

**La supresión del comportamiento sexual, así como de las señales
visuales y táctiles emitidas por los machos cabríos impiden la
respuesta endocrina y ovulatoria de las hembras anovulatorias
sometidas al efecto macho**

JUAN CARLOS MARTÍNEZ ALFARO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

Director de tesis: Dr. Jesús Vielma Sifuentes

Torreón, Coahuila, México.

Julio de 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

LA SUPRESIÓN DEL COMPORTAMIENTO SEXUAL, ASÍ COMO DE LAS SEÑALES VISUALES Y TÁCTILES EMITIDAS POR LOS MACHOS CABRÍOS IMPIDEN LA RESPUESTA ENDOCRINA Y OVULATORIA DE LAS HEMBRAS ANOVULATORIAS SOMETIDAS AL EFECTO MACHO

TESIS POR:

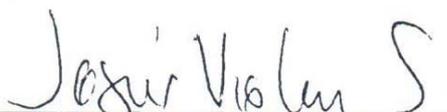
JUAN CARLOS MARTÍNEZ ALFARO

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para optar por el grado de:

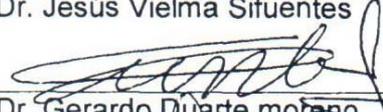
DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS

COMITÉ PARTICULAR

Asesor Principal:


Dr. Jesús Vielma Sifuentes

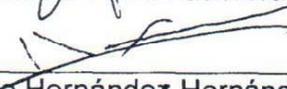
Asesor.


Dr. Gerardo Duarte Moreno

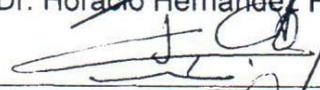
Asesor.


Dr. José Alfredo Flores Cabrera

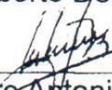
Asesor:


Dr. Horacio Hernández Hernández

Asesor:


Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez


Dr. Fernando Ruíz Zarate
Subdirector de Postgrado


Dr. Pedro Antonio Robles Trillo
Jefe del Departamento de Postgrado

Torreón, Coahuila, México. Julio de 2013.

Agradecimientos

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por albergarme en sus instalaciones y proporcionarme los medios adecuados para mi formación doctoral.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo de manutención durante la realización de mis estudios.

Al **Dr. Jesús Vielma Sifuentes** por su dedicación y apoyo incondicional durante la realización de mi formación académica.

Al **Dr. Gerardo Duarte Moreno** por su gran apoyo incondicional en mi formación académica, pero sobre todo en el apoyo técnico y metodológico de mis trabajos experimentales.

A mi Comité particular de asesoría: **Dr. José Alfredo Flores Cabrera, Dr. Horacio Hernández Hernández, Dr. José Alfredo Delgadillo Sánchez**, por contribuir grandemente en mi formación académica durante mi estancia en el postgrado.

A las secretarías, **Aurelia Nájera Y Esther Peña Revuelta**, por su enorme apoyo secretarial y logístico pero sobre todo por el enorme apoyo humano durante mi estancia en el postgrado.

Dedicatoria

A mis padres

Alejandro Martínez Zarate y Lucinda Alfaro

Por su enorme apoyo, confianza y amor, pero sobre todo por su valiosa enseñanza basada en valores, que han forjado mi carácter y tenacidad, sin ellos no hubiera no hubiera sido posible.

A mi hermano

Jorge Alejandro Martínez Alfaro

Por su apoyo cariño y comprensión a pesar de la distancia, la nostalgia y la melancolía.

A mi hermana

María del Carmen Martínez Alfaro

Por su valioso apoyo, en los tiempos más difíciles, por compartir conmigo, las alegrías y penas, éxitos y fracasos...por estar pendiente...por estar siempre conmigo.

A mis sobrinos

Kamila, Alejandro y Jesús Eduardo

Como recompensa por no haber estado presente en algunos momentos importantes de sus vidas como en sus cumpleaños, graduaciones, bailables, poesías y demás actividades academias, culturales y deportivas.

"...sin un puñado de lugares y personas que pueblan nuestros recuerdos y los tiñen de melancolía, la sensación cálida de que no importa donde estemos, siempre habrá un lugar al que podemos volver..."

Mario Vargas Llosa

COMPENDIO

La supresión del comportamiento sexual, así como de las señales visuales y táctiles emitidas por los machos cabríos impiden la respuesta endocrina y ovulatoria de las hembras anovulatorias sometidas al efecto macho

Por

JUAN CARLOS MARTINEZ ALFARO

DOCTORADO EN CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Director de Tesis: Jesús Vielma Sifuentes

Torreón, Coahuila, México, Julio de 2013.

Palabras clave: *Comportamiento sexual, señales exteroceptivas, anestro estacional, caprinos, efecto macho*

El efecto macho es un fenómeno multisensorial, en el que están involucradas las diferentes señales sensoriales, como las señales visuales, vocales, olfatorias y táctiles; así como las conductas sexuales que emite el macho durante el cortejo sexual. En ovinos y caprinos, este fenómeno induce de manera sincronizada la actividad sexual y ovulatoria de las hembras anéstricas. Tanto en ovejas como en cabras, se han estudiado de manera parcial el papel que desempeñan las diferentes señales separadamente en la respuesta sexual y ovulatoria de las

hembras. Sin embargo, la mayor respuesta se obtiene cuando las señales actúan de manera conjunta. Un intenso comportamiento sexual de los machos cabríos incrementa la secreción pulsátil de LH y la ovulación de las hembras anovulatorias en anestro estacional. Se realizaron dos estudios para determinar si la supresión del comportamiento sexual, y de las señales visuales y táctiles de los machos cabríos impiden la respuesta endocrina y ovulatoria de las cabras anovulatorias sometidas al efecto macho.

Estudio 1.

La introducción de machos sexualmente activos en un grupo de cabras anovulatorias induce la actividad estral y ovulatoria. Un intenso comportamiento sexual de los machos cabríos es necesario para mantener la alta secreción pulsátil de LH de las cabras en anestro estacional. Se utilizaron en total cuatro machos cabríos adultos sexualmente experimentados, los cuales fueron foto-estimulados mediante tratamiento de días largos artificiales (16 h luz/día, del 1 de noviembre al 15 de enero) para estimular su actividad sexual durante el periodo en Marzo y Abril que corresponde al periodo de reposo sexual, y dos machos en reposo sexual, los cuales permanecieron percibiendo las variaciones naturales del fotoperiodo local (26° de latitud N). Dos días antes de iniciar el experimento, el comportamiento sexual de los cuatro machos se evaluó mediante la medición de aproximaciones, olfateos ano-genitales, intentos de montas y conducta de flehmen, durante 10 minutos cuando fueron expuestas hembras en estro. Los cuatro machos manifestaron despliegue de todas las conductas del cortejo sexual y tuvieron un fuerte olor al inicio del experimento (rango 3; en escala de 0 a 3). Se

utilizaron 40 hembras caprinas locales multíparas, divididas en dos grupos (n=20 por cada grupo). Uno de los grupos de hembras fue expuesto a dos machos con un intenso comportamiento sexual (Grupo sexualmente activo). EL Otro grupo de hembras fue expuesto a dos machos sedados con Xilacina® al 2%, para impedir el despliegue del comportamiento sexual (Grupo sedado). Las hembras de este grupo permanecieron en contacto físico total y contacto visual y olfatorio. Los machos permanecieron con las hembras durante cuatro días, en sus respectivos grupos. El pico preovulatorio de LH fue evaluada en 10 cabras (subgrupo) de cada grupo, mediante las concentraciones plasmáticas de LH a través de la obtención de muestras sanguíneas cada 3 horas durante 4 días. En todas las hembras de cada grupo se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona cada 24 horas durante 12 días, para determinar la ovulación. La proporción de cabras que mostraron pico preovulatorio de LH y ovulación fue diferente ($P < 0.0001$) entre los grupos. La proporción de cabras que mostraron pico preovulatorio de LH fue mayor ($P < 0.0001$) en el grupo expuesto a machos sexualmente activos (10/10), respecto al grupo de cabras expuesto a machos sedados (0/10). La proporción de las cabras que mostraron ovulación fue mayor ($P < 0.0001$) en el grupo sexualmente activo, que en el grupo sedado (19/20 vs 0/20). Se concluye que el intenso comportamiento sexual de los machos cabríos es necesario para inducir el pico preovulatorio de LH y la ovulación en cabras anovulatorias en reposo sexual, y que el olor y la presencia física de los machos cabríos no son suficientes para inducir la respuesta endocrina y ovulatoria de las cabras anovulatorias.

Estudio 2.

Un elevado porcentaje de cabras anovulatorias manifiestan actividad estral y ovárica si son estimuladas por machos sexualmente activos. La respuesta de mayor amplitud de las hembras se obtiene cuando están en contacto total con machos a los que pueden ver, tener contacto físico, oler, escuchar sus vocalizaciones y percibir las conductas del cortejo sexual. En el presente estudio, se utilizaron en total ocho machos, seis de éstos machos fueron foto-estimulados mediante tratamiento de días largos artificiales (16 h luz/día, del 1 de noviembre al 15 de enero) para inducir su actividad sexual durante el periodo de reposo sexual; y dos machos en reposo sexual, los cuales percibieron las variaciones naturales del fotoperiodo local (26° de latitud N). Se utilizaron 60 hembras caprinas locales, multíparas, divididas en cuatro grupos (n=15 por cada grupo). Uno de los cuatro grupos de hembras fue expuesto a contacto físico total con 2 machos en reposo sexual (Grupo contacto total SI). Un segundo grupo de hembras fue expuesto a contacto restringido con dos machos foto-estimulados. La restricción consistió en permitir el contacto auditiva y olfativa, pero impedir el contacto visual y el contacto físico (Grupo restricción visual y táctil). Un tercer grupo de hembras fue expuesto a contacto restringido con dos machos foto-estimulados, esta restricción consistió en permitir el contacto auditivo, olfatorio y visual, pero impedir el contacto táctil entre ambos sexos. Los machos permanecieron en un corral adyacente con una separación de 50 cm entre ambos corrales (Grupo restricción táctil). Finalmente, un cuarto grupo de hembras fue expuesto a contacto físico total con dos machos foto-estimulados (Grupo contacto total SA). Todos los machos permanecieron en los

grupos de las hembras durante 12 días con sus respectivos grados de contacto. La actividad ovárica de las hembras se determinó mediante una ecografía transrectal a los 6 y 18 días después del inicio de contacto entre machos y hembras. Además se determinó la concentración plasmática de progesterona, para corroborar los resultados de la ecografía. La proporción de hembras que ovularon se analizó con una prueba de χ^2 . La proporción de hembras que ovuló fue diferente en el grupo contacto total SA, respecto a los demás grupos ($P > 0.0001$). La proporción de cabras que ovularon fue más alta en el grupo contacto total SA (14/15; 93%), respecto a los grupos contacto total SI, restricción visual y táctil, y restricción táctil (0/15; 0%, 1/15; 7%, 0/15; 0%, respectivamente; $P < 0.0001$). Se concluye que la restricción visual y táctil de los machos cabríos es suficiente para inhibir la respuesta ovulatoria de las hembras en anestro estacional. Lo cual sugiere que probablemente sea el comportamiento sexual de los machos cabríos y posiblemente la presencia física, los responsables de la respuesta ovulatoria de las cabras en anestro estacional.

SUMMARY

The suppression of sexual behavior as well as visual and tactile cues emitted by bucks prevent the endocrine and ovulatory response of anovulatory female submitted to male effect

By

JUAN CARLOS MARTINEZ ALFARO

DOCTORADO EN CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Director de Tesis: Jesús Vielma Sifuentes

Torreón, Coahuila, México, Julio de 2013.

Key words: *Sexual behavior, exteroceptive cues, seasonal anestrous, caprine, male effect*

The male effect is a multisensory phenomenon, in which are involved the different sensory cues, such as visual, vocal, olfactory and tactile cues, as well as sexual behaviors emitted by the male during sexual courtship. In sheep and goats, this phenomenon induces synchronously the sexual activity and ovulation in anestrous females. In sheep and goats have been partially studied the role of the different signals separately in sexual and ovulatory response of females. However, the highest response is obtained when the cues acting together. An intense sexual behavior of goats increases the secretion of pulses of LH and ovulation in

seasonally anovulatory female goats. Two studies were conducted to determine whether the suppression of sexual behavior, and visual and tactile cues of bucks prevent endocrine and ovulatory response of anestrus female goats, submitted to male effect.

Study 1.

The introduction of sexually active bucks into a group of anovulatory female goats induces estrus and ovulatory activity. An intense sexual behavior of bucks is necessary to maintain a high pulsatile LH secretion in seasonally anestrous goats. Were used a total of four sexually experienced adult goats, which were photo-stimulated by treatment with artificial long days (16 h light / day, from November 1 to January 15) to stimulate sexual activity during the months of march and april, corresponding to the period of sexual rest; and two males in sexual rest, which remained perceiving natural variations of local photoperiod (26° N latitude). Two days before starting the experiment, the sexual behavior of the four bucks was assessed by measuring nudging, ano-genital sniffing, mounting attempts and flehmen during 10 min when exposed to estrus females. All bucks displayed all components of the sexual courtship and had a strong odor at the start of the experiment (score 3, on a scale of 0-3). Forty local and multiparous female goats were used. The female goats were divided in two groups (n = 20 for each group). One group of females was exposed to two bucks with an intense sexual behavior (Sexually active group). The other group of females was exposed to two sedated bucks with Xylazine ® 2%, to prevent display of sexual behavior (Sedated group). The females of this group remained in full physical contact, and were in

visual and olfactory contact. The males remained with females during four days, in their respective groups. The preovulatory surge of LH was assessed in 10 females (subgroup) of each group by the determination of plasma concentrations of LH through obtaining blood samples every 3 hours during 4 days. In all females from each group were assessed the plasma progesterone every 24 hours during 12 days, to determine ovulation. The proportion of female goats that showed preovulatory surge of LH and ovulation was different ($P < 0.0001$) between the groups. The proportion of goats that showed preovulatory surge of LH was higher ($P < 0.0001$) in the group exposed to sexually active males (10/10) compared to the group of females exposed to sedated males (0/10). The proportion of goats that showed ovulation was greater ($P < 0.0001$) in the sexually active group than in the sedated group (19/20 vs 0/20; respectively). We conclude that the intense sexual behavior of male goats is necessary to induce LH preovulatory surge and ovulation in seasonally anovulatory goats, and that the odor and physical presence of bucks are not sufficient to induce the endocrine and ovulatory response in anovulatory female goats.

Study 2.

A high percentage of anovulatory female goats manifest estrus and ovarian activity when they are submitted to sexually active males. The greater amplitude of response is obtained when females are in full physical contact with males whom they can see, touch, smell and hear their vocalizations, and perceive the behaviors of sexual courtship. In the present study, were used in total eight bucks, six of those eight bucks were photo-stimulated by treatment of artificial long days

(16 h light / day, from November 1 to January 15) to induce sexual activity during the sexual resting period; and two males in sexual rest, which perceived natural variations in the local photoperiod (26° North Latitude). Sixty local and multiparous female goats were used. They divided in four homogeneous groups (n = 15 each group) according to their body condition. One of four groups of females was exposed to full physical contact with two males in sexual rest (Total contact Sgroup). A second group of females was exposed to restricted contact with two photo-stimulated males. The restriction consisted to allow auditory and olfactory contact, but prevent visual and physical contact (Visual and tactile restriction group). A third group of females was exposed to restricted contact with two photo-stimulated males, this restriction consisted of allow auditory, olfactory and visual contact, but prevent tactile contact between the both sexes. The males remained in an adjacent pen with a separation of 50 cm between the both pens (Tactile restriction group). Finally, a fourth group of females was exposed to full physical contact with two photo-stimulated males (Total contact SAgroup). All males remained into females groups during 12 days with their respective degrees of contact. The ovulatory activity of females was determined by transrectal ultrasonography at 6 and 18 days after initiation of contact between males and females. Was also determined the plasma concentration of progesterone, to corroborate the results of the ultrasound. The proportion of females that ovulated was analyzed with a χ^2 test. The proportion of females that ovulated was different ($P > 0.0001$) in the Total contact SA group, compared to the other groups. The proportion of goats that ovulated was higher in the Total contact SA group (14/15,

93%) compared to Total contact SI, Visual and tactile restriction, and Tactile restriction groups (0/15, 0%, 1/15, 7%, 0/15, 0%, respectively, $P < 0.0001$). We conclude that the visual and tactile restriction of goats is sufficient to inhibit the ovulatory response of seasonal anestrus females. This suggests that probably the sexual behavior of goats and possibly physical presence, those responsible for the ovulatory response of seasonally anestrus goats.

