Palabras clave: Caprinos, hembras ovariectomizadas, estradiol, anestro estacional, tratamiento fotoperiódico, efecto macho, LH.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Estacionalidad reproductiva de mamíferos silvestres	3
2.2 Estacionalidad reproductiva en ovinos y caprinos.....	3
2.3 El fotoperiodo sincroniza la actividad sexual anual de los caprinos y ovinos .	4
2.4 Retroacción negativa del estradiol sobre el eje hipotálamo-hipofisiario	4
2.5 Inducción de la actividad sexual de los caprinos durante el periodo de reposo sexual.....	6
2.5.1 Inducción de la actividad ovulatoria en hembras caprinas durante el anestro estacional.....	6
2.5.2 Inducción de la actividad sexual de los machos cabríos durante el periodo de reposo sexual.....	7
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
4. OBJETIVO.....	9
5. HIPÓTESIS	9
6. MATERIALES Y MÉTODOS	10
6.1 Generalidades del estudio	10
6.2 Descripción de los animales de estudio	10
6.2.1 Hembras	10
6.2.2 Machos	11
6.3 Efecto macho	11
6.4 Variables medidas.....	12
6.4.1 Hembras	12
6.4.2 Machos	12

6.5 Análisis estadísticos.....	13
7. RESULTADOS.....	14
7.1 Concentraciones plasmáticas de LH.....	14
7.2 Comportamiento sexual de los machos cabríos.....	14
8. DISCUSIÓN.....	16
9. CONCLUSIÓN.....	19
10. LITERATURA CITADA.....	20

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Concentraciones plasmáticas promedio de LH de hembras caprinas OVX portadoras de un implante subcutáneo de 3 mm de longitud que contenía 17- β estradiol, expuestas a un macho fotoestimulado (●) o a un macho control, en reposo sexual (○).....	15
--	----

1. INTRODUCCIÓN

Las hembras caprinas locales de la Comarca Lagunera tienen la particularidad de presentar su reproducción de forma estacional, con un periodo claramente definido de ciclicidad estral y ovulatoria, y otro periodo de inactividad ovárica o anestro estacional (Duarte *et al.*, 2008). La estacionalidad reproductiva está regulada principalmente por las variaciones en el fotoperiodo (Duarte *et al.*, 2010), el cual incrementa la sensibilidad del hipotálamo y la hipófisis a la retroacción negativa del estradiol durante los días crecientes al final del invierno y el inicio de la primavera. La retroacción negativa del estradiol durante el anestro estacional disminuye la secreción de LH y FSH, provocando la interrupción de la actividad estral y ovulatoria (Karsch *et al.*, 1984; Mori *et al.*, 1987; Duarte *et al.*, 2008). Los machos locales de la Comarca Lagunera presentan también un periodo de intensa actividad sexual, y otro de total reposo sexual a lo largo del año (Delgadillo *et al.*, 1999). La actividad sexual de los machos puede estimularse durante el periodo de reposo sexual al someterlos a días largos artificiales en el otoño e invierno (Delgadillo *et al.*, 2002). En las hembras, las relaciones socio-sexuales como lo es el efecto macho, permiten estimular la actividad estral y ovulatoria durante el anestro estacional. Así, la introducción de un macho en un grupo de hembras anéstricas induce las actividades estral y ovulatoria dentro de los primeros días de contacto (Martin *et al.*, 1986; Delgadillo *et al.*, 2009). La proporción de cabras que responden con estro y ovulación al efecto macho, es mayor cuando se utilizan machos fotoestimulados que cuando se utilizan machos en reposo sexual (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo., 2011; Muñoz *et al.*, 2016). De la misma manera que ocurre en

hembras intactas, en ovejas ovariectomizadas portadoras de un implante subcutáneo de estradiol (OVX+E2), el contacto con los machos induce un incremento inmediato en las concentraciones plasmáticas de LH (Martin *et al.*, 1983). En las cabras OVX portadoras de implantes subcutáneos de 12 o 6 mm de longitud que contienen estradiol, las concentraciones plasmáticas de LH se incrementan al ser expuestas a los machos fotoestimulados, pero no a los machos control, en reposo sexual. En el presente estudio se determinó si en las cabras OVX portadoras de un implante subcutáneo de estradiol con 3 mm de longitud, los niveles de LH se incrementan al exponerlas a los machos cabríos fotoestimulados.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Estacionalidad reproductiva de mamíferos silvestres