ÍNDICE

COMPENDIO	v
SUMMARY	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Estacionalidad reproductiva en mamíferos	4
2.1.1 Estacionalidad reproductiva en ovejas y cabras	5
2.1.1.1 Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios o adaptados a regiones templadas	7
2.1.1.2 Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios o adaptados a regiones subtropicales	8
2.1.1.3 Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios o adaptados a regiones tropicales	11
2.2 Inducción de la actividad sexual de machos y hembras en reposo sexual	12
2.2.1. Tratamientos fotoperiódicos para la inducción de la actividad reproductiva en machos	12
2.3. Relaciones socio-sexuales entre machos y hembras	13
2.4. Efecto Macho	15
2.4.1 Respuesta neuroendocrina de las ovejas y cabras sometidas al efecto macho	16
2.5 Factores que intervienen en la regulación de la respuesta de las hembras al efecto macho	18

2.5.1. Influencia del grado de contacto entre machos y hembras durante el efecto macho	19
2.5.2. Influencia de la duración del contacto entre machos y hembras	22
2.5.3 Influencia de la experiencia sexual de las hembras	23
2.5.4 Influencia de la proporción macho- hembra sobre la respuesta al efecto macho	23
2.5.5 Influencia del estado nutricional de las hembras sobre la respuesta al efecto macho	24
2.5.6 Influencia de la separación previa entre los dos sexos en la respuesta de las hembras al efecto macho	26
2.6 Importancia de las señales exteroceptivas en el efecto macho	26
2.6.1 Respuesta endocrina y sexual de las hembras expuestas a señales visuales provenientes de los machos	27
2.6.2 Respuesta endocrina y sexual de las hembras expuestas a señales vocales y otras emisiones sonoras provenientes de los machos	38
2.6.3. Respuesta endocrina y sexual de las hembras expuestas a señales olfatorias provenientes de los machos	31
2.6.4 Respuesta sexual y ovulatoria de las cabras a expuestas a señales táctiles de los machos	33
2.7 Importancia del despliegue de las conductas de los machos	

	durante el cortejo sexual	34
III	OBJETIVOS	37
IV	HIPÓTESIS	38
V	ARTÍCULOS	39
	1. El comportamiento sexual del macho es necesario para provocar el pico preovulatorio de LH en hembras caprinas anovulatorias.	41
	2. El comportamiento sexual determina la respuesta ovulatoria de las cabras en reposo sexual sometidas a diferentes grados de contacto.	67
VI.	DISCUSIÓN GENERAL	88
VII.	CONCLUSIONES	93
VIII.	LITERATURA CITADA	94

I. INTRODUCCIÓN

Las variaciones ambientales que ocurren a lo largo del año en las regiones de las altas latitudes, tales como la duración del día, la disponibilidad de forraje, la temperatura, entre otros factores, han permitido que los animales desarrollen estrategias reproductivas de adaptación que les permite la sobrevivencia de sus crías y la perpetuación de la especie (Bronson, 2009). De esta forma, los animales han modulado ciertas funciones biológicas de acuerdo a las diferentes variaciones ambientales que ocurren a lo largo del año, para disminuir los efectos negativos de estas variaciones climáticas y ambientales. Uno de los mecanismos fisiológicos que algunas especies de animales han desarrollado, para disminuir estos efectos del ambiente sobre la sobrevivencia de los mismos, es la reproducción estacional, como estrategia reproductiva (Lincoln y Short, 1980; Rosa y Bryant, 2003). Esta estrategia reproductiva de los mamíferos consiste principalmente en el acotamiento de la actividad reproductiva hacia la época más favorable del año para el nacimiento de las crías (Bronson, 1989; Wayne *et al.*, 1989). En ese sentido, los animales con actividad reproductiva estacional utilizan los cambios fotoperiódicos estacionales para modular su actividad reproductiva, posiblemente por ser el factor ambiental con menos variación entre los años.

El conjunto de procesos por los cuales los animales regulan sus funciones biológicas mediante la duración del día de acuerdo con las estaciones del año se le llama respuesta al fotoperiodo. Uno de los procesos comunes en los animales es la detención de la función reproductiva, para evitar que las crías nazcan en una

temporada desfavorable para la sobrevivencia, debido a los factores ambientales (Ortavant *et al.*, 1985; Wayne *et al.*, 1989; Malpoux *et al.*, 1996). Las especies de animales que utilizan el fotoperiodo para sincronizar la actividad reproductiva son clasificadas en dos categorías: especies de días largos y especies de días cortos (Rosa y Bryant, 2003). Ambas son caracterizadas por presentar durante el año alternancia de un periodo de actividad reproductiva y un periodo de reposo sexual. Los ovinos y caprinos con actividad reproductiva estacional son clasificados como animales con actividad reproductiva de días cortos, debido a que inician su actividad reproductiva a finales de verano y principios de otoño, cuando inicia la disminución de la longitud del día (Lincoln, *et al.*, 1990., Chemineau *et al.*, 1992a). Las ovejas y cabras con estacionalidad reproductiva presentan un periodo de actividad sexual en otoño-invierno, y un periodo de reposo sexual en primavera-verano, el cual varía de acuerdo a la especie y/o raza, por un lado y a la latitud de origen, por otro. En ovinos y caprinos esta estacionalidad reproductiva limita de manera importante el sistema de producción. En la Comarca Lagunera las cabras presentan una actividad reproductiva de septiembre a febrero (Duarte *et al.*, 2008), mientras que en los machos cabríos la estación sexual inicia a finales de primavera y termina hasta finales del otoño (Delgadillo *et al.*, 1999)

Para modificar la estacionalidad reproductiva se han desarrollado diferentes técnicas que permiten tener animales sexualmente activos fuera de la estación natural. Una de estas técnicas consiste en la foto-estimulación mediante tratamiento con días largos artificiales de 16 horas de luz por día, durante 2.5 meses a los machos cabríos para mejorar las conductas sexuales durante el

periodo de reposo sexual (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002). La inducción de la actividad ovulatoria de manera sincronizada en hembras anovulatorias, debido a la súbita introducción de uno o varios machos se le ha llamado “efecto macho”, lo cual ha sido ampliamente documentado tanto en ovejas como en cabras (Martin *et al.*, 1986; Chemineau, 1987; Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2009). La respuesta sexual de las hembras a este fenómeno de bioestimulación se debe al conjunto de señales sensoriales que percibe la hembra y que provienen del macho (Delgadillo *et al.*, 2008), y es mayor cuando intervienen todas las señales en su conjunto, (Delgadillo, *et al.*, 2006). En los pequeños rumiantes de importancia zootécnica, se ha documentado ampliamente que el olor del macho es determinante para la respuesta sexual y ovulatoria en ovejas (Knight y Lynch, 1980; Pearce y Oldham, 1988) y en cabras (Claus *et al.*, 1990; Walkden-Brown *et al.*, 1999). Así, también se ha demostrado por un lado, que el olor y la presencia del macho cabrío incrementa la secreción pulsátil de LH (Vielma *et al.*, 2009) y por otro, que las vocalizaciones del macho cabrío pueden desencadenar la ovulación de cabras anovulatorias (Delgadillo *et al.*, 2012). En este sentido, parece ser que en cabras, tanto el olor como las vocalizaciones de los machos son importantes para desencadenar la respuesta sexual y ovulatoria en las hembras.

Debido a lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar el papel del comportamiento sexual; y de las señales visuales y táctiles que emiten los machos foto-estimulados durante el cortejo sexual sobre la respuesta ovulatoria de las cabras en anestro estacional.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Estacionalidad reproductiva en mamíferos

En las áreas localizadas a latitudes templadas en los hemisferios norte o sur ($> 45^\circ$), las variaciones anuales en los diversos factores del ambiente, como las épocas de lluvia, y sequías, así como las bajas y altas temperaturas, han permitido que la disponibilidad de alimento para los mamíferos sea más accesible en ciertas épocas del año. Debido a esas variaciones en la disponibilidad de alimento y del clima, los animales desarrollaron mecanismos de adaptación necesarios para su sobrevivencia como la migración, la hibernación y la reproducción estacional (Lincoln y Short, 1980; Bronson, 1989).

En efecto, la actividad reproductiva de la mayoría de los mamíferos originarios de latitudes templadas muestra dramáticas variaciones estacionales. El periodo del año en el cual se desarrolla la estación sexual de los animales estacionales varía de una especie a otra, y generalmente depende de la duración de la gestación. En las especies de animales con gestación corta como el hámster (alrededor de tres semanas) o en especies de animales con gestación larga (alrededor de un año) como los equinos, el periodo de apareamiento ocurre en primavera o a principios del verano. Al contrario, en animales cuyo periodo de gestación es intermedio (aproximadamente seis meses) como en los pequeños rumiantes (cabra, oveja, venado, etc.), el periodo de apareamiento ocurre en otoño. La estacionalidad reproductiva de las especies de gestación corta,

intermedia o larga, asegura que las crías puedan nacer en la primavera que es la época más favorable para su supervivencia por el aumento en la disponibilidad de alimento por un lado, y la ausencia de heladas, por otro (Malpaux *et al.*, 1996). La mayoría de los animales han utilizado el fotoperiodo como la señal del medio ambiente para programar su reproducción, probablemente porque es el factor que presenta menos variaciones a través de los años (Karsch *et al.*, 1984; Bronson, 1989, Rosa y Bryant, 2003). El fotoperiodo sincroniza el ritmo endógeno de reproducción que poseen los animales, a través de la secreción de la melatonina secretada por la glándula pineal. La melatonina se secreta únicamente durante la noche, y la duración de su secreción permite iniciar, mantener o terminar la actividad reproductiva anual en las especies estacionales (Malpaux, *et al.*, 1986; Ortavant *et al.*, 1988; Chemineau *et al.*, 2010).

2.1.1 Estacionalidad reproductiva en ovejas y cabras

En los pequeños rumiantes como los ovinos y caprinos, los factores ambientales que actúan sobre los ritmos biológicos estacionales operan en dos niveles: los factores distales y los factores proximales (Malpaux, 2000; Rosa y Bryant, 2003; Goldman *et al.*, 2004; Malpaux, 2006). Los factores distales son variables que en el curso de la evolución ejercen una presión selectiva para restringir la actividad reproductiva hacia una época del año en la cual exista mayor éxito reproductivo. La disponibilidad de alimento, precipitación pluvial y temperatura son considerados como los principales factores distales. Por otro

lado, los factores proximales proporcionan señales inmediatas para el control de los ritmos anuales que regulan los procesos fisiológicos. El principal factor proximal es el fotoperiodo. Muchas funciones estacionales como la migración, hibernación y reproducción requieren de periodos largos de desarrollo y preparación. Esta preparación generalmente inicia cuando las condiciones están lejos de ser las más óptimas. De esta forma, los animales han desarrollado una capacidad para predecir las condiciones ambientales futuras. Sin embargo, para que un factor proximal pueda ser un evento estacional confiablemente predictivo, es necesario que éste sea consistente y estable año tras año. Así, el ciclo anual del fotoperiodo proporciona información consistente año tras año, por lo cual este factor se considera como la mejor fuente de información ambiental que les permite a los animales estacionales predecir cuando las condiciones ambientales pueden ser óptimas para la época de parto y por ende la época de apareamiento (Rosa y Bryant, 2003; Malpaux, 2006). En este sentido, la latitud llega a ser un factor determinante en la respuesta de los animales al fotoperiodo, debido a que entre más distantes se encuentran del ecuador, la variación de la longitud del día entre las estaciones es más marcada (Bronson y Heideman, 1994).

Las especies que utilizan el fotoperiodo para sincronizar su actividad reproductiva son comúnmente clasificadas en dos diferentes categorías: especies de días cortos y especies de días largos. Las especies de días largos en la cual se incluyen a los equinos, entran en su época reproductiva después del solsticio de invierno, cuando la longitud del día aumenta. Las especies de días cortos, tales como las ovejas y cabras llegan a estar sexualmente activos en respuesta a los

días decrecientes, a finales del verano o principios del otoño (Rosa y Bryant, 2003; Malpaux, 2006). De esta forma, tanto las ovejas como las cabras utilizan los cambios en la longitud del día para iniciar a detener su actividad reproductiva y de esta forma conducir la época de partos hacia la época más favorable para el nacimiento y sobrevivencia de las crías.

2.1.1.1 Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios o adaptados a regiones templadas

La mayoría de las razas de ovinos y caprinos originarias de latitudes templadas (>40°) muestran una estacionalidad reproductiva muy marcada, la cual es controlada principalmente por el fotoperiodo (Lincoln y Short, 1980; Rosa y Bryant 2003), y los otros factores como la disponibilidad de alimento o la temperatura desempeñan un papel secundario y son moduladores de esta actividad de reproducción (Delgadillo *et al.*, 2000; Duarte *et al.*, 2008). En los ovinos de la raza Texel, originarios del norte de Europa, la época de partos se concentra entre febrero y mayo (invierno-primavera), lo cual indica que el periodo de actividad reproductiva es alrededor de cuatro meses, en el otoño (Perret, 1986; Chemineau *et al.*, 2003). En las cabras originarias de latitudes templadas, como las razas Alpinas y Saanen, las actividades estral y ovulatoria están ausentes en primavera y verano (Chemineau *et al.*, 1992b; Malpaux *et al.*, 1996; Malpaux, 2006). De igual manera, los machos cabríos Alpinos y Saanen, presentan una época de reposo sexual de marzo a agosto (Delgadillo y Chemineau, 1992).

2.1.1.2 Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios o adaptados a regiones subtropicales

Algunas razas de caprinos y ovinos originarias o adaptadas a las latitudes subtropicales (25° a 40° Latitud Norte o Sur), presentan una estacionalidad reproductiva a pesar de que las variaciones de la longitud del día son menos marcadas que en las latitudes templadas. Algunas de éstas razas presentan una estacionalidad reproductiva muy marcada, mientras que otras razas sólo manifiestan una modera estacionalidad reproductiva durante el año (Restall, 1992; Walkden-Brown *et al.*, 1994; Delgadillo *et al.*, 1999). En efecto, en las cabras locales de la latitudes subtropicales de Australia, la estación reproductiva se presenta durante el otoño y el invierno, mientras que el periodo de anestro se presenta durante la primavera y el verano (Restall, 1992). En cambio, las cabras locales de Chile, únicamente presentan 3 meses de anestro al final de la primavera y el inicio del verano (Santa María *et al.*, 1990). Estudios recientes han demostrado que las cabras locales del subtrópico del México presentan estacionalidad en sus actividades sexualy endocrinas (Duarte, *et al.*, 2008; Figura 1), La estación sexual se desarrolla de septiembre a febrero, y la estación de anestro de marzo a agosto (Delgadillo *et al.*, 2000).

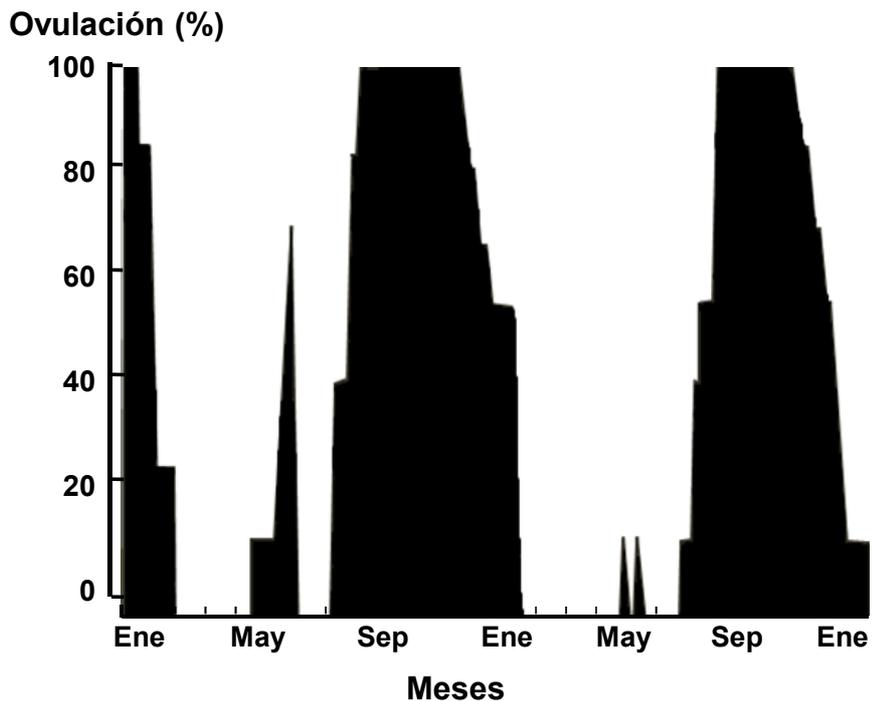


Figura 1. Variaciones estacionales de la actividad ovulatoria de hembras caprinas locales del subtrópico Mexicano (26° N). Las hembras estuvieron estabuladas y sometidas a las variaciones naturales del fotoperiodo y la temperatura ambiental (Duarte *et al.*, 2008).