Algunas especies de mamíferos silvestres han desarrollado la capacidad de manifestar su actividad sexual y/o reproductiva de manera estacional, es decir, solamente durante un determinado periodo del año (Bronson, 1985). Esta adaptación evolutiva tiene como propósito asegurar la supervivencia de las especies, promoviendo que el nacimiento de sus crías ocurra cuando exista una mayor disponibilidad de alimento y mejores condiciones climáticas (Malpaux *et al.*, 2006).

2.2 Estacionalidad reproductiva en ovinos y caprinos

La estacionalidad sexual y/o reproductiva se manifiesta también en algunas especies de animales que han sido domesticados. Así, los machos y hembras de diferentes razas ovinas y caprinas originarias o adaptadas a regiones subtropicales, manifiestan su actividad sexual o reproductiva de manera estacional (Restall, 1992; Duarte *et al.*, 2008; Delgadillo., 2011). En las cabras de la Comarca Lagunera (26° latitud Norte), por ejemplo, la actividad estral y ovulatoria ocurre de septiembre a febrero, mientras que el anestro o anovulación ocurre de marzo a agosto (Duarte *et al.*, 2008). En los machos cabríos locales de la Comarca Lagunera, la actividad sexual es también estacional, y la estación sexual ocurre de mayo a diciembre. Durante estos meses, las concentraciones plasmáticas de testosterona son elevadas, lo que provoca que los machos desplieguen un intenso comportamiento

sexual. En cambio, el reposo sexual de los machos cabríos ocurre de enero a abril. En estos meses disminuyen las concentraciones plasmáticas de testosterona y el comportamiento sexual (Delgadillo *et al.*, 1999).

2.3 El fotoperiodo sincroniza la actividad sexual anual de los caprinos y ovinos

El fotoperiodo, es decir, la cantidad de horas luz que percibe diariamente un animal en el transcurso del año, es el principal factor medioambiental que regula el inicio y el final de la estación sexual en caprinos y ovinos originarios o adaptados a zonas templadas y subtropicales (Chemineau *et al.*, 1992; Gomez-Brunet *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2010; Delgadillo., 2011). En condiciones naturales, el fotoperiodo sincroniza el ritmo endógeno de reproducción, determinando la alternancia entre los periodos de actividad y reposo sexual (Gómez-Brunet *et al.*, 2008; Delgadillo *et al.*, 2011). En condiciones experimentales, los días cortos (10 h de luz/día) estimulan la actividad ovulatoria en las cabras, y la secreción de testosterona en los machos cabríos, mientras que los días largos (14 h de luz/día) inhiben las ovulaciones y disminuyen los niveles plasmáticos de testosterona (Delgadillo *et al.*, 2004; Duarte *et al.*, 2010).

2.4 Retroacción negativa del estradiol sobre el eje hipotálamo-hipofisiario

En hembras ovinas y caprinas intactas, el efecto inhibitorio de los días largos sobre la actividad ovulatoria se debe al incremento de la retroacción negativa del estradiol, el cual disminuye la secreción del GnRH y LH, inhibiendo así la

ovulación (Karsch *et al.*, 1984; Mori *et al.*, 1987; Chemineau *et al.*, 1988; Duarte *et al.*, 2010). En cambio, durante los días cortos, la retroacción negativa del estradiol sobre la LH disminuye, permitiendo que ocurra la ovulación (Karsch *et al.*, 1984; Mori *et al.*, 1987; Chemineau *et al.*, 1988; Duarte *et al.*, 2010).