En los machos cabríos originarios o adaptados a las latitudes subtropicales, la duración de la estación sexual varía también de una raza a otra. En Australia por ejemplo, los machos cabríos de la raza Angora presentan una actividad reproductiva muy intensa en otoño, en el cual se incrementan notablemente la libido y la talla testicular (Ritar, 1991). En cambio, en los machos cabríos de la raza Cashmere, presentan una estacionalidad moderada. De este modo, en esta raza la actividad reproductiva de los machos inicia a finales de la primavera y termina a finales del otoño. Durante este periodo se observa un incremento en los niveles de testosterona y un fuerte olor a macho cabrío, que es el resultado del

incrementado nivel hormonal (Walkden-Brown, *et al.*, 1994). Los machos locales del subtrópico mexicano, presentan estacionalidad de sus actividades sexual y endocrina. En estos machos la actividad sexual inicia a finales de la primavera y termina hasta finales del otoño (Figura 2). Durante este periodo de actividad reproductiva, se incrementa el peso testicular, la secreción de testosterona, la producción espermática y el olor de los machos, el cual depende de los niveles de testosterona (Iwata *et al.*, 2000; Walkden-Brown *et al.*, 1993, 1994; Delgadillo *et al.*, 1999; Rivas-Muñoz *et al.*, 2007)

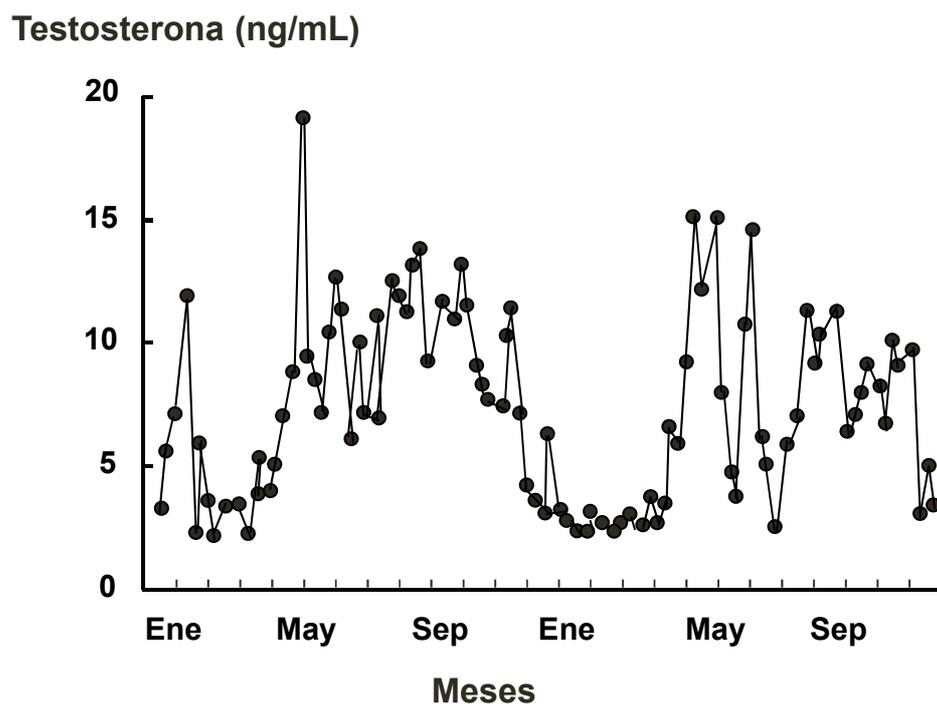


Figura 2. Variaciones estacionales de las concentraciones plasmáticas de testosterona de los machos cabríos del subtrópico de México (26° N) sometidos a variaciones naturales del fotoperiodo y cambios de temperatura (Delgadillo *et al.*, 1999).

2.1.1.3 Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios o adaptados a regiones tropicales

Las razas de cabras y ovejas originarias de latitudes tropicales (<23°) tienen el potencial de presentar actividad estral y ovulatoria todo el año. Sin embargo, algunas razas presentan un ligero anestro en primavera (Chemineau *et al.*, 2003, Arroyo, 2011). Estudios realizados en cabras criollas en la Isla de Guadalupe en el Caribe (16° Latitud Norte), donde la amplitud de las variaciones fotoperiódicas es menor comparadas con las regiones templadas y subtropicales, se detectó una discreta disminución estacional en la tasa de ovulación y la proporción de las cabras que manifestaron estro el mes de mayo (Chemineau, 1986). Sin embargo, estudios realizados en el sureste mexicano (21° Latitud Norte), demostraron que la oveja Pelibuey, presenta anestro estacional, independientemente del estado nutricional. En esta raza se estudió la actividad estral durante tres años en hembras estabuladas con alimentación que cubría sus requerimientos nutricionales. En este estudio se observó que de enero a abril, sólo el 17% de las ovejas mostraron estro; en contraste, 95 % de las ovejas presentaron actividad estral de mayo a agosto y 100 % de septiembre a diciembre (Valencia *et al.*, 1981).

2.2. Inducción de la actividad sexual de machos y hembras en reposo sexual

Existen varias técnicas para inducir la actividad sexual en ovejas y cabras en el periodo de inactividad reproductiva estacional. En cabras y ovejas se han utilizado tratamientos hormonales como los progestágenos combinados con suero de yegua preñada (eCG) y prostaglandinas, los tratamientos fotoperiódicos o la melatonina (Chemineau *et al.*, 1992b; Leboeuf *et al.*, 2008). Sin embargo, también se han utilizado las relaciones socio-sexuales para el manejo reproductivo de los hatos. En los machos, el fotoperiodo combinado con la melatonina se ha utilizado para inducir la actividad sexual en el periodo de reposo (Chemineau *et al.*, 1992b; Delgadillo *et al.*, 1991, 1992).

2.2.1 Tratamientos fotoperiódicos para la inducción de la actividad reproductiva en machos

En carneros, el tratamiento luminoso que simula en seis meses el patrón de duración del día de un ciclo anual normal, produce dos ciclos de crecimiento testicular anual (Lindsay *et al.*, 1984). En machos cabríos y carneros la alternancia de un mes de días largos seguidos de un mes de días cortos permite mantener la actividad sexual durante todo el año (Pelletier y Almeida, 1987; Delgadillo *et al.*, 1991, 1992). Asimismo, en los machos cabríos locales de la Comarca Lagunera sometidos a 2.5 meses de días largos artificiales (16 h de luz/ día) a partir del 1 de Noviembre, seguidos del fotoperiodo natural, estimula la secreción de testosterona, el comportamiento sexual, el olor y la producción espermática, en el periodo de reposo sexual (Figura 4; Delgadillo *et al.*, 2001, 2002, Rivas-Muñoz *et al.*, 2007).

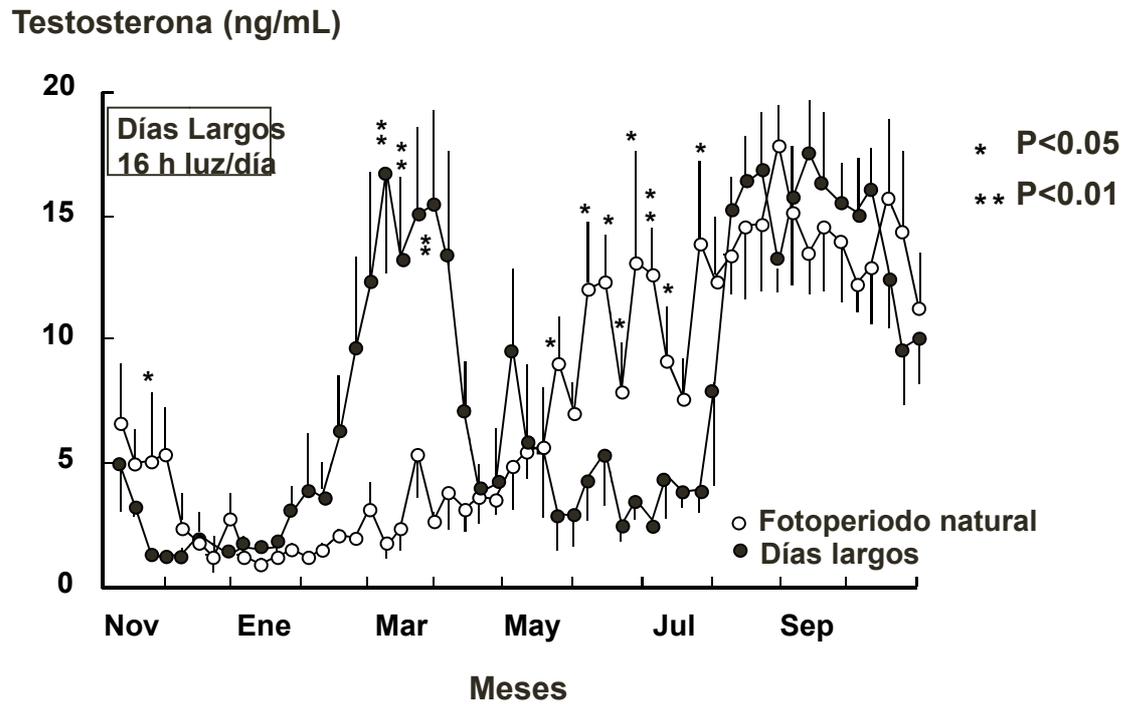


Figura 4. Variaciones de las concentraciones plasmáticas de testosterona (media \pm E.E.M) de los machos cabríos (26 °N), sometidos a variaciones naturales del fotoperiodo de la Comarca Lagunera (o), y de machos foto-estimulados, sometidos a 2.5 meses de días largos artificiales (16 h de luz / día) a partir del 1 de Noviembre (●). (Delgadillo *et al.*, 2001).

2.3.Relaciones socio-sexuales entre machos y hembras

La introducción de un macho en un grupo de hembras puede estimular su actividad sexual en los meses del anestro estacional. A este fenómeno se le llama “efecto macho” (Chemineau, 1987; Delgadillo *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2004; Ungerfeld *et al.*, 2004). El efecto macho es un fenómeno multisensorial, en el cual están involucradas las señales olfativas, visuales, auditivas y táctiles que el macho emite hacia la hembra, pero a su vez la hembra emite señales hacia el macho, lo cual permite la retroalimentación entre ambos sexos para la estimulación sexual (Walkden-Brown, *et al.*, 1999; Figura 5). Está bien documentado que la mayor

respuesta de las hembras sometidas al efecto macho se obtiene cuando todas las señales actúan en conjunto (Knight y Lynch, 1980; Shelton, 1980; Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986). Asimismo, se conoce que la conducta sexual del macho durante el cortejo es de vital importancia para el fenómeno de inducción de la actividad sexual de las hembras (Flores et al., 2000).

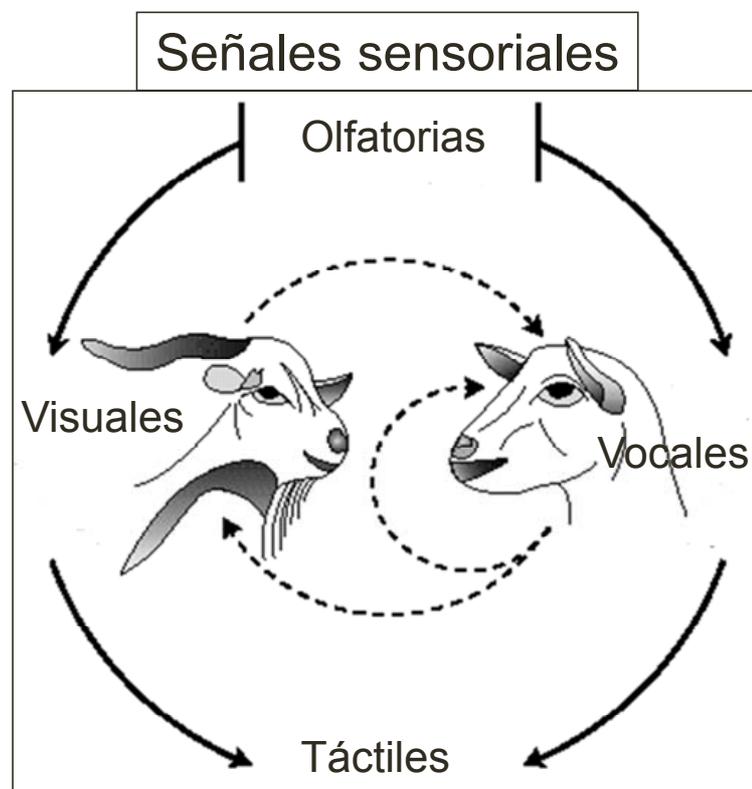


Figura 5. Representación esquemática de la interacción de las señales exteroceptivas en las relaciones socio-sexuales entre machos y hembras en cabras (Adaptado de Walkden-Brown, et al., 1999).

2.4 Efecto macho

Como se mencionó anteriormente, en ovejas y cabras, la introducción repentina del macho en un grupo de hembras en anestro estacional, puede inducir la respuesta estral y ovulatoria de éstas de manera sincronizada (Martin *et al.*, 1986; Chemineau, 1987; Delgadillo *et al.*, 2002; Ungerfeld *et al.*, 2004). Este fenómeno fue reportado primeramente por Prud'homme (1732) y Girard (1813) en ovejas. Sin embargo, fue hasta 1944, cuando se observó en ovejas Merino en el oeste de Australia que cuando los carneros eran separados de las ovejas en anestro y posteriormente reintroducidos, éstos inducían la actividad reproductiva de las hembras y en consecuencia adelantaban el periodo natural de reproducción (Underwood *et al.*, 1944). Más recientemente, este fenómeno de bioestimulación ha sido ampliamente estudiado tanto en ovejas (Watson y Radford, 1960; Pearce y Oldham, 1988), como en cabras (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1999; Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002, 2009). En cabras se ha reportado que del total de las hembras expuestas al efecto macho, más del 90 % de ellas ovulan dentro de los primeros 3 a 5 días después del contacto con los machos, ésta primera ovulación es acompañada de estro en un 62% de ellas (Figura 6). La mayoría de las hembras presentan un ciclo corto, provocando una segunda ovulación acompañada de estro a los 5 días después de la primera ovulación (Chemineau, 1987). En ovejas, se presenta la primera ovulación sin estro durante los primeros 2 a 4 días después de la introducción del macho. La mayoría de las ovejas presentan un ciclo corto, ocasionando una segunda ovulación sin estro alrededor del día 7. Las siguientes ovulaciones, las cuales ocurren entre los 18 y 25 días aproximadamente después de haber introducido el macho, generalmente

van acompañadas de conducta estral (Thimonier *et al.*, 2000; Rosa y Bryant, 2002; Gelez y Fabre-Nys, 2004).

Cabras en estro (%)

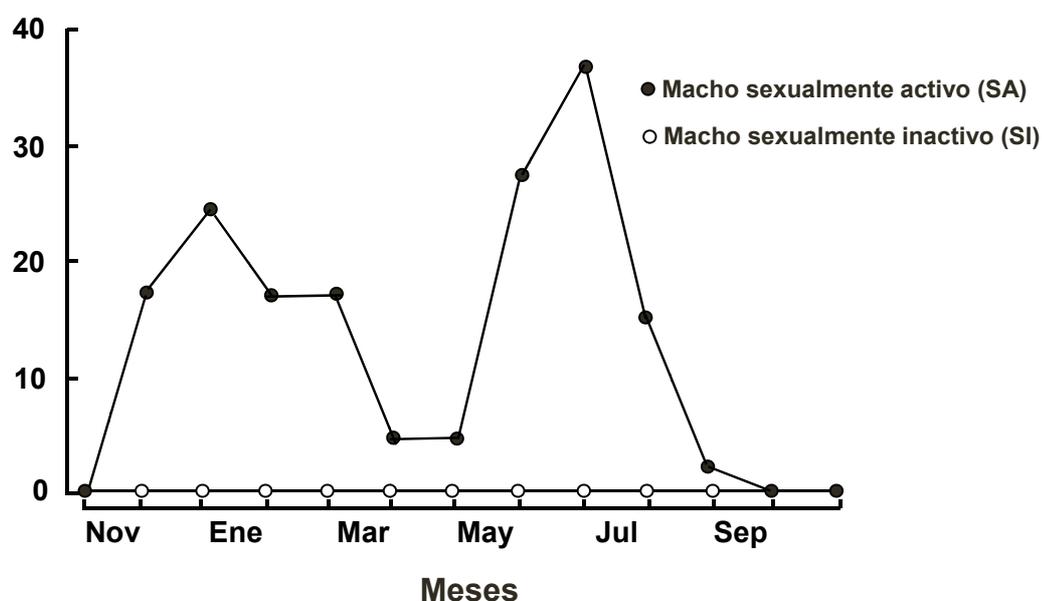


Figura 6. Proporción de cabras locales de la Comarca Lagunera que manifestaron estro al ser sometidas al efecto macho. Un grupo de cabras fue expuesto a machos en reposo sexual (o), el otro grupo de cabras fue expuesto a machos foto-estimulados (●), sometidos a 2.5 meses de días largos artificiales (16 h de luz / día; Flores *et al.*, 2000).

2.4.1. Respuesta neuroendocrina de las ovejas y cabras sometidas al efecto macho

Las relaciones socio-sexuales permiten modificar el ciclo reproductivo anual de las ovejas y cabras. En las ovejas y cabras expuestas al efecto macho ocurre un incremento repentino en la secreción pulsátil de la Hormona Luteinizante (LH; Poindron, *et al.*, 1980; Chemineau *et al.*, 1986; Martín *et al.*, 1986; Vielma *et al.*, 2009). Estudios recientes en los caprinos locales de la Comarca Lagunera,

demuestran que en las hembras, inmediatamente después de la introducción de los machos foto-estimulados existe un incremento repentino en la secreción pulsátil de LH (Fernández *et al.*, 2011; Figura 7). En efecto, la secreción pulsátil de la LH antes del contacto con los machos cabríos es de 0.1 pulsos por hora, y se incrementa a 0.6 pulsos por hora después del contacto con machos. El incremento en los pulsos de LH, así como de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) está asociado con el incremento en la secreción pulsátil de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH). La secreción de la LH y FSH a nivel de la adenohipófisis estimulan el crecimiento y desarrollo folicular, incrementando a su vez la secreción de estradiol (E_2) por los folículos ováricos. Esto ocasiona altos niveles de concentración plasmática de E_2 (Prieto-Gómez y Velázquez-Paniagua; 2002), lo cual induce la actividad estral de la hembra y la retroacción positiva sobre la liberación de LH, provocando la aparición del pico preovulatorio, el cual ocurre aproximadamente a las 36 h después de la introducción de los machos (Knight *et al.*, 1978, Claus *et al.*, 1990), seguido de la ovulación entre 20 y 24 h aproximadamente después de la aparición del pico preovulatorio (Mori y Kano, 1984; Chemineau *et al.*, 1991).

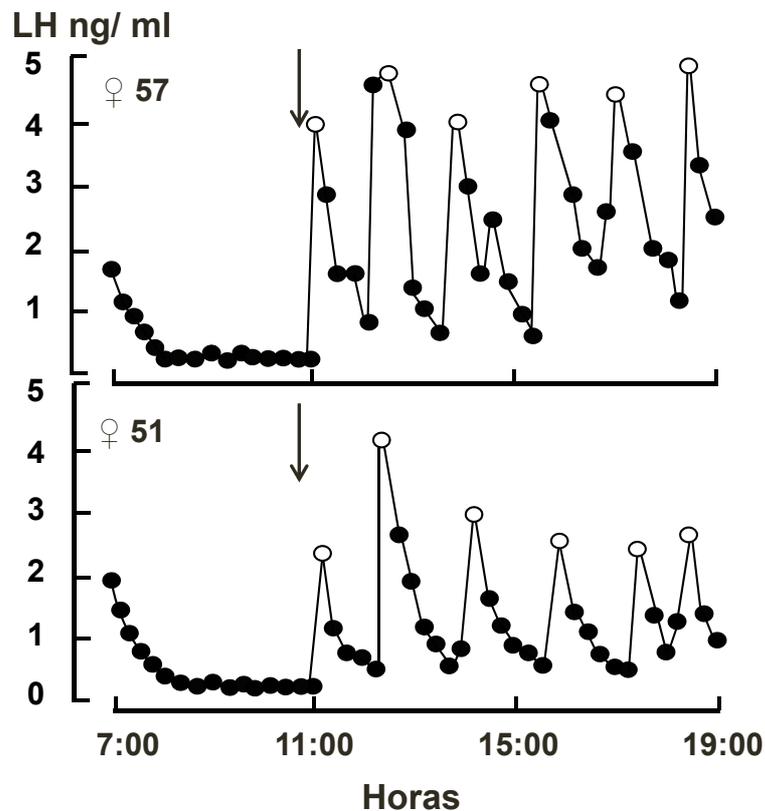


Figura 7. Perfiles de Hormona Luteinizante (LH) en cabras en anestro estacional expuestas a machos foto-estimulados, sometidas a 2.5 meses de días largos artificiales (16 h de luz / día), la flecha indica el momento de la introducción del macho (Fernández *et al.*, 2011).

2.5 Factores que intervienen en la regulación de la respuesta de las hembras al efecto macho

La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha en ovejas y cabras han demostrado que existen algunos factores a considerar en la respuesta de las hembras sometidas al efecto macho (Pearce y Oldham, 1988; Walkden-Brown, *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 2004; Fernández *et al.*, 2011). Dentro de estos factores podemos considerar, el grado de contacto entre los dos sexos, la proporción entre

hembras y machos, la experiencia sexual, la nutrición, la separación previa entre los dos sexos y la época del año.

2.5.1 influencia del grado de contacto entre machos y hembras durante el efecto macho

El grado de contacto entre los dos sexos afecta la respuesta de las hembras sometidas al efecto macho. En estudios realizados en Australia con ovejas Merino se mostró que la proporción de ovejas que ovularon fue menor en las expuestas al contacto visual del macho a través de una malla de alambre que en las hembras que estuvieron en contacto físico total con los machos (Pearce y Oldham, 1988; Figura 8).

Ovulación (%)

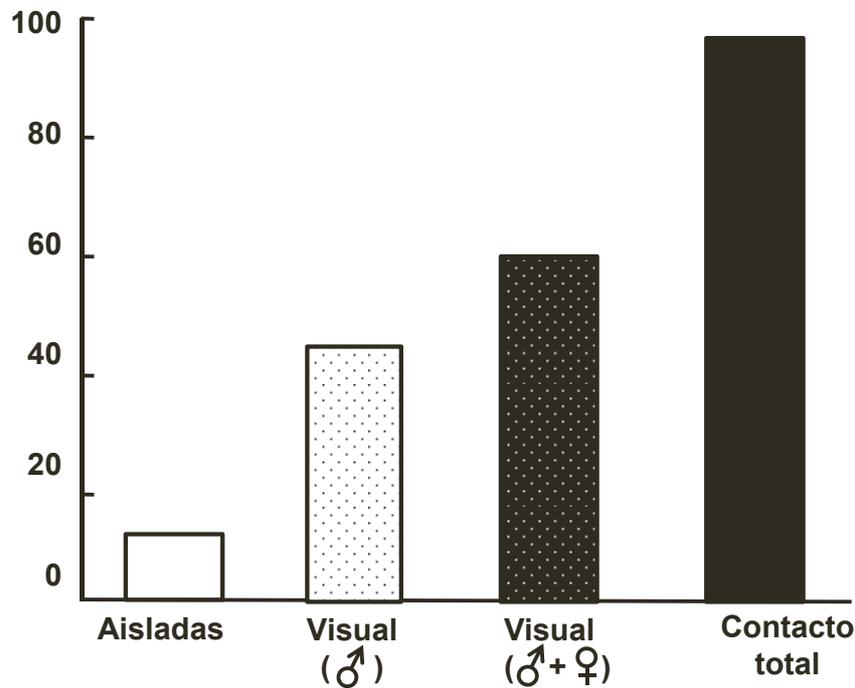


Figura 8. Respuesta ovulatoria de las ovejas Merino expuestas a diferentes grados de contacto con machos. Un grupo de hembras permaneció aisladas de los machos (Aisladas), otro grupo de hembras estuvo expuesto a contacto visual con machos (visual machos), un tercer grupo de hembras fue expuesto a contacto visual con machos y hembras (Visual machos + hembras), y finalmente un cuarto grupo de hembras fue expuesto a contacto físico total con machos (Contacto total; Adaptado de Pearce y Oldham, 1988).

El mismo fenómeno sucede en la especie caprina. En efecto, estudios realizados en Norteamérica en cabras de la raza Angora, la proporción de hembras que ovularon fue menor cuando están en contacto con los machos a través de una malla de alambre que cuando están en contacto directo con los machos (41% vs 69 %; Shelton, 1980). Estos resultados demuestran que el grado de contacto entre las hembras y los machos afecta la respuesta ovulatoria de las hembras sometidas al efecto macho y que cuando los machos están en

contacto total aseguran la mayor respuesta de las hembras (Figura 9). Lo anterior sugiere que otros factores pudieran estar implicados en la respuesta de las hembras.

Ovulación (%)

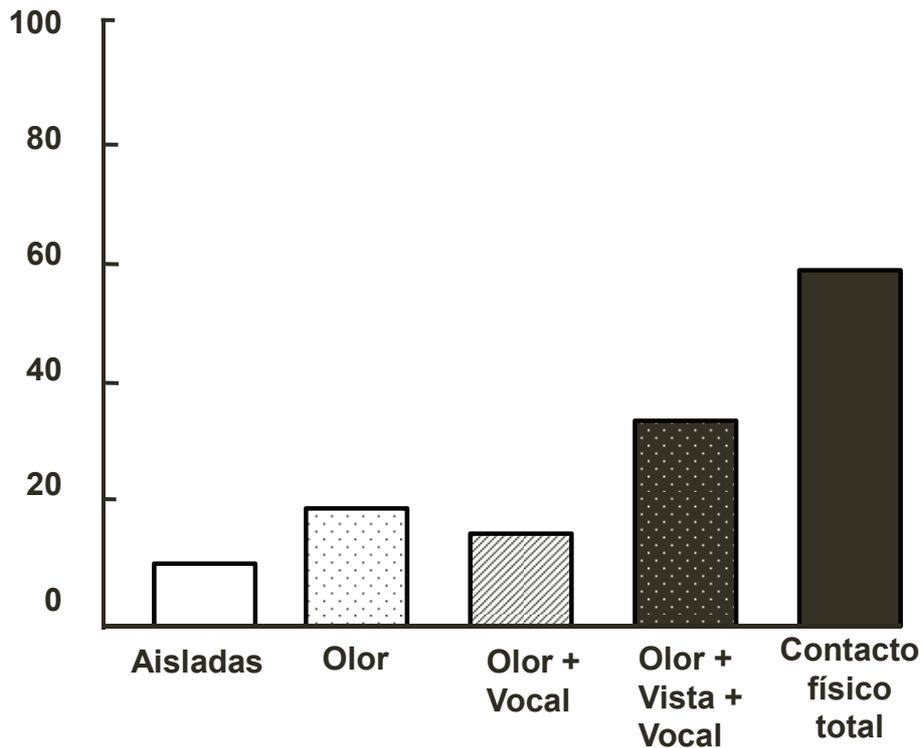


Figura 9. Respuesta ovulatoria de cabras Angora expuestas a diferentes grados de contacto con machos. Un grupo de hembras permaneció aislado del contacto con machos (Aisladas), un segundo grupo de hembras fue sometido a un corral en el cual habían estado machos y las paredes y el piso estaban impregnados de orina, olor y demás olores propios de los machos en actividad sexual (olor), un tercer grupo de hembras fue expuesto a olor y a las vocalizaciones de los machos provenientes de un corral adyacente que permitía este contacto pero impedía el contacto visual (olor + vocal), un cuarto grupo de hembras fue expuesto a machos a través de una malla transparente que permitía el contacto visual y vocal, y además se percibía un fuerte olor a macho cabrío (olor + vista + vocal), un quinto grupo de hembras fue expuesto a contacto físico total con machos (Contacto físico total; Adaptado de Shelton, 1980).

2.5.2 Influencia de la duración del contacto entre machos y hembras durante el efecto macho

El tiempo de contacto entre machos y hembras es un factor importante para que las hembras respondan al ser sometidas al efecto macho. La exposición de las hembras a los machos estimula inmediatamente la secreción de la LH, la cual permanece elevada mientras continua el contacto con los machos, lo que permite que la mayoría de las hembras ovule (Poindron *et al.*, 1980; Oldham y Pearce, 1983; Vielma *et al.*, 2009). Sin embargo, si los machos son retirados, la secreción de LH disminuye, llegando rápidamente a los niveles basales, lo cual provoca una disminución en la proporción de hembras que ovulan. En efecto, el 61 % de las ovejas Merino ovulan si permanecen en contacto con los machos durante 15 días, mientras que sólo el 18% de las ovejas ovula cuando están en contacto únicamente por 24 horas con los machos (Signoret, 1990). Sin embargo, en cabras locales de la Comarca Lagunera, Rivas-Muñoz *et al.* (2007) demostraron que la exposición de las cabras a machos foto-estimulados por sólo 16 horas por día fue suficiente para que el 92% de las cabras manifestara conducta estral. Estudios recientes en cabras anovulatorias han demostrado que sólo 4 horas de contacto diario entre los machos sexualmente activos y las hembras son suficientes para inducir la respuesta ovulatoria y reproductiva en el 94% de las cabras anovulatorias (Bedos *et al.*, 2010).

2.5.3 Influencia de la experiencia sexual de las hembras sobre la respuesta al efecto macho

La experiencia socio-sexual es uno de los factores que puede modificar el comportamiento sexual y la actividad reproductiva de las hembras. Se han conducido varios estudios para determinar el papel que desempeña la experiencia sexual sobre la respuesta sexual de las hembras que son expuestas a los machos. Por ejemplo, estudios realizados en ovejas han demostrado que las ovejas sin experiencia sexual no muestran una respuesta endocrina al primer contacto con la lana de los carneros (Gelez *et al.*, 2004), Sin embargo, estudios realizados en cabras locales de la Comarca Lagunera han demostrado que la experiencia sexual en las cabras no influye sobre la respuesta sexual (Luna-Orozco, 2009) y endocrina (Fernández *et al.*, 2011), cuando están sometidas a machos que manifiestan un intenso comportamiento sexual. Estos resultados vuelven a sugerir que el estado fisiológico sexual de los machos es determinante para obtener una alta respuesta sexual de las cabras sometidas al efecto macho (Delgadillo *et al.*, 2002, Vielma *et al.*, 2009; Fernández *et al.*, 2011).

2.5.4. Influencia de la proporción Macho-hembra sobre la respuesta sobre la respuesta al efecto macho

La proporción de hembras expuestas a un macho puede modificar la respuesta estral y ovulatoria de las hembras sometidas al efecto macho

(Chemineau, 1987). En este sentido, cuando la proporción de hembras por macho es de 1:10 a 1:20, la respuesta ovulatoria es mayor al 80 % (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1993). Asimismo, estudios realizados con cabras criollas de la Comarca Lagunera han demostrado que la proporción de 1:10 utilizando machos foto-estimulados mediante tratamientos fotoperiódicos induce a más del 80% de las hembras anovulatorias (Delgadillo *et al.*, 2002). En este sentido Signoret *et al.* (1982/83), plantean que cuando la proporción macho-hembra se incrementa de manera drástica, la proporción de hembras que ovulan disminuyen en el mismo sentido. En contraste, Carrillo *et al.* (2007) demostraron que si se incrementa la proporción de macho-hembra a 1:39, no disminuye la capacidad de los machos para inducir la actividad sexual de las hembras anovulatorias, cuando los machos están sexualmente activos mediante foto-estimulación. Sin embargo, se retarda la respuesta al efecto macho.

2.5.5. Influencia del estado nutricional de las hembras sobre la respuesta al efecto macho

La nutrición afecta muchos aspectos relacionados con la actividad reproductiva de los animales domésticos (Martin *et al.*, 2004). En algunas razas de ovejas y cabras subtropicales, la alimentación puede modificar drásticamente la actividad reproductiva de los machos y hembras. En los machos cabríos Cashmere alimentados a libre acceso con una dieta de alta calidad, la estación

sexual inicia antes que en los machos alimentados con una dieta de baja calidad (Walkden-Brown *et al.*, 1994). Sin embargo, estudios realizados en ovejas Merino por Oldham *et al.* (1990) demostraron que los cambios en la dieta en hembras no es suficiente para adelantar o prolongar la estación reproductiva de manera importante. En general estos estudios proporcionan evidencia que en algunas razas de ovinos y caprinos la nutrición es un factor que puede adelantar el inicio de la estación sexual de los machos, pero no en hembras ovinas y caprinas de éstas razas.

La respuesta estral y ovulatoria de las cabras del subtrópico mexicano sometidas al efecto macho es superior al 90% en aquellas que están sometidas a una buena alimentación bajo un sistema de explotación en confinamiento (Delgadillo *et al.*, 2002; Véliz *et al.*, 2002), mientras que las que están sometidas a condiciones de pastoreo extensivo la respuestas es menor al 52% (Mellado y Hernández, 1996). Sin embargo, estudios recientes también han demostrado que los suplementos nutricionales durante 3 semanas a partir de la introducción de los machos mejoran las tasas de ovulación y preñez en cabras en condiciones de pastoreo extensivo que son sometidas al efecto macho (Fitz.-Rodríguez *et al.*, 2009).