El efecto del fotoperiodo sobre la secreción de la LH se demostró en las hembras ovariectomizadas portadoras de implantes subcutáneos que liberan constantemente estradiol (OVX+E2). Así, en cabras OVX+E2, las concentraciones plasmáticas de LH se incrementan durante la estación sexual, al disminuir la retroacción negativa del estradiol sobre la LH. En cambio, las concentraciones plasmáticas de la LH disminuyen durante el anestro, al incrementarse la retroacción negativa del estradiol sobre la LH (Henniawati *et al.*, 1995; Duarte *et al.*, 2008). Es importante señalar que en las cabras OVX, los implantes de 6 o 12 mm de longitud, y que contienen estradiol 17- β , son capaces de disminuir las concentraciones plasmáticas de LH durante el anestro estacional (Muñoz *et al.*, 2017). Esta disminución de la LH se debe, muy probablemente, a la retroalimentación negativa que ejerce el estradiol sobre la LH. Estos datos sugieren que los implantes de 6 mm liberan el estradiol suficiente para que éste disminuya la secreción de LH.

2.5 Inducción de la actividad sexual de los caprinos durante el periodo de reposo sexual

2.5.1 Inducción de la actividad ovulatoria en hembras caprinas durante el anestro estacional

En las cabras anéstricas, la actividad estral y ovulatoria puede estimularse al ponerlas en contacto con un macho cabrío que muestre un intenso comportamiento sexual. A este fenómeno de bioestimulación sexual se le llama “efecto macho” (Chemineau, 1987; Delgadillo *et al.*, 2006). La respuesta inmediata de las hembras a la exposición al macho ocurre en los primeros 5 minutos, y consiste en el incremento de las concentraciones plasmáticas de LH. La respuesta sexual de las hembras ocurre en los primeros 5 días de contacto con el macho, y consiste en la presentación del estro y la ovulación (Chemineau, 1987; Bedos *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2016). De la misma manera que en las hembras intactas, en las cabras OVX que portan implantes subcutáneos de 12 o 6 mm de longitud y que contienen estradiol, las concentraciones plasmáticas de LH se incrementan solamente cuando se exponen a machos cabríos fotoestimulados; ningún incremento de LH se observó cuando se expusieron a machos control, en reposo sexual (Muñoz *et al.*, 2017; Joaquín, 2017).

2.5.2 Inducción de la actividad sexual de los machos cabríos durante el periodo de reposo sexual

La actividad sexual de los machos cabríos puede ser estimulada durante el periodo de reposo sexual al ser sometidos a un tratamiento fotoperiódico de 2.5 meses de días largos artificiales a partir del 1 de noviembre seguidos de la exposición a las variaciones naturales del fotoperiodo. Este tratamiento lumínico estimula el incremento en las concentraciones plasmáticas de testosterona, el olor, y la intensidad del comportamiento sexual durante el periodo de reposo sexual natural. El efecto del tratamiento lumínico dura aproximadamente 2 meses (Delgadillo *et al.*, 2002; Ponce *et al.*, 2015).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las cabras ovariectomizadas, los implantes de 6 mm de longitud que contienen estradiol, disminuyen las concentraciones plasmáticas de LH en el anestro estacional, probablemente por la fuerte retroacción negativa que el estradiol ejerce sobre la secreción de LH. En estas cabras, las concentraciones plasmáticas de LH se incrementan al ser expuestas a los machos cabríos fotoestimulados. Es probable que los machos fotoestimulados disminuyan la retroacción negativa del estradiol sobre la LH. En las cabras ovariectomizadas no se sabe si la introducción de los machos fotoestimulados incrementan las concentraciones plasmáticas de LH en las hembras que portan implantes subcutáneos de 3 mm de longitud que contienen estradiol 17- β .

4. OBJETIVO

Determinar si la introducción de machos cabríos fotoestimulados incrementa las concentraciones plasmáticas de LH en cabras portadoras de implantes de 3 mm de longitud que contienen estradiol 17- β .

5. HIPÓTESIS

La introducción de los machos cabríos fotoestimulados incrementa las concentraciones plasmáticas de LH en cabras portadoras de implantes de 3 mm de longitud que contienen estradiol 17- β .