2.5.6 Influencia de la separación previa entre los dos sexos sobre la respuesta de las hembras al efecto macho

Desde los primeros estudios sobre efecto macho realizados en ovejas, se asumió que las hembras deben de ser aisladas de los machos por un periodo al menos de tres semanas para que éstas pudieran ovular en respuesta a la reintroducción de los machos (Underwood *et al.*, 1944). Sin embargo, algunos resultados planteados posteriormente por Cushwa *et al.* (1992), sugirieron que la separación entre los dos sexos no es necesario para la respuesta ovulatoria de las hembras. En efecto no existió diferencia en la respuesta ovulatoria de las hembras que permanecieron previamente en contacto con carneros y que se les sometió a un nuevo macho, que en aquellas que han sido previamente separadas de los machos (85 % vs 86%, respectivamente). Estudios realizados en las cabras locales de la Comarca Lagunera demostraron que la previa separación entre los dos sexos antes del efecto macho no es necesario si se utilizan machos fotoestimulados que desplieguen un intenso comportamiento sexual (Delgadillo *et al.*, 2009).

2.6 Importancia de las señales exteroceptivas en el efecto macho

El efecto macho es un fenómeno multisensorial, en el cual están involucradas las señales olfatorias, visuales, auditivas y táctiles. La mayor respuesta de las hembras se obtiene cuando actúan todas las señales en conjunto (Knight y Lynch, 1980; Shelton, 1980; Pearce y Oldham, 1988; Perkins y

Fitzgerald, 1994). Existen algunos estudios en cabras y ovejas que han demostrado parcialmente el papel que desempeñan algunas señales en la respuesta de las hembras sometidas al efecto macho (Shelton, 1980; Pearce y Oldham, 1998). Estudios recientes realizados en los caprinos de la Comarca Lagunera han demostrado por un lado, el papel que tiene la conducta sexual del macho sobre la respuesta endocrina (Vielma *et al.*, 2009), y por otro, el papel que tienen las vocalizaciones sobre la respuesta ovulatoria de las de las hembras expuestas al macho (Delgadillo *et al.*, 2012).

2.6.1. Respuesta endocrina y sexual de las hembras expuestas a señales visuales provenientes de los machos

Algunas especies de animales han desarrollado el sentido de la vista como un mecanismo de adaptación necesario para su sobrevivencia. Los ungulados han sido clasificados como animales con patrones visuales rítmicos, es decir, que contienen características apropiadas tanto para la vida diurna como nocturna, lo cual está asociado a la sensibilidad de los conos de la retina y su capacidad de visión de los colores, por tener una visión dicromática (Neitz y Jacobs, 1989). De esta forma, el sentido de la vista, se ha desarrollado en algunas especies de animales como un mecanismo de atracción sexual. Por ejemplo, en la cerda, la percepción visual del macho, en conjunto con otras señales, facilita su inmovilización para la monta, aunque no se ha separado y cuantificado de manera separada el papel que esta señal tendría sobre la estimulación (Signoret, 1974).

En algunas razas de ovejas se ha documentado que existe una diferencia en la preferencia de las rostros de las hembras en anestro hacia otras hembras, mientras que cuando se encuentran en estro, éstas prefieren los rostros de los machos, esto sugiere que el sentido de la vista puede ser una señal importante en al menos algunas razas de ovinos (Kendrick *et al.*, 1995). Asimismo, en caprinos, se ha reportado que los machos son atraídos por las señales visuales del comportamiento de monta y la monta hembra-hembra interviene en el desempeño sexual del macho cabrío (Shearer y Katz, 2006). Los argumentos anteriores sugieren que la señal visual es importante y participa en el desempeño de las conductas sexuales. Sin embargo, no se ha determinado la importancia de la señal visual para la respuesta sexual y ovulatoria de las hembras caprinas.

2.6.2.Respuesta endocrina y sexual de las hembras expuestas señales vocales y otras emisiones sonoras provenientes de los machos

Los animales en general, utilizan las vocalizaciones como un tipo de comunicación que les permite mediar las principales interacciones sociales, tales como: delimitación territorial, reconocimiento de pareja o cría, coordinación de la defensa contra predadores y competencia sexual. En este sentido, algunos mamíferos han desarrollado las vocalizaciones como mecanismo de atracción sexual para su pareja, y existen diferencias entre especies sobre el tono y la frecuencia de estas vocalizaciones. Así, mientras en el gamo macho (*Dama dama*) las vocalizaciones de baja frecuencia están asociadas a un estatus de alta

dominancia y un mayor éxito reproductivo, en el ciervo Rojo (*Cervus elaphus*) una alta frecuencia vocal está estrechamente correlacionada con un éxito reproductivo (Taylor y Reby, 2010). Hasta hoy no se ha reportado que exista una relación directa entre el tamaño corporal de los animales y la frecuencia de las vocalizaciones, e incluso de la longitud de sus cuerdas vocales sino más bien de la elasticidad de las mismas. En algunas especies, los animales vocalizadores han evolucionado en adaptaciones anatómicas que les ha permitido modificar la relación entre el tamaño corporal y la frecuencia de dispersión en sus señales vocales. De esta forma, la sola exposición a las vocalizaciones del ciervo Rojo macho puede adelantar la época reproductiva de las hembras (McComb, 1987). Además, existe evidencia de que las hembras del ciervo rojo prefieren el bramido de los machos más grandes (Charlton *et al.*, 2008).

Por otro lado, existen algunos estudios que demuestran que cuando se suprime la audición en toros, se reduce la habilidad para detectar celos en novillas (Blaschke *et al.*, 1984). Sin embargo, no hay evidencia de que las vocalizaciones de las vacas en estro son distintivas en su forma o en su frecuencia de ocurrencia de las vacas que no están en celo.

Los caprinos (*Capra hircus*), se caracterizan por incrementar sus vocalizaciones en época reproductiva (Shackleton y Shank, 1984; Fabre-Nys, 2000). Se ha demostrado que a pesar de ser una especie que en época reproductiva los machos utilizan las vocalizaciones como parte del cortejo sexual, éstas al ser grabadas, editadas y reproducidas en playback, no influyen sobre la secreción de LH, ni provocan la ovulación de las cabras en reposo sexual (Vielma

et al., 2008). Sin embargo, cuando las hembras están expuestas a las transmisiones de las vocalizaciones *in vivo* de los machos durante cortejo sexual a través de un amplificador, una proporción importante de las cabras llega a tener una respuesta ovulatoria (Delgadillo *et al.*, 2012). Estos hallazgos, sugieren que en caprinos como en todas las especies vocalizadoras, estas emisiones de los machos durante el cortejo sexual son importantes para inducir la ovulación de las hembras.

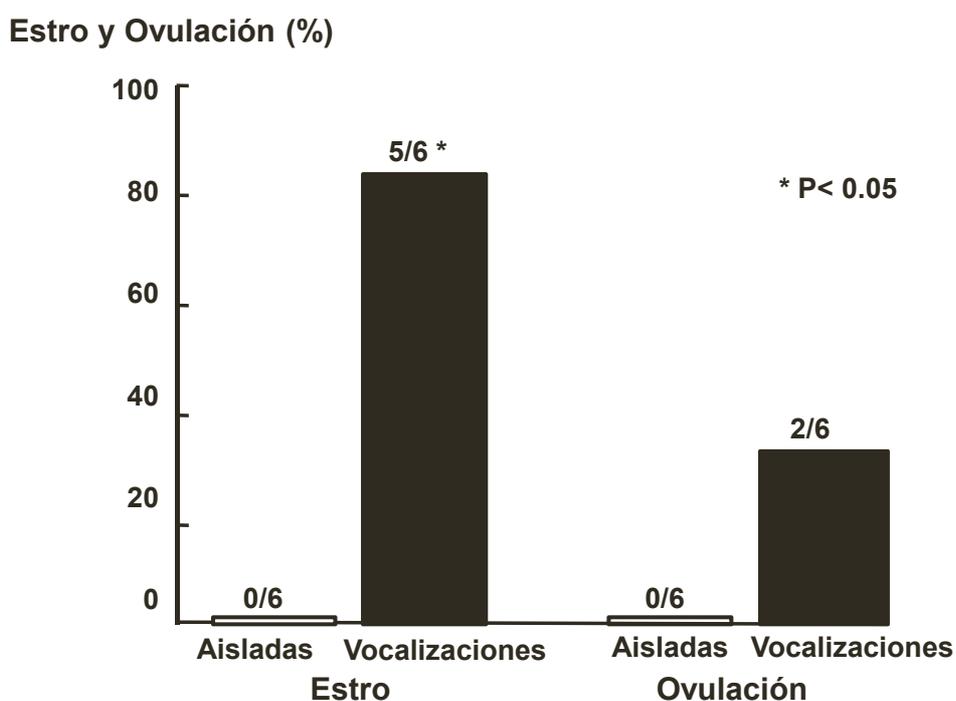


Figura 10. Proporción de conducta estral y ovulaciones de cabras locales de la Comarca Lagunera expuestas a vocalizaciones en vivo de machos sexualmente activos, sometidos 2.5 meses de días largos artificiales (16 h de luz / día) durante el periodo de reposo sexual. * indica diferencia entre grupos (Adaptado de datos de Delgadillo *et al.*, 2012).

2.6.3 Respuesta sexual y ovulatoria de las hembras expuestas a señales olfatorias provenientes de los machos

En la mayoría de los mamíferos, las señales olfatorias tienen una gran influencia en las interacciones sociales. Estas señales, son emitidas a través de la orina, heces, saliva y secreciones de diversas glándulas cutáneas, y son depositadas en el ambiente por medio de despliegues conductuales. Las señales olfatorias que son emitidos por un individuo y percibidas por otro de la misma especie a través del sistema olfatorio principal y el sistema olfatorio accesorio o vomeronasal, pueden provocar diversos efectos fisiológicos o conductuales (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1989; Arteaga *et al.*, 2007). Los mamíferos en general, pueden percibir un gran número y variedades de sustancias odoríferas, así el sistema olfatorio puede detectar sustancias químicas o feromonas, las cuales son liberadas por los animales y producen una respuesta hormonal o conductual en los miembros de la misma especie (Novotny, 2003). Se han realizado varios estudios sobre las implicaciones que tienen las macromoléculas con baja volatilidad en los eventos fisiológicos y de comportamiento. El órgano vomeronasal juega un papel muy importante en la detección de estos componentes, en parte por su localización cercana a la nariz y su relación anatómica con la cavidad oral y nasopalatina (Wysocki *et al.*, 1985). Asimismo, se ha documentado en ovejas que la acción feromonal del macho es capaz de inducir una respuesta estral y endocrina en las hembras (Gelez *et al.*, 2004).

En ovejas y cabras, el olor del macho estimula y aumenta la secreción de LH e induce la ovulación, aunque la respuesta es menor, que cuando se tiene un

contacto total con hembras en reposo sexual (Knight *et al.*, 1978). Sin embargo, en cabras Vielma *et al.* (2009), reportaron que el olor y la presencia del macho incrementa la secreción de la LH, aunque después de 24 horas la pulsatilidad disminuye, lo cual sugiere que el estímulo del olor por sí mismo, no es suficiente para desencadenar la respuesta ovulatoria (Figura 9). Estos resultados difieren de los reportados en ovejas (Pearce y Oldham, 1988) y en cabras (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1999), quienes demostraron que el olor del macho es suficiente para desencadenar una respuesta sexual y ovulatoria en ovejas y cabras respectivamente. Estos estudios sugieren que la señal olfatoria está involucrada en la respuesta de las hembras sometidas al efecto macho, sin embargo, también indican que no es la única señal involucrada en la respuesta de las hembras.

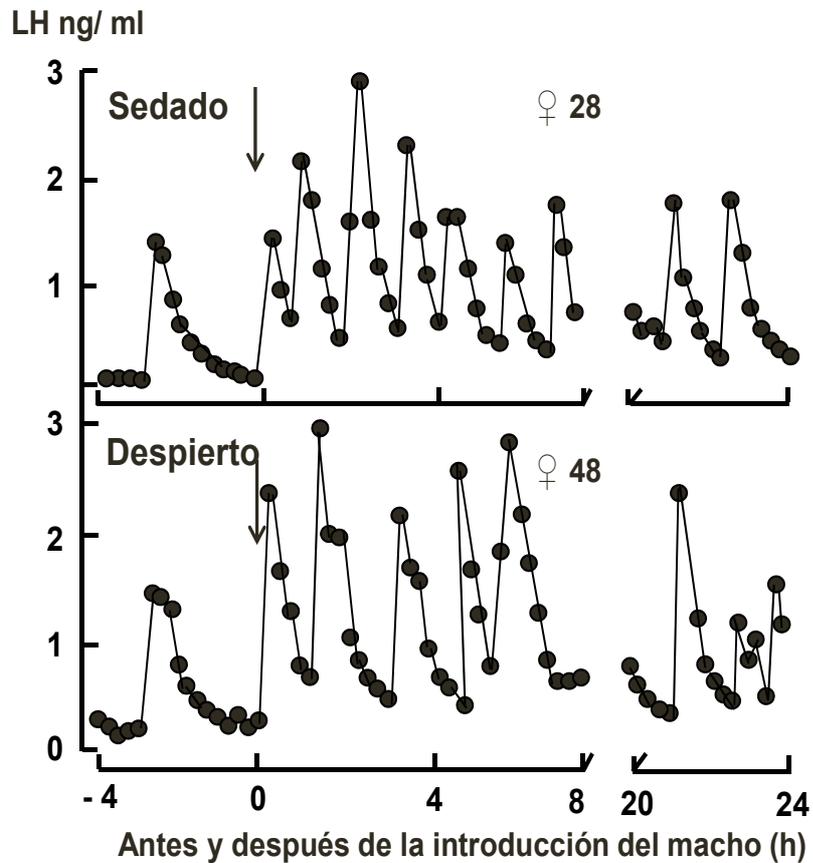


Figura 11. Perfiles plasmáticos de LH de dos de las cabras (2/10) expuestas a machos sedados y despiertos. De 0 a 4 horas antes y de 0 a 24 horas después de la introducción de los machos (Vielma et al., 2009).

2.6.4. Respuesta sexual y ovulatoria de las cabras a expuestas a señales táctiles de los machos

El tacto también está involucrado en la respuesta de las hembras sometidas al efecto macho. La comunicación táctil por sí sola, es muy rara y parece no existir en ausencia de otras señales sensoriales (Wingfield *et al.*, 1994). Estudios realizados en cabras, demuestran que la respuesta ovulatoria es menor (15%) cuando éstas están separadas por un pasillo que les impide el contacto físico con

machos, que cuando se tiene contacto físico total con los ellos (88%; Chemineau, 1987). Asimismo, estudios realizados tanto en ovejas (Pearce y Oldham, 1988) como en cabras (Shelton, 1980) demostraron que la respuesta ovulatoria de las hembras es mayor cuando se tiene contacto físico total con los machos que cuando están en contacto restringido. Estos datos sugieren que la señal táctil puede tener un papel importante en la respuesta sexual y ovulatoria de las hembras. Sin embargo, es difícil separar esta señal del comportamiento sexual.

2.7. Importancia del despliegue de las conductas de los machos durante el cortejo sexual.

En la mayoría de los mamíferos que presentan comportamiento reproductivo de poligamia, la copulación es precedida por un periodo de comportamiento sexual. Estas conductas proporcionan estimulación sexual tanto para los machos como para las hembras (Price, 1985). Las conductas características en el etograma de la conducta sexual de los machos cabríos son las siguientes: flehmen, automarraje con orina, aproximaciones laterales (nudging), intento de monta, entre otras y que se supone que su despliegue durante el efecto macho es en gran parte el mecanismo mediante el cual se presenta la estimulación de las hembras (Fabre-Nys, 2000). Se ha documentado que tanto en ovejas como en cabras, el comportamiento sexual modifica la respuesta estral y ovulatoria de las hembras sometidas al efecto macho (Flores et al., 2000; Rosa y Bryant, 2003). La intensidad del comportamiento sexual del macho influye sobre la

respuesta de las hembras. En efecto, las ovejas que han sido sometidas a machos con intenso comportamiento sexual tienen una mayor respuesta ovulatoria que aquellas que estuvieron sometidas a machos con un bajo comportamiento sexual (78% vs 59%; Perkins y Fitzgerald, 1994). Asimismo, estudios en cabras locales de la Comarca Lagunera han demostrado que la respuesta sexual de las hembras es mayor cuando están expuestas a machos sexualmente activos que en aquellas que están expuestas a machos en reposo sexual (85% vs 15%; Flores et al., 2000). Estos estudios, demuestran que el comportamiento sexual del macho está más involucrado de manera importante en la respuesta de las hembras. Sin embargo, resulta difícil separar el comportamiento sexual del conjunto de señales exteroceptivas que emite el macho en el cortejo sexual. En cabras se ha demostrado que el comportamiento sexual del macho es necesario para el mantenimiento de alta secreción de LH en cabras sometidas al efecto macho (Vielma *et al.*, 2009; Figura 12).