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Generalidades del estudio

El estudio se realizó en la Comarca Lagunera (latitud 26° 23´ Norte, longitud 104° 47´ Oeste), en el estado de Coahuila, dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. En esta Comarca, el fotoperiodo anual varía de 13 h 41 min en el solsticio de verano, a 10 h 19 min en el solsticio de invierno. Los machos y las hembras que se utilizaron en este estudio se alojaron en corrales abiertos provistos de sombra. La alimentación diaria por animal consistió en 2 kg de heno de alfalfa (18% PC) y 200 g de concentrado comercial (14% PC, 1.7 Mcal/kg); el agua y las sales minerales se proporcionaron a libre acceso. Las hembras se ovariectomizaron en febrero según el método descrito previamente en ovejas (Goodman *et al.*, 1982; Montgomery *et al.*, 1985). Inmediatamente después de realizar la ovariectomía, a cada cabra se le colocó un implante subcutáneo Silastic de 12 mm de longitud que contenía 17- β estradiol (Sigma Chemical Co., Strasbourg, Francia; diámetro interno 3.35 mm y diámetro externo 4.65 mm), con el fin de evitar el incremento en la secreción de LH debido a la ausencia de estradiol endógeno (Malpoux *et al.*, 1988; Duarte *et al.*, 2008).

6.2 Descripción de los animales de estudio

6.2.1 Hembras

Se utilizaron 12 hembras caprinas multíparas. La edad variaba entre 2 y 4 años al inicio del estudio (condición corporal 3.2 ± 0.3 ; promedio \pm Error Estándar del

Promedio: EEP). El 1 de abril, a cada una de las hembras se les retiró el implante de 12 mm que portaban, y se les colocó un implante subcutáneo Silastic de 3 mm de longitud que contenía 17- β estradiol. Dichos implantes se mantuvieron en solución salina fisiológica durante 24 horas previas a su colocación, con la finalidad de evitar una liberación masiva de estradiol al ser colocados en las cabras.

6.2.2 Machos

Se utilizaron 4 machos cabríos adultos de 3 años de edad. Dos machos se mantuvieron en condiciones naturales de fotoperiodo, y los otros dos machos se sometieron a un tratamiento fotoperiódico de días largos artificiales, con la finalidad de estimular su actividad sexual durante el periodo de reposo sexual natural, es decir, en marzo y abril. En efecto, estos machos se alojaron en un corral abierto provisto con sombra, y se sometieron a días largos artificiales del 1 de noviembre al 15 de enero (16 horas de luz / 8 horas de oscuridad). La luz artificial se proporcionó de 6:00 a 8:00 h y de 17:00 a 22:00 h; la intensidad luminosa fue de 300 lux a nivel de los ojos de los animales. A partir del 16 de enero, los machos se expusieron a las variaciones fotoperiódicas naturales hasta finalizar el estudio.

6.3 Efecto macho

El 11 de abril, se formaron dos grupos de hembras y se pusieron en contacto directo con los machos a las 13:00 h. Un grupo de cabras (n=6) se expuso a un macho fotoestimulado; otro grupo de cabras (n=6) se expuso a un macho control,

en reposo sexual. La distancia entre los dos grupos de cabras fue por lo menos 200 m, con la finalidad de evitar cualquier interferencia entre grupos.

6.4 Variables medidas

6.4.1 Hembras

Las concentraciones plasmáticas de LH se determinaron cada 15 minutos, 6 horas previas a la introducción del macho (7:00 a 13:00 h), y 6 horas después de la introducción del macho en cada grupo de hembras (13:15 a 19:00 h). Todas las muestras sanguíneas se obtuvieron por venopunción yugular, y se colocaron en tubos que contenían 30 μ L de heparina como anticoagulante. Inmediatamente después de la obtención, las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 30 minutos. Las muestras de plasma sanguíneo obtenidas se almacenaron a -20°C hasta la determinación de los niveles de LH por RIA, de acuerdo a la técnica descrita previamente por Faure *et al.* (2005). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng/mL y el coeficiente de variación intra-ensayo fue de 5.5%. Todas las muestras fueron analizadas en un solo ensayo.

6.4.2 Machos

El comportamiento sexual (aproximaciones) desplegado por los machos se registró de manera individual durante 15 minutos (de 13:00 a 13:15 h) inmediatamente después de la introducción de los machos en los grupos de hembras.

6.5 Análisis estadísticos

Los valores de concentración de la LH no mostraron distribución normal, por lo que se transformaron logarítmicamente antes de realizar los análisis estadísticos con el fin de aproximarlos a la normalidad. Las concentraciones plasmáticas de LH se compararon mediante un ANOVA con medidas repetidas a dos factores: tiempo y grupo. Después, se calculó el promedio de las concentraciones plasmáticas de LH por periodos de 6 horas (6 horas previas a la introducción de los machos y 6 horas después de la introducción de los machos). Estos periodos se analizaron mediante un ANOVA a un factor (grupo). El número total de aproximaciones desplegadas por el macho fotoestimulado y el macho control se compararon usando la prueba de Chi-cuadrada. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el paquete estadístico SYSTAT 13 (Systat software, San José, California).

7. RESULTADOS

7.1 Concentraciones plasmáticas de LH

En los dos grupos de cabras, la evolución de las concentraciones plasmáticas de LH variaron durante el estudio (efecto del tiempo: $P < 0.05$), pero estas variaciones no fueron afectadas por el grupo (efecto del grupo: $P > 0.05$). Además, la interacción tiempo y grupo no alcanzó diferencia significativa ($P > 0.05$). Antes de la introducción de los machos en cada grupo de cabras, las concentraciones plasmáticas promedio de LH no fueron diferentes entre los grupos de hembras (1.49 ± 0.40 ng/mL vs. 1.47 ± 0.43 ng/mL; $P > 0.05$; Figura 1). Después de la introducción de los machos, las concentraciones plasmáticas de LH aumentaron en los dos grupos de hembras ($P < 0.05$), pero no fueron diferentes entre las cabras después expuestas al macho fotoestimulado (2.39 ± 0.39 ng/mL) o al macho control (2.23 ± 0.55 ; $P > 0.05$; Figura 1).

7.2 Comportamiento sexual de los machos cabríos

El número total de aproximaciones fue superior en el macho fotoestimulado que en el macho control (36 vs 0; $P < 0.05$).