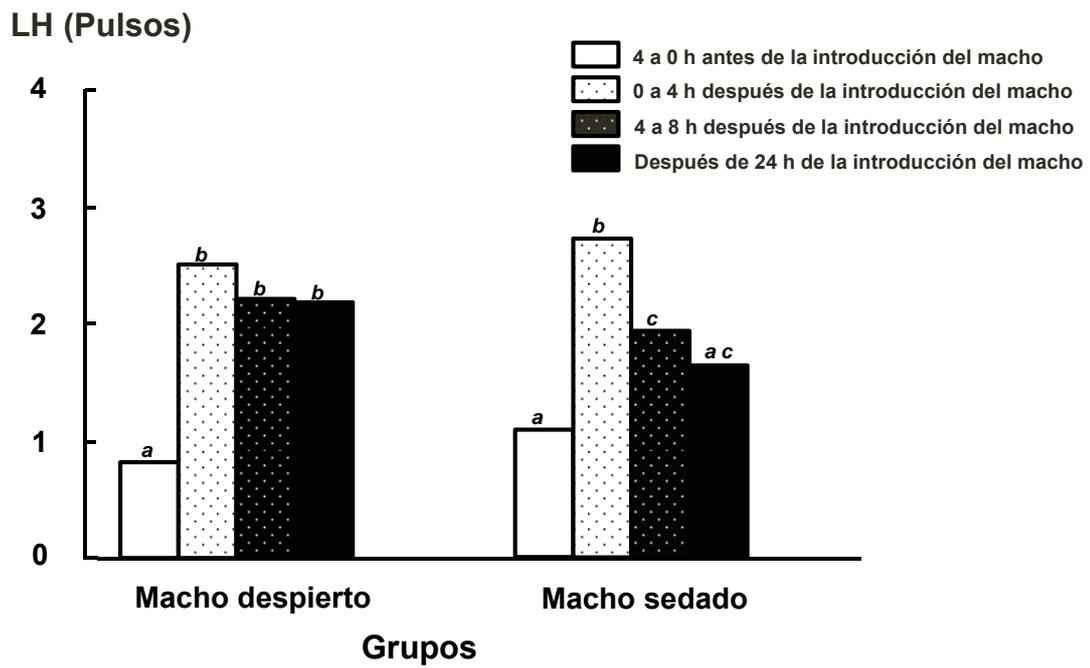


Figura 12. Pulsos de la LH en dos grupos de cabras sometidas a machos fotoestimulados, sedados y despiertos. Las barras indican periodos de 4 horas. La flecha indica el momento de la introducción del macho. Las letras diferentes (*a*, *b*, *c*) dentro de grupos indican diferencia ($P < 0.05$; adaptado de Vielma et al., 2009).

III. OBJETIVOS

El conjunto de las señales sexuales que emite el macho hacia la hembra durante el cortejo sexual induce la respuesta sexual y ovulatoria de las hembras. El comportamiento sexual, el olor y las vocalizaciones de los machos disminuyen de manera importante durante el periodo de reposo sexual. Sin embargo, los tratamientos fotoperiódicos de días largos, permite inducir sexualmente a los machos, lo cual permite a su vez que éstos desplieguen conductas sexuales, olor y vocalizaciones, aún en época de reposo sexual. El modelo del macho sexualmente activo sedado, impide el despliegue de las conductas sexuales, permaneciendo su olor.

Con base en estos argumentos, el presente estudio se propuso los siguientes objetivos:

1. Determinar si la presencia de los machos cabríos foto-estimulados sedados con las conductas sexuales suprimidas, pueden inducir el pico preovulatorio de LH y la ovulación en cabras en anestro estacional
2. Determinar si la supresión de las señales visuales y táctiles de los machos cabríos a través del contacto restringido entre machos y hembras permite la ovulación de las cabras anovulatorias en anestro estacional.

IV. HIPÓTESIS

1. La restricción de la señal tanto visual como táctil de los machos cabríos inhibe la ovulación de las cabras anovulatorias en anestro estacional sometidas al efecto macho.
2. La supresión por sedación del comportamiento sexual de los machos cabríos evita la aparición del pico preovulatorio y la ovulación en cabras en anestro estacional sometidas al efecto macho.

V. ARTÍCULOS

Artículo 1. Un intenso comportamiento sexual del macho es necesario para inducir el pico preovulatorio de LH y la ovulación en cabras anovulatorias

Enviado a: Hormones and Behavior

Artículo 2. La supresión de las señales visuales y táctiles de los machos cabríos a través del contacto restringido entre machos y hembras inhibe la ovulación de las cabras anovulatorias

Enviado a: Agraria Nueva Época

Artículo 1. An intense male sexual behavior is necessary to induce the preovulatory LH surge and ovulation in seasonally anovulatory goats

An intense male sexual behavior is necessary to induce the preovulatory LH surge and ovulation in seasonally anovulatory goats

Martínez-Alfaro, J.C.^a, Hernández, H.^a, Flores, J.A.^a, Duarte, G.^a, Fitz-Rodríguez, G.^a, Fernández, I.G.^a, Bedos, M.^a, Chemineau, P.^b, Keller, M.^b, Delgadillo, J.A.^a, Vielma, J.^{a*}

^aCentro 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.

^bINRA-CNRS-Univ. Tours- IFCE, Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380, Nouzilly, France.

*Corresponding author. Jesús Vielma. Centro 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. Fax: +52 871 729 76 50. E-mail: jesus_vielm@hotmail.com

Abstract

The present study was carried out to determine whether an intense sexual behavior of buck is necessary to induce the LH preovulatory surge and ovulation in female goats during seasonal anoestrus (April). Sexually-experienced males were treated with artificial long days (16 h light / day) from November 1 to January 15 to stimulate their sexual activity in March and April, corresponding to the natural sexual rest. A first group of goats (n=20) was exposed to these males who displayed an intense sexual behavior and provided strong odor. By contrast, another group of goats (n=20) was exposed to the photo-stimulated males, but these animals were sedated with xylazine 2% to prevent the expression of sexual behavior (sedated group). Females of this group had full physical and visual contact with males who also provided a strong odor. In both groups, the males remained with females during four days. The LH preovulatory surge of 10 female goats per group was measured by determination of LH plasma concentrations in samples taken every 3 hours. Ovulation was determined by measuring plasma concentrations of progesterone. The proportion of goats showing a preovulatory LH surge and ovulation differed among sexually active and sedated groups (LH surge: 10/10 vs 0/10; ovulation: 19/20 vs 0/20 for sexually active bucks vs sedated bucks, respectively). We conclude that the expression of an intense sexual behavior by male goats is necessary to induce LH preovulatory surge and ovulation in seasonally anovulatory goats.

Key words: libido, odor, male-effect, sedation, seasonal anealous

Introduction

In female goats or ewes that display reproductive seasonality, exposure to bucks or rams during the anestrus season can produce, within minutes of contact, an increase of luteinizing hormone (LH) secretion (short-term response), followed by estrous behavior and ovulation (long-term response) in the first five days of contact with males (Martin et al., 1986; Poindron et al., 1980; Signoret et al., 1982; Ungerfeld et al., 2004; Vielma et al., 2009). This reactivation of the gonadotrope axis is called the “male effect” (Delgadillo et al., 2009). In goats, the LH preovulatory surge occurs around 30 h after the first contact with males (Claus et al., 1990). A variable number of females display estrous behavior at the first induced ovulation around 2-5 days after male introduction. Then, most goats show a short ovarian cycle of 5-7 days of duration, followed by a second ovulation, which is accompanied by estrous behavior and a normal luteal phase of about 21 days (Chemineau, 1983, 1987; Delgadillo et al., 2002; Flores et al., 2000).

The response of females to the presence of males can be influenced by several factors including the direct physical contact between males and females or the olfactory cues displayed by males (Claus et al., 1990; Knight and Lynch, 1980; Walkden-Brown et al., 1999). Indeed, in sheep and goats, the exposure of seasonal anovulatory females to olfactory cues provided by means of wool or hair obtained from males during the breeding season, induces a rapid increase in LH secretion in most females (Claus et al., 1990; Cohen-Tannoudji et al., 1986). However, the proportion of females that ovulated is lower after exposure to only

olfactory males cues than after exposure to males (goats: 40% vs. 100%, Claus et al., 1990; sheep: 22% vs. 95%, Pearce and Oldham, 1988).

The degree of contact between sexes also modifies the response of females to the presence of males. The proportions of females that ovulated were lower when separated from males by a clear fence even if females have visual, olfactory and auditory contact with males, than those in full physical contact with males (goats: 41 % vs. 69 %, Shelton, 1980; sheep: 70% vs. 95%, Pearce and Oldham, 1988).

The intensity of the sexual behavior displayed by males is another factor that influences the quality of the response of females. Rams displaying a high sexual performance, assessed by the number of mounts in 30 min, stimulated a greater percentage of females to ovulate than rams displaying low sexual performance (95% vs. 78 %; Perkins and Fitzgerald, 1994). The same situation was observed in goats. When bucks were exposed to long days from November 1 to January 15 followed by exposure to natural photoperiod, testosterone secretion, sexual behavior, odor and vocalizations were improved from the end of February to the end of April, months corresponding to the natural period of sexual rest (Delgadillo et al., 2002, 2012; Rivas-Muñoz et al., 2007). These photo-stimulated males induced 100 % of the females to ovulate, whereas none of goats did so when exposed to control males left under natural photoperiod that were therefore sexually inactive (Delgadillo et al., 2002). The higher response observed with photo-stimulated bucks can either be due to their intense sexual behavior or their high olfactory status (Walkden-Brown et al. 1993). In fact, in female goats exposed

to a photo-stimulated male that displayed an intense sexual behavior, LH secretion increased significantly within the first 15 min after exposure, and remained elevated during 24h after the first contact between both sexes. In contrast, in goats exposed to photo-stimulated male which have been sedated to prevent the display of sexual behavior, LH secretion increased significantly in the first 4 h of contact with male, but then LH secretion decreased 24h after the first contact between sexes at levels observed before introducing the male into the group of females (Vielma et al., 2009). These results showed that the intensity of male sexual behavior is an important factor stimulating and maintaining a high LH secretion at least during 24h.

However, these results did not demonstrate whether ovulation could occur in females when exposed to the sedated males for a longer time. Therefore, the aim of the current study was to determine whether or not the presence of a photo-stimulated sedated male could stimulate the LH preovulatory surge and ovulation in seasonal anestrous goats. Considering that the intensity of sexual behavior of males is an important factor for the success of the male effect, we hypothesized that the suppression by sedation of the sexual behavior in male goats will prevent the occurrence of LH preovulatory discharge and ovulation in seasonally anovulatory female. To test our hypothesis, groups of does were exposed to either photo-stimulated sexually active males or to sedated photo-stimulated males during 4 consecutive days.

Material and Methods

Experimental design, animals and management

Two groups of seasonal anovulatory goats (n=20 each) were exposed to photo-stimulated male goats: in one group, males displayed an intense sexual behavior (sexually active males, n=2); in the other group, males were sedated to prevent the display of sexual behavior (sedated males, n=2). All females were exposed to photo-stimulated males during 4 consecutive days, but the female goats remained in their respective groups until day 12 after the first contact between sexes. Local goats from the Laguna region in the State of Coahuila, Mexico were used (Latitude 26° 23'N and Longitude 104° 47'W). In females, the anestrous period lasts from March to August; in males, the sexual rest lasts from January to April (Delgadillo et al., 1999; Duarte et al., 2008). All animals were fed alfalfa hay (18% CP) ad libitum together with 200 g per day of a commercial concentrate (14 % CP; 2.5 Mcal / kg) per male, with free access to water and mineral salts.

Stimulation of the sexual activity of the bucks

The sexual activity of males was stimulated during the natural sexual rest according to Delgadillo et al. (2002). Briefly, males were exposed in an open pen to artificial long days (16 h of light per day) from November 1st to January 15th. Artificial light was supplied from 06:00 h to 08:00 h and from 18:00 h to 22:00 h. Bucks perceived the natural light from 08:00 to 18:00. The light intensity of artificial light was at least 300 lx at the level of the eyes of the animals. Sexual behavior,

testosterone and sexual odor of bucks are maximal from 6 to 8 weeks after that males are switched to natural photoperiod (April).

Sedation of the bucks

Before introducing the males in their corresponding group of females, the bucks were determined as healthy by clinical examination before sedation. Food was withheld for 24 h and of water for 12 h before sedation. After weighing, each male was sedated during 4 consecutive days. Just before sedation, males were treated with atropine sulfate at a dose of 0.05 mg /kg. After that, two males were sedated with Xylazine 2% at a dose of 0.01 mg/kg. This sedation was repeated at intervals of 2 h approximately, depending on the individual response of each animal. The initial dose was supplied intravenously 10 min prior the contact with females. The subsequent doses were supplied intramuscularly when observing signs of recovery from sedation and when they began to perceive females and try sniffing and vocalize. This scheme of sedation avoided the males to display sexual courtship during the 4 d period that they were in contact with females. During the 4 d of experiment, sedated males could get up, drink some water and eat a little, therefore, they were treated with different nutritive solutions such as Hartman's solution, serum with vitamins and amino acid intravenously to avoid dehydration of animals and to compensate the fact that the males were not able to drink or eat at a normal level.

Female goats and the “male effect”

Multiparous and anovulatory female goats used in the experiment were selected from one commercial flock of goats that had given birth between November and February and were divided in two groups. In both groups of females, males and females were in full direct contact allowing them touch and rub with the males and detect the strong odor of males.

Sexual behavior of bucks

Two days before starting the experiment, the sexual behavior of the four bucks was assessed by measuring nudging, ano-genital sniffing, mounting attempts and flehmen during 10 min when exposed to estrus females. These four bucks displayed all components of the sexual courtship. Bucks were allocated to sedated or sexually active groups taken into account their sexual activity. Sexual behavior of the bucks was observed on days 1, 2, 3 and 4 after their introduction into the groups of females. Nudging, ano-genital sniffing, flehmen, self-urination, mounting attempts and mounting with intromission, were registered.

Odor of bucks

The intensity of the odor for each buck was determined 1 day before the introduction of the bucks with the female groups. Odor intensity was evaluated by smelling the dorsum of the neck 10-15 cm behind the base of the horns and allocating a score of 0 (neutral odor, not different from a female or a castrated male) to a 3 (strong male odor) (Walkden-Brown et al., 1993). All males had an odor score of 3.

Measurements

Groups and subgroups

Due to the inability to monitor plasmatic levels of LH in all females, concentrations of LH were determined in 10 female goats of each group; these females were randomly selected before starting the experiment. Plasma concentrations of progesterone were determined in all female goats (n=20) from each group.

Preovulatory LH peak determination

Blood samples were obtained every 3 h in both female groups during 4 d starting at day of male introduction. All samples were obtained by jugular venipuncture in 5 ml tubes containing heparin. After collection the samples were submitted to centrifugation to 2500 G during 20 min and the plasma obtained was stored to -20 °C until were assayed by immunoenzymatic assay, according to the technique of Faure et al. (2005). The sensitivity and the coefficient of variation intra-assay were 0.1 ng/ml and 8.5 %, respectively. All samples were run in a single assay.

The onset of a preovulatory surge of LH was defined as the first sample of three consecutive samples with a plasma LH concentrations ≥ 5 ng/mL. The end of a preovulatory surge of LH was defined as the first sample of three consecutive with a plasma LH concentration ≤ 5 ng/mL. Mean duration of preovulatory LH surge was defined as the number of hours between the onset and end of the preovulatory surge of LH (Christman et al., 2000).

Ovulatory activity

The ovulation was inferred by the levels of plasma concentrations of progesterone in all goats (n=20) of each group. Females with plasma progesterone concentration $\geq 0.5\text{ng/mL}$ were considered to have ovulated. Blood samples were obtained every 24 h in all females during 12 consecutive days, starting at day of male introduction. All samples were obtained by jugular venipuncture in 5 ml tubes containing heparin. Immediately after collection the samples were centrifuged at 2500 G during 20 min and the plasma obtained was stored at -20°C until hormone concentrations were measured. Concentrations of plasma progesterone were measured by ELISA immunoassay as described previously by Canépa et al. (2008). Sensitivity was 0.1 ng/mL. The intra and inter-assay coefficients of variation were 5 and 7 % respectively.

Statistical analyses

Proportion of goats showing a preovulatory surge of LH and those that ovulated when exposed to sexually active or sedated males was compared by Fisher's exact test. The onset, duration and end of the preovulatory surge of LH are expressed as mean \pm S.E.M. Sexual behaviors of male goats two days before their introduction with females, as well as sexual behaviors during the contact with female goats, were analyzed by means of the two sample *t* test.