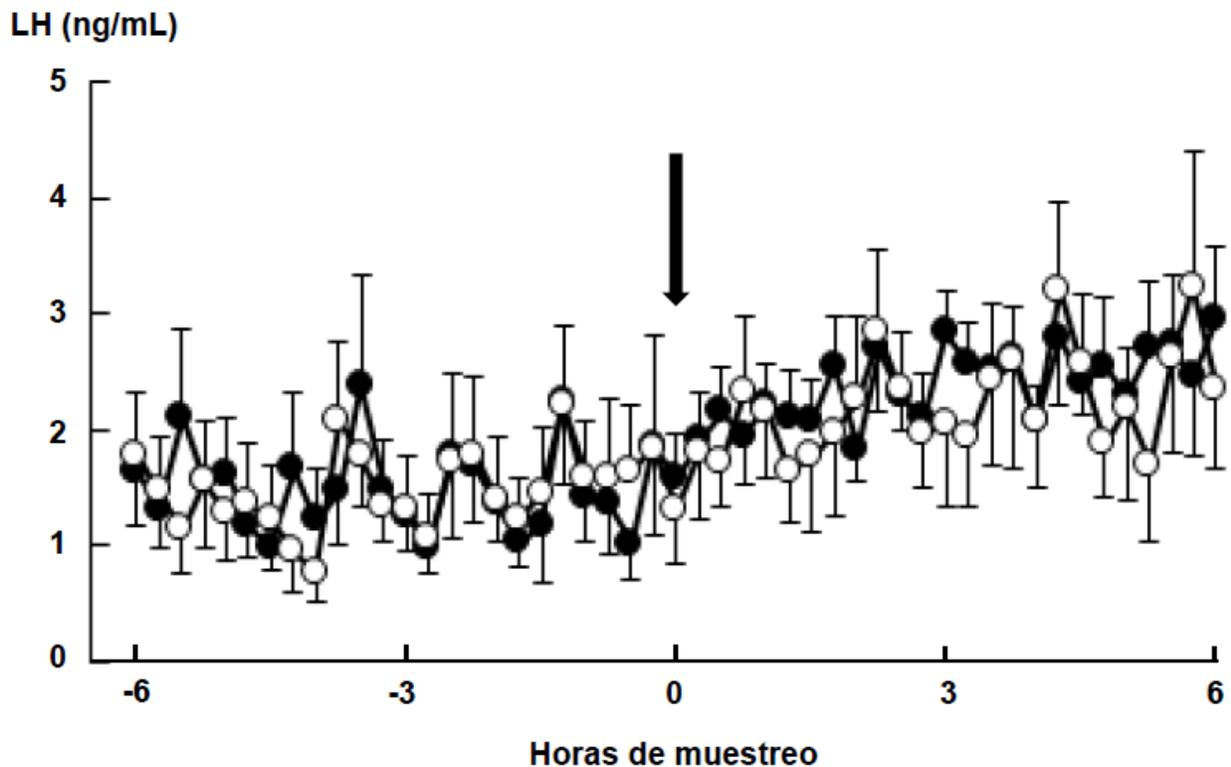


Figura 1. Concentraciones plasmáticas de LH (promedio \pm EEP) de hembras caprinas OVX portadoras de un implante subcutáneo de 3 mm de longitud que contenía 17- β estradiol. Un grupo de cabras se expuso a un macho fotoestimulado (●); otro grupo de cabras se expuso a un macho control, en reposo sexual (○). El macho fotoestimulado se sometió a un tratamiento fotoperiódico de 2.5 meses de días largos artificiales a partir del 1 de noviembre seguido de la exposición al fotoperiodo natural. El macho control se expuso a las variaciones fotoperiodo natural. ↓ Indica el momento de la introducción de los machos en cada grupo de cabras.

8. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que la introducción de los machos fotoestimulados no incrementan las concentraciones plasmáticas de LH en cabras ovariectomizadas que portan implantes subcutáneos de 3 mm de longitud que contienen estradiol 17- β . En efecto, las concentraciones plasmáticas de LH no fueron diferentes entre las cabras expuestas al macho fotoestimulado o control. Estos resultados rechazan la hipótesis del estudio, e indican que en las cabras portadoras de implantes subcutáneos de 3 mm de longitud, los machos fotoestimulados no incrementan los niveles de LH, debido, muy probablemente, a las concentraciones elevadas de esta hormona antes de la introducción de los machos fotoestimulado o control.

En el presente estudio, las concentraciones plasmáticas de LH no fueron diferentes entre ambos grupos de cabras antes de la introducción del macho fotoestimulado o control. Sin embargo, los valores de las concentraciones plasmáticas de LH del presente estudio son superiores a las registradas en cabras que portaban implantes de 6 o 12 mm de longitud (Muñoz *et al.*, 2017; Joaquín, 2017). La superioridad en las concentraciones plasmáticas de LH registradas en el presente estudio se debe, muy probablemente, a que el estradiol liberado por los implantes de 3 mm no fue suficiente para ejercer una fuerte retroacción negativa sobre la LH. En efecto, la longitud de los implantes determina la liberación de estradiol, y por tanto, la fuerza de la retroacción negativa del estradiol sobre la LH. Así, en las cabras ovariectomizadas, las concentraciones de LH son inferiores cuando a las cabras se les colocan implantes de 40 mm que en aquellas que portan

implantes de 10 mm de longitud (Duarte *et al.*, 2008). En conjunto, estos resultados sugieren que en el presente estudio, los implantes de estradiol de 3 mm de longitud, provocaron una débil retroacción negativa, permitiendo que las concentraciones plasmáticas de LH fueran de alrededor de 1.5 ng/mL.