Ethical note

The procedures used in these experiments were in accordance with the guide for the care and use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching (FASS, 1999).

Results

LH secretion

The occurrence of the preovulatory surge of LH in goats exposed to the sexually active males was greater than in those exposed to sedated ones ($P < 0.0001$; Figure 1). In fact, all females (10/10) in contact with the sexually active males showed a synchronized preovulatory surge of LH, whereas none of the goats (0/10) exposed to the sedated males did so during the 4 days after the introduction of males. In the females exposed to sexually active males, the interval between the introduction of males and the onset of preovulatory surge of LH was $35 \text{ h} \pm 7 \text{ h}$ (Figure 4), whereas the end of the LH surge occurred at $41 \pm 7 \text{ h}$ after introduction of the males. The length of the preovulatory surge of LH was $5 \pm 1 \text{ h}$.

Ovulatory activity

The proportion of goats that ovulated differed between goats in contact with the sexually active and sedated males ($P < 0.0001$). Indeed, the proportion of goats that ovulated was greater in females exposed to the sexually active males than in those exposed to sedated ones (19/20 and 95% vs 0/20 and 0%, respectively; $P < 0.0001$; Figure 1).

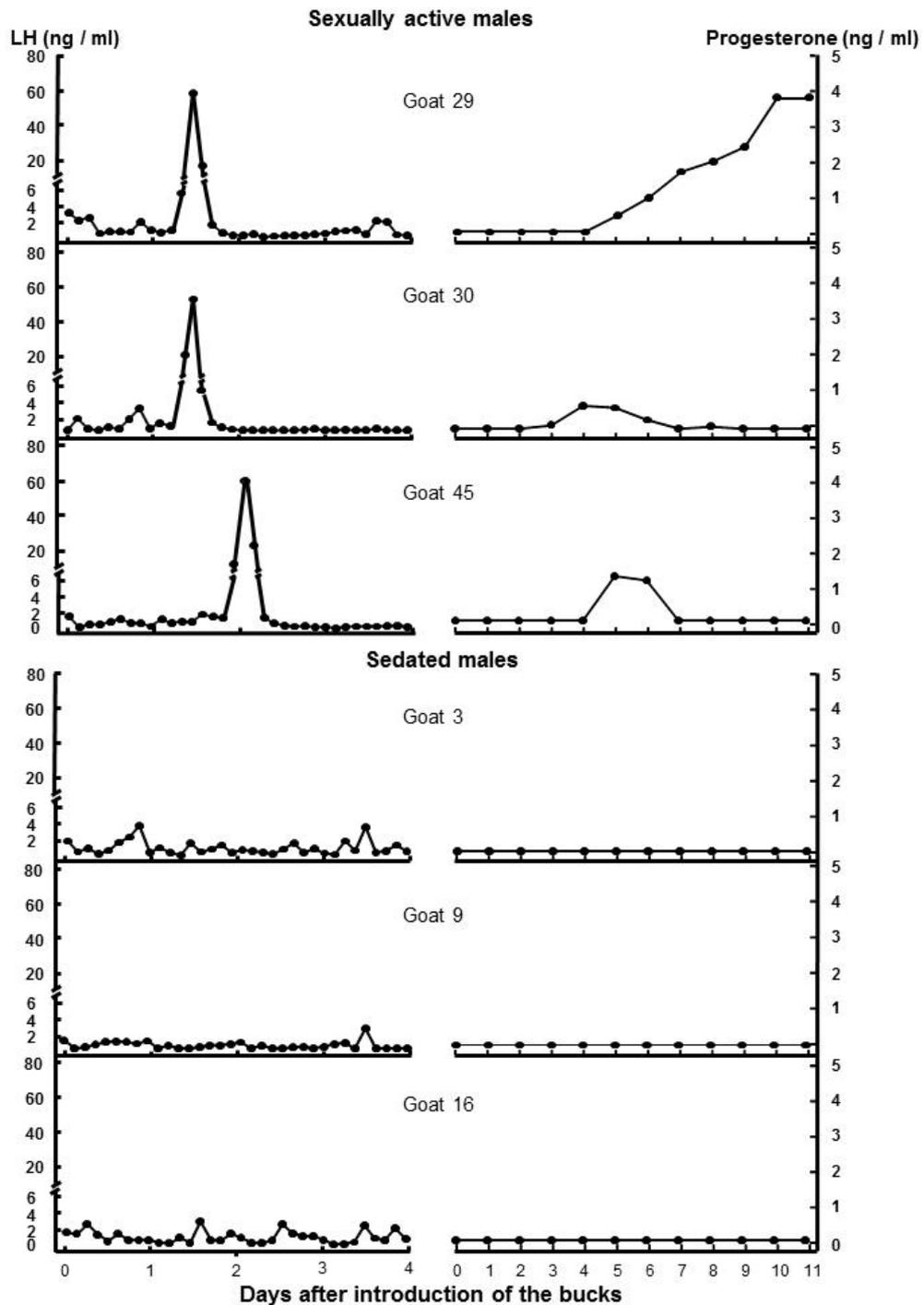


Figure 1. Representative profiles of secretion of plasma luteinizing hormone (LH) and progesterone in female goats exposed during 4 days to sedated (goats 3, 9 and 16) or sexually active (goats 29, 30 and 45) bucks. The bucks were rendered sexually active during non-breeding season by exposure to long days (16 h of light per day) from November 1st to January 15th.

Sexual behavior of males

Sexual behaviors of the males before introduction with females are shown in Figure 2. There were no differences in these sexual behaviors between sexually active and sedated groups of males ($P > 0.05$). After of their introduction with female goats, during four days of contact, only the sexually active males displayed the sexual behaviors (Fig. 3) while the group of sedated males did not ($P < 0001$).

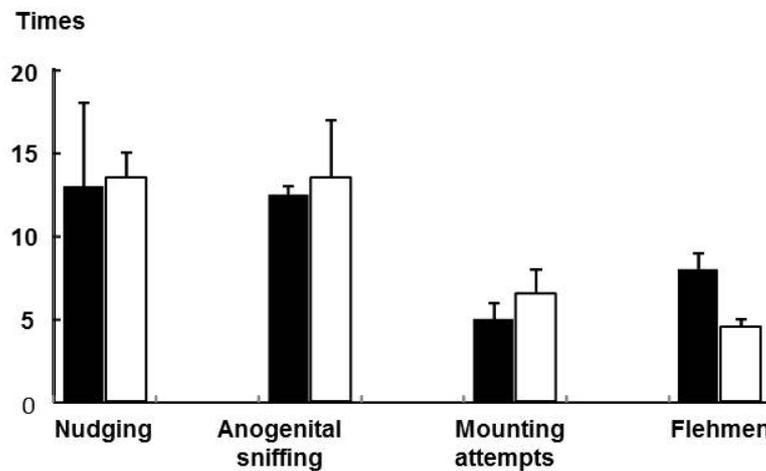


Figure 2. Frequencies of nudging, ano-genital sniffing, mounting attempts and flehmen (mean \pm SEM) in experimental male goats rendered sexually active by exposure to long days (16 h of light by day) from November 1st to January 15th, observed at 8:00 h during 10 min, two days before the introduction of males on their corresponding female goats group: sexually active group (solid bars), or sedated group (open bars). There were not differences in all behaviors ($P > 0.05$).

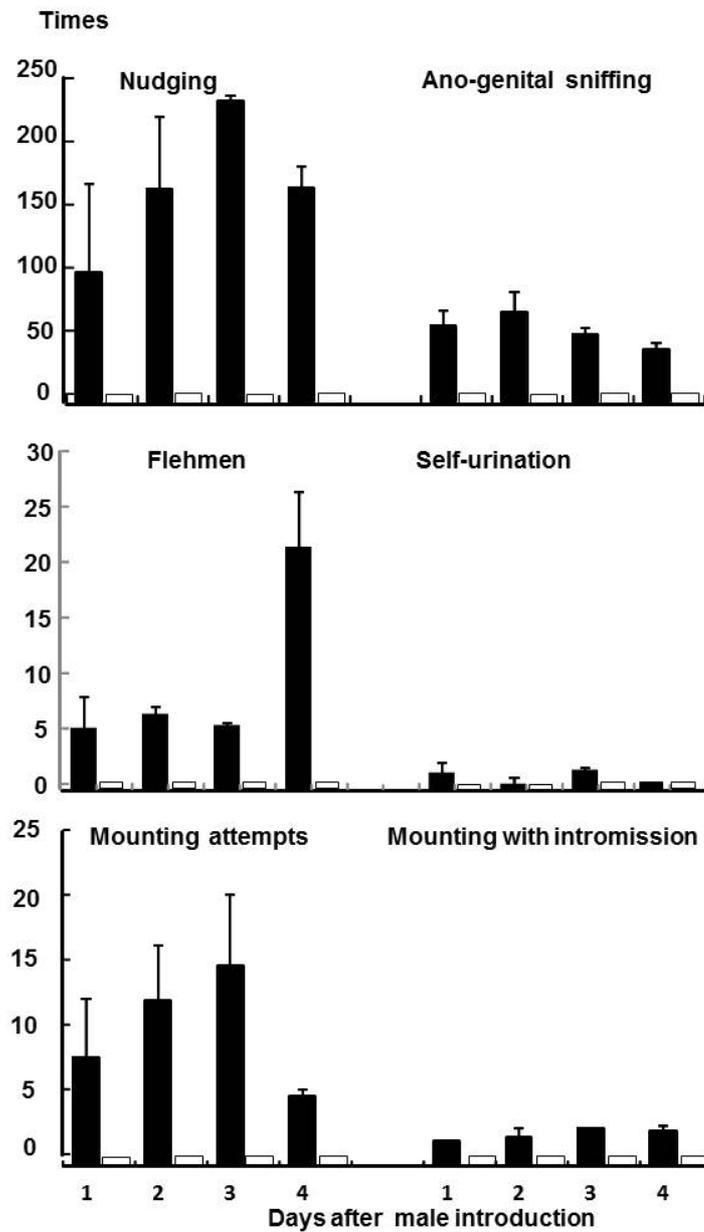


Figure 3. Frequencies of nudging, ano-genital sniffing, flehmen, self-urination, mounting attempts and mountings with intromission in experimental male goats rendered sexually active by exposure to long days (16 h of light by day) from November 1st to January 15th, were observed on sexually active group (solid bars), or sedated group (open bars), during 1 h, on day 1, 2, 3 and 4 after buck introduction in their corresponding female goats group ($P < 0001$).

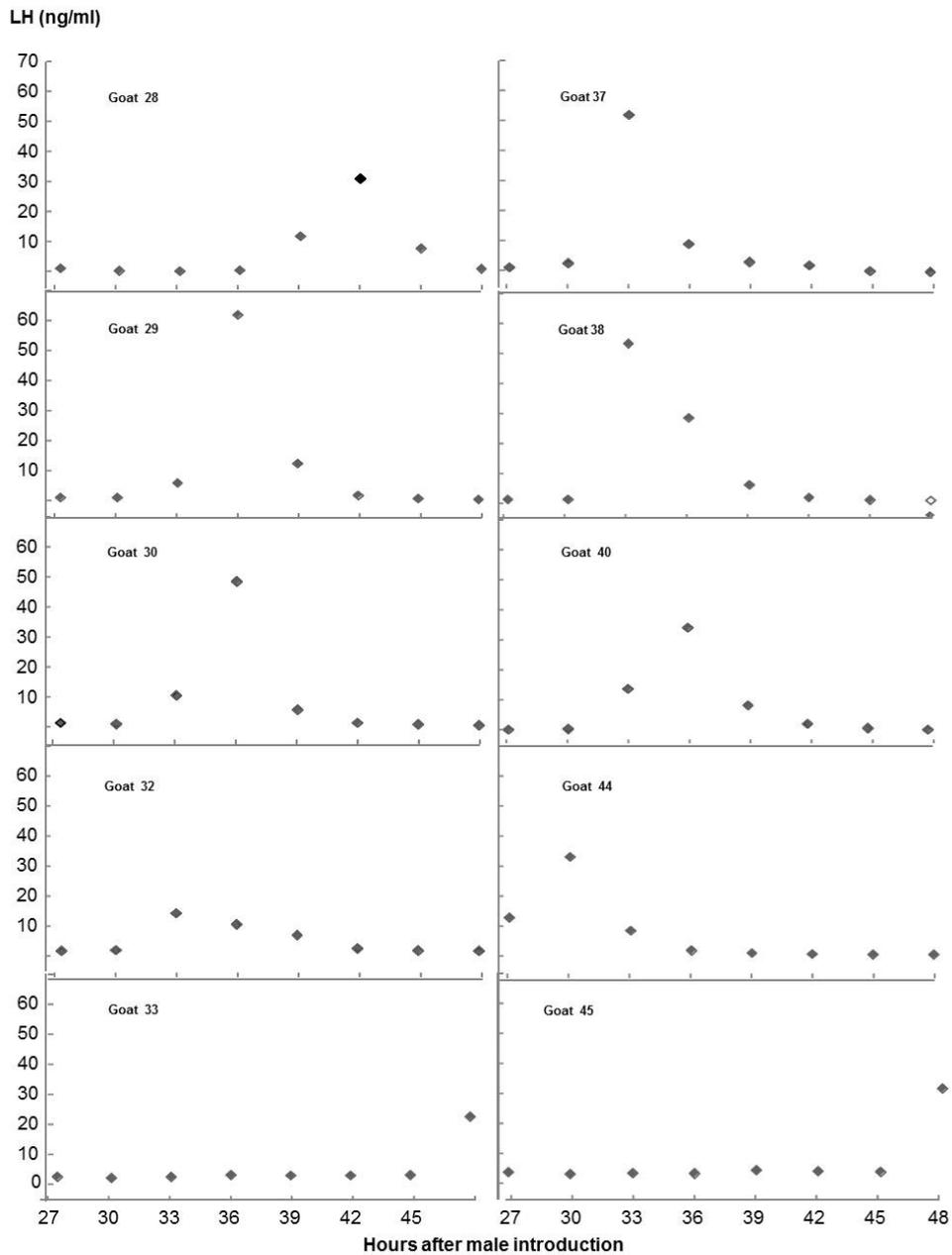


Figure 4. Peak LH level in female goats exposed during four consecutive days to sexually active males. In the figure is showing the second day of contact.

Discussion

In accordance with our initial hypothesis, the suppression, through sedation, of sexual behavior in male goats, prevents the occurrence of the preovulatory LH surge (0/10) and ovulation (0/20) in seasonal anestrous females. In contrast, all blood-sampled females (n=10/10) displayed a preovulatory LH surge and nearly all goats (n=19/20) ovulated when exposed to the sexually active males. Therefore, our study demonstrates that an intense sexual behavior of males is necessary to provoke a preovulatory surge of LH that induces ovulation in anovulatory female goats exposed to the male effect.

These results are in line with our previous study (Vielma et al., 2009) which showed that the intensity of buck sexual behavior contributes to the maintenance of high LH pulsatility in females during the first 24h of contact with male. By contrast to sexually active males, sedated bucks stimulated LH pulsatility only during the first 4-8 h of contact with males and LH pulsatility fades after this initial period. In the study of Vielma et al. (2009), the contact between females and sexually active or sedated males lasted only one day, and LH surge and ovulation were not determined. In the present study, the contact between both sexes lasted four days, thus allowing determining LH surge and ovulation. The combination of both studies now allows a full comparison of the physiological effects induced by sexually active vs sedated bucks from the introduction of the male until ovulation.

In addition, the characteristics of the LH surge observed in our study coincide with those described previously by others and occurred about 36 hours

after the introduction of the sexually active males (Christman et al., 2000; Claus et al., 1990; Knight et al., 1978). Our results also showed that the goats exposed to the sexually active males ovulated around 20-24 h after preovulatory surge as reported previously (Chemineau, et al., 1991; Mori and Kano, 1984). In fact, 95 % (19/20) of goats exposed to sexually active males ovulated during the first 6 days after introduction of the males, whereas the females exposed to the sedated males, did not so. These results are consistent with the fact that the males displaying intense sexual behavior are more efficient to stimulate ovulation in anestrus females than those with a low sexual behavior (Delgadillo and Vélez, 2010; Flores et al., 2000; Perkins and Fitzgerald, 1994).