Después de la introducción de los machos fotoestimulado y control, las concentraciones plasmáticas de la LH aumentaron, pero no difirieron entre los grupos de cabras. Estos resultados difieren de los reportados recientemente en cabras OVX que portaban implantes de estradiol de 6 o 12 mm de longitud, y que se expusieron a machos fotoestimulados o control (Muñoz *et al.*, 2017; Joaquín, 2017). En estos estudios, la LH se incrementó en las cabras expuestas a los machos fotoestimulados, pero no en las hembras expuestas a los machos control. La diferencia entre los resultados del presente estudio y los mencionados anteriormente pueden explicarse de la siguiente manera: i) En el presente estudio, los niveles de LH antes de la introducción de los machos fue superior que en las cabras utilizadas por Muñoz *et al* (2017) y Joaquín (2017). Esta diferencia se debe, muy probablemente, a la diferente longitud de los implantes de estradiol utilizados en cada estudio, y de la cual depende la cantidad de estradiol liberada por los implantes. Los implantes de 3 mm de longitud liberaron, muy probablemente, poco estradiol que indujo una débil retroacción negativa sobre la LH, lo que explica los altos niveles de LH antes de la introducción de los machos. ii) Debido a las altas concentraciones de LH antes de introducir los machos, la introducción de éstos no estimuló de manera diferenciada la secreción de LH, tal y como se demostró en ovejas (Martin *et al.*, 1983). Por ello, en nuestro estudio la secreción de LH fue similar entre las cabras expuestas al macho fotoestimulado o control. En conjunto,

estos resultados sugieren que es necesario una fuerte inhibición de la LH para que los machos fotoestimulados, a través del efecto macho, incrementen las concentraciones plasmáticas de LH en cabras durante el anestro estacional.

En el presente estudio, el macho fotoestimulado desplegó un mayor número de aproximaciones que el macho control, lo que coincide con otros estudios publicados previamente en caprinos (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2016). Sin embargo, y contrariamente a lo reportado recientemente (Muñoz *et al.*, 2017; Joaquín, 2017), el macho fotoestimulado no incrementó la secreción de LH en las cabras más que el macho control. La probable débil retroacción negativa ejercida por el estradiol sobre la LH en el presente estudio, puede explicar la falta de diferencia de los niveles de LH entre las cabras expuestas al macho fotoestimulado y al control.

9. CONCLUSIÓN

Los resultados del presente estudio permiten concluir que las concentraciones plasmáticas de LH no son diferentes en cabras expuestas a un macho fotoestimulado o control, cuando las cabras portan un implante subcutáneo de estradiol de 3 mm de longitud. Esta falta de diferencia entre los grupos de cabras se debe, muy probablemente, a la débil retroacción negativa del estradiol sobre la LH, debida a la reducida cantidad de estradiol liberado por los implantes.

10. LITERATURA CITADA

- 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 24h 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.
- Bronson, F.H. 1985. Mammalian reproduction: an ecological perspective. *Biology of Reproduction*. 32: 1-26.
- Chemineau, P. 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and estrous cycles in anovulatory goats a review. *Livestock Production Science*. 17: 135-147.
- Chemineau, P., Pelletier, J., Guérin, Y., Colas, G., Ravault, J., Touré, G., Almeida, G., Thimonier, J., Ortavant, R. 1988. Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reproduction Nutrition and Development*. 28: 409-422.
- Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F., Delgadillo, J.A. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Ruminant Research*. 28: 299-312.
- 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., 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., Cortez, M. E., Duarte, G., Chemineau, P., Malpoux, B. 2004. Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. *Reproduction Nutrition and Development*. 44: 183-193.

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., 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. 2011. Environmental and social cues can be used in combination to develop sustainable breeding techniques for goat reproduction in the subtropics. *Animal*. 5 (1): 74-81.

- Delgadillo, J.A., De la Torre-Villegas, S., Arellano-Solis, V., Duarte, G., Malpoux, B. 2011. Refractoriness to short and long days determines the end and onset of the breeding season in subtropical goats. *Theriogenology*. 76: 1146-1151.
- 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.
- 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.
- Faure, M.O., Nicol, L., Fabre, S., Fontaine, J., Mohoric, N., McNeilly, A., Taragnat, C. 2005. BMP-4 inhibits follicle-stimulating hormone secretion in ewe pituitary. *Journal of Endocrinology*. 186: 109–121.
- 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. *Biology of Reproduction*. 62: 1409–1414.
- Gómez-Brunet, A., Santiago-Moreno, J., Del Campo, A., Malpoux, B., Chemineau, P., Tortonese, D.J., Gonzalez-Bulnes, A., López-Sebastian, A. 2008. Endogenous circannual cycles of ovarian activity and changes in prolactin and melatonin secretion in wild and domestic female sheep maintained under a long-day photoperiod. *Biology of Reproduction*. 78: 552-562.

- Goodman R.L., Bittman E.L., Foster D.L., Karsch F.J. 1982. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biology of Reproduction*. 27: 580-589.
- Henniawati, Restall, B.J., Scaramuzzi, R.J. 1995. Effect of season on LH secretion in ovariectomized Australian cashmere does. *Journal of Reproduction and Fertility*. 103: 349-356.
- Joaquín C., A. 2017. Los machos fotoestimulados incrementan, durante el anestro, los niveles plasmáticos de LH, en cabras ovariectomizadas que portan un implante subcutáneo de 6 mm de longitud que contiene 17- β estradiol. Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Torreón, Coahuila, México. 35 p. En prensa.
- Karsch, F.J., Bittman, E.L., Foster. D.L., Goodman, R.L., Legan, S.J., Robinson, J.E. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormone Research*. 40: 185-232.
- Malpaux, B., Robinson, J.E., Brown, M., Karsch, F. 1988. Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of the breeding season in the Suffolk ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 83: 461-470.
- Malpaux, B. 2006. Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: Neill, J.D., editor, *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. 3rd ed. Elsevier, New York. 2231–2281.

- Martin, G., Scaramuzzi, R., Lindsay, D.R. 1983. Effect of the introduction of rams during the anestrous season on the pulsatile secretion of LH in ovariectomized ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 67: 47-55.
- Martin, G.B., Oldham, C.M., Cognié, Y., Pearce, D.T. 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams — A review. *Livestock Production Science*. 15: 219–247.
- Montgomery, G.W., Martin G.B., Pelletier, J. 1985. Changes in pulsatile LH secretion after ovariectomy in Ile-de-France ewes in two seasons. *Journal of Reproduction and Fertility*. 73: 173–183.
- Mori, Y., Tanaka, M., Maeda, K., Hoshino, K., Kano, Y. 1987. Photoperiodic modification of negative and positive feedback effects of oestradiol on LH secretion in ovariectomized goats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 80: 523-529.
- Muñoz, A.L., Bedos, M., Aroña, R.M., Flores, J.A., Hernández, H., Moussu, C., Briefer, E.F., Chemineau, P., Keller, M., Delgadillo, J.A. 2016. Efficiency of the male effect with photostimulated bucks does not depend on their familiarity with goats. *Physiology and Behavior*. 158: 137–142.
- Muñoz, A.L., Chesneau, D., Hernández, H., Bedos, M., Duarte, G., Vielma, J., Zarazaga, L.A., Chemineau, P., Keller, M., Delgadillo, J.A. 2017. Sexually active bucks counterbalance the seasonal negative feedback of estradiol on LH in ovariectomized goats. *Domestic Animal Endocrinology*. 60: 42-49.

Ponce, J. L., Hernández, H., Flores, J. A., Keller, M., Chemineau, P., Delgadillo, J.

A. 2015. One day of contact with photostimulated bucks is sufficient to induce ovulation in seasonally anestrous goats. *Theriogenology*. 84: 880-886.

Restall, B.J. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats.

Animal Reproduction Science. 27: 305-318.

SYSTAT 13, 2009. Cranes Software International Ltd, San José, CA. USA.