Vielma et al. (2009) suggested that the strong odor of the sedated males was responsible for the immediate increase in the plasma concentration of LH, as showed previously in females exposed to hair of bucks obtained during the breeding season (Over et al., 1990). Our results further demonstrate that smell provided by sedated males is not efficient enough to induce LH surge in the anestrus goats. However, these results clearly differ from those described in goats and ewes indicating that a LH surge is induced when does are exposed only to male olfactory cues (Chemineau et al., 1986; Claus et al., 1990; Cohen-Tannoudji et al., 1994; Pearce and Oldham, 1988; Watson and Radford, 1960). The difference between our study and others concerning the stimulation of LH by the olfactory cues could be due to experimental conditions. In most studies, the odor of males was provided by wool or hair directly and continuously by means of a mask. In contrast, in our study, females received the odor from sedated males and

the contact with them was not continuous during the whole study. Another possibility could be that our study was performed in April, when the secretion of LH is strongly inhibited by photoperiod (Duarte et al., 2008), and females probably need a stronger stimulus than the odor of sedated males to activate their endocrine and sexual activities (Delgadillo et al., 2009). Our results confirm that the suppression of sexual behavior of the photo-stimulated bucks by sedation did not induce ovulation despite the full physical contact between males and females and the strong odor provided by males.

It is also interesting to mention that other sensory stimulations such as vocalizations emitted by sexually active bucks could participate to LH surge and ovulation. Indeed, it has been shown that vocalizations from sexually active males can participate to LH pulsatility in anovulatory female goats during the first hours following male introduction (Delgadillo et al., 2012). Having observed that sedated males did not emit any vocalizations, it is therefore possible to imagine that these stimulations could also trigger both LH surge and ovulation in addition to olfactory and somatosensory cues.

All bucks used in the current study were submitted to 2.5 months of long days to stimulate their sexual activity during the non-breeding season (Delgadillo et al., 2002). In fact, prior to the study, males had a strong odor with a score 3 and showed an intense sexual behavior in the test before the onset of the experiment. The efficiency of the photo-stimulated bucks to induce and synchronize the LH surge and ovulation in goats, has been reported in various experiments (Delgadillo et al., 2002; Flores et al., 2000; Rivas-Muñoz et al., 2007). In the present study, the

photo-stimulated sedated bucks were not able to induce the LH surge and ovulation in the anestrous goats. So, our results suggest that the photo-stimulated males must display an intense sexual behavior to induce LH surge and ovulation. If males submitted to the photoperiodic treatment did not display an intense sexual behavior, they are not able to stimulate the sexual activity of does. These data show that sexual behavior is the most important signal in triggering ovulatory response in anestrous females, as had been suggested earlier (Delgadillo et al., 2006; Flores et al., 2000; Shelton, 1980; Walkden-Brown, et al., 1999).

Conclusion

To conclude, results of this study shown that an intense sexual behavior of the photo-stimulated bucks is necessary for the occurrence of the preovulatory surge of LH and ovulation in anovulatory female goats.

Acknowledgments

The authors are grateful to Anne-Lyse Lainé and Corinne Lacie from the platform of hormonal assay of the laboratoire de Physiologie de la Reproduction et des Comportements of the INRA of Nouzilly, France for carrying out the LH and progesterone assays. We also express our thanks to all members of the Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro for their technical assistance; to Esther Peña and Dolores López for their efficient secretarial and administrative assistance. We also thank Teódulo Esparza for providing the female goats for this study. J.C. Martínez-Alfaro was supported by a scholarship of CONACYT during his doctoral studies (number of scholarship CVU-96498). This work was supported by grants from the “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) and by the “Programa de Cooperación de Posgrado” between France and Mexico (03/09: “El efecto macho en cabras: tiempo de contacto entre los sexos y mecanismos subyacentes”).

References

- Canépa, S., Lainé, A.L., Bluteau, A., Fagu, C., Flon, Ch., Monniaux, D., 2008. Validation d'une method immunoenzymatique pour le dosage de la progesterone dans le plasma des ovins et des bovins. Cah. Techn. Inra. 64, 19-30.
- Chemineau, P., 1983. Effect on oestrus and ovulation of exposing creole goats to the male at three time of the year. J. Reprod. Fertil. 67. 65-72.
- Chemineau, P., 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. Livest. Prod. Sci. 17, 135–147.
- Chemineau, P., Cognie, Y., Guerin Y., Orgeur, P., Vallet, J.C., 1991. Training manual on artificial insemination in Sheep and Goats. FAO Animal Production and Health Paper. No. 83. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Pp. 31-96.
- Chemineau, P., Levy, F., Thimonier, J., 1986. Effects of anosmia on LH secretion, ovulation and oestrous behavior induced by males in the anovular Creole goat. Anim. Reprod. Sci. 10, 125-132
- Christman, S.A., Bailey, M.T., Head, W.A., Wheaton, J.E., 2000. Induction of ovarian cystic follicles in sheep. Domest. Anim. Endocrinol. 19, 133-146.
- Claus, R., Over, R., Dehnhard, M., 1990. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. Anim. Reprod. Sci. 22, 27–38.

- Cohen- Tannoudji, J., Einhorn, J., Signoret, J.P., 1994. Ram sexual pheromone: First approach of chemical identification. *Physiol. Behav.* 56, 955-961.
- Cohen- Tannoudji, J., Locatelli, A., Signoret, J.P., 1986. Non-Pheromonal stimulation by the male of LH release in the anoestrus ewe. *Physiol. Behav.* 36, 921-924.
- Delgadillo, J.A., Canedo, G.A., Chemineau, P., Guillaume, D., Malpoux, B., 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male goats in subtropical Northern Mexico. *Theriogenology.* 52, 727-737.
- Delgadillo, J.A., Vielma, J., Hernández, H., Flores, J.A., Duarte, G., Fernández, I.G., Keller, M., Gelez, H., 2012. Male goat vocalizations stimulate the estrous behavior and LH secretion in anestrus goats that have been previously exposed to bucks *Horm. Behav.* 62, 525-530.
- Delgadillo, J. A., Flores, J. A., Véliz, F. G., Hernández, H. F., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P., 2002. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats treated only with artificially long days. *J. Anim. Sci.* 80, 2780-2786.
- 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 bucks for the success of the male effect in goats. *Reprod. Nutr. Dev.* 46, 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. *Behav. Brain Res.* 200, 304-314.

- 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. *Domest. Anim. Endocrinol.* 35, 362-370.
- FASS, 1999. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals.
- Faure, M.O., Nicol, L., Fabre, S., Fautaine, J. Mohoric, N., McNeilly, A., Toragnat, C., 2005. BMP-4 Inhibits follicle-stimulating hormone secretion in ewe pituitary. *J. Endocrinol.* 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. *Biol. Reprod.* 62, 1409–1414.
- Knight, T.W., Lynch, P.R., 1980. The pheromones from rams that stimulate ovulation in the ewe. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 13, 74–76.
- Knight, T.W. Peterson, J., Payne, E., 1978. The ovarian and hormonal response of the ewe to stimulation by the ram early in the breeding season. *Theriogenology*. 10, 343-353.
- Martin, G.B., Oldham, C.M., Cognie, Y., Pearce, T.D., 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. *Livest. Prod. Sci.* 15, 219-247.

- Mori, Y., Kano, Y., 1984. Changes in plasma concentrations of LH, progesterone and oestradiol in relation to the occurrence of luteolysis, oestrus and time of ovulation in the Shiba Goats (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.* 72, 223-230.
- Over R., Cohen-Tannoudji, J., Dehnhard, M., Claus, M., Signoret, J.P., 1990. Effects of pheromones from male goats on LH secretion in anoestrous ewes. *Physiol. Behav.* 48, 665-668.
- Pearce, G.P., Oldham, C.M., 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 84, 333-339.
- Perkins, A., Fitzgerald, J.A., 1994. The behavioral component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrous in anovulatory ewes. *J. Anim. Sci.* 72, 51-55.
- Poindron, P., Cognié, Y., Gayerie, F., Orgeur, P., Oldham, C.M., Ravault, J.P., 1980. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by introduction of rams. *Physiol. Behav.* 25, 227-237.
- 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. *J. Anim. Sci.* 85, 1257-1263.
- Shelton, M., 1980. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res.* 1, 156-162.
- Signoret, J.P., Fulkerson, W.J., Lindsay, D.R., 1982. Effectiveness of testosterone-treated wethers and ewes as teasers. *Appl. Anim. Ethol.* 9, 37-45.
- Ungerfeld, R., Forsberg, M., Rubianes E., 2004. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. *Reprod. Fertil. Dev.* 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 anestrus 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. Suppl.* 52, 243–257.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Henniawati., 1993. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrus females. *Anim. Reprod. Sci.* 32, 69-84.
- Watson, R.H, Radford, H. M., 1960. The influence of rams on onset of oestrus in Merino ewes in the spring. *Aust. J. Agric. Res.* 11, 65-71.

Artículo 2. La supresión de las señales visuales y táctiles de los machos cabríos a través del contacto restringido entre machos y hembras inhibe la ovulación de las cabras anovulatorias

La supresión de las señales visuales y táctiles de los machos cabríos a través del contacto restringido entre machos y hembras inhibe la ovulación de las cabras anovulatorias

The suppression of visual and tactile cues from bucks by restricted contact between females and male prevents the ovulation in anovulatory female goats

Martínez-Alfaro, J.C.^a, Hernández, H.^a, Flores, J.A.^a, Duarte, G.^a, Fitz-Rodríguez, G.^a, Delgadillo, J.A.^a, Vielma, J.^{a*}

^aCentro 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.

*Corresponding author. Jesús Vielma. Centro 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. Fax: +52 871 729 76 50. E-mail: jesus_vielm@hotmail.com

Resumen

El presente estudio se realizó para determinar si la restricción de las señales visuales y táctiles emitidas por el macho cabrío durante el cortejo sexual es suficiente para inhibir la respuesta ovulatoria de las cabras en anestro estacional. Se utilizaron seis machos sexualmente activos mediante foto-estimulación y dos machos en reposo sexual. Se utilizaron hembras caprinas locales (26° Latitud Norte), multíparas. Un grupo de hembras se expuso a contacto físico total con 2 machos en reposo sexual (Grupo contacto total SI). Un segundo grupo de hembras fue expuesto a una restricción visual y táctil con dos machos foto-estimulados (Grupo restricción visual y táctil). Un tercer grupo de hembras fue expuesto a restricción táctil con 2 machos foto-estimulados, (Grupo restricción táctil). Un cuarto grupo de hembras, fue expuesto a contacto físico total con dos machos foto-estimulados (Grupo contacto total SA). La actividad ovárica de las hembras se determinó mediante una ecografía transrectal y se corroboró mediante el análisis de la concentración plasmática de progesterona. La proporción de hembras con respuesta ovárica se analizó con una prueba de Chi-square. La proporción de las hembras que ovularon fue más alta en el grupo contacto total SA (14/15; 93%), respecto a los grupos contacto total SI, restricción visual y táctil y restricción táctil (0/15; 0%, 1/15; 7%, 0/15; 0%, respectivamente, $P < 0.0001$). Se concluye que supresión las señales visuales y táctiles a través de un contacto restringido entre machos y hembras inhibe la respuesta ovulatoria de las cabras en anestro estacional.

Palabras clave: Comportamiento sexual, contacto restringido, efecto macho, anestro estacional.

Abstract

The present study was performed to determine whether the restriction of visual and tactile cues emitted by bucks during courtship is sufficient to inhibit the ovulatory response of female goats during seasonally anestrous. We used six sexually active males by photo-stimulation and two males in sexual rest. Were used local and multiparous female goats. A group of females exposed to full physical contact with two males in sexual rest (Total contact, SI group). A second group of females was exposed to visual and tactile restriction with 2 photo-stimulated males (Visual and tactile restriction group). A third group of females was exposed to tactile restriction with 2 photo-stimulated males (Tactile restriction group). A fourth group of females, was exposed to full physical contact with two photo-stimulated males (Total contact, SA group). The ovulatory activity of females was determined by transrectal ultrasonography and was corroborated by determination of plasma progesterone. The proportion of females with ovarian response was analyzed with a Chi-square test. The proportion of female with ovulation was higher in the total contact SA group (14/15, 93%) compared to Total contact groups SI, Visual and tactile, and Tactile restricted groups (0/15, 0%, 1/15, 7%, 0/15, 0%, respectively, $P < 0.0001$). We conclude that suppression of visual and tactile cues through a restricted contact between males and females inhibits the ovulatory response of seasonally anestrous goats.

Key words: Sexual behavior, restricted contact, male effect, seasonal anestrous.

Introducción

Las hembras caprinas en periodo de reposo sexual reinician su actividad sexual y ovárica en respuesta a la exposición con machos (Martin *et al.*, 1986; Perkins y Fitzgerald; 1994; Walkden-Brown *et al.* 1999). Este fenómeno fue primeramente reportado en ovejas por Watson y Radford (1960) y en cabras posteriormente por Shelton (1980); y al menos en ovejas y cabras se ha reportado que este fenómeno involucra la participación de la mayoría de las señales sensoriales tales como vista, tacto, oído y olfato emitidas por el macho (Shelton 1980; Walkden-Brown *et al.* 1999; Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2006). Sin embargo, la mayor respuesta de las hembras se da cuando existe un contacto total con los machos de manera que puedan percibir, el olor, las vocalizaciones, el contacto físico y la percepción visual. El grado de contacto entre ambos sexos modifica la respuesta de las hembras a la presencia de los machos. La proporción de hembras que ovulan es más baja cuando están separadas de los machos por una malla transparente que permite el contacto visual, comparado con las hembras que están en contacto total con los machos (cabras: 41.2% vs 68.7 %, Shelton, 1980; ovejas: 70 % vs 94.5 %, Pearce y Oldham, 1988). En este sentido, en ovejas y cabras, la intensidad del contacto entre los machos y las hembras parece ser determinante en la respuesta de las hembras sometidas al efecto macho.

En ovejas y cabras, el olor del macho juega un papel importante en la respuesta ovulatoria de las hembras expuestas al efecto macho. En este sentido, se ha reportado que sólo el olor del macho estimula la secreción de LH tanto en

ovejas (Knight y Lynch, 1980; Over *et al.*, 1990; Cohen-Tannoudji *et al.*, 1994), como en cabras (Claus *et al.*, 1990); Así mismo, existe evidencia científica que indica que las señales sensoriales pueden actuar separadamente para estimular tanto la secreción de LH, como la ovulación en ovejas anéstricas (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986; Rosa y Bryant, 2002). Entre estos hallazgos se sugiere que el olor sexual del macho podría ser un factor determinante en la respuesta ovulatoria de las hembras en anestro. Sin embargo, estudios realizados en cabras en el subtrópico mexicano han demostrado que ni el olor, ni la presencia del macho son suficientes para mantener la alta secreción pulsátil de LH (Vielma *et al.*, 2009), que permita mantener altos niveles de concentración plasmática necesarios para la ovulación. Los estudios anteriores sugieron que el olor del macho puede ser el responsable del inicio del incremento en la secreción de LH, pero todas las señales sensoriales en conjunto con el comportamiento sexual del macho son las responsables del mantenimiento en la secreción pulsátil de LH y de la ovulación de las cabras anovulatorias.

Se ha demostrado en estudios en la Comarca Lagunera que los machos tratados mediante la utilización de 2.5 meses de días largos (16 h de Luz/día) a partir del 1° de Noviembre, y posteriormente someterlos a la duración natural del fotoperiodo decreciente, permite inducir a los machos a un intenso comportamiento sexual (foto-estimulados) en época de reposo sexual (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002; Rivas *et al.*, 2007). El comportamiento sexual de los machos es un factor determinante en la respuesta ovulatoria de las hembras (Perkins y Fitzgerald, 1994; Flores *et al.*, 2000). En este sentido, el

comportamiento sexual en conjunto con una intensa emisión de las señales sensoriales, inducen una alta respuesta de las hembras sometidas al efecto macho. De esta forma, el objetivo de nuestro trabajo de investigación fue determinar si la supresión de las señales visuales y táctiles a través del contacto restringido entre machos y hembras inhibe la respuesta ovulatoria de las hembras caprinas anovulatorias.

Materiales y Métodos

Diseño experimental

El diseño experimental consistió de 4 grupos de hembras caprinas anovulatorias. Un grupo de hembras fue expuesto a contacto total con machos en reposo sexual (Grupo contacto total SI; n=15); Un segundo grupo de hembras expuestas a contacto restringido con machos foto-estimulados, que permitió el contacto auditivo y olfatorio, pero impidió el contacto visual. Los machos permanecieron en un corral adyacente, dividido por unas láminas de madera de dos metros de altura (Grupo restricción visual y táctil; n=15); un tercer grupo más de las hembras fue expuesto también a contacto restringido con machos foto-estimulados, esta restricción consistió en impedir el contacto táctil, pero permitió el contacto visual, olfatorio y vocal (Grupo restricción táctil; n=15), y finalmente el cuarto grupo de hembras fue expuesta a contacto total con machos foto-estimulados (Grupo contacto total SA; n=15). Todos los machos permanecieron en contacto total y restringido con los grupos de hembras respectivamente durante 12

días. Las hembras permanecieron en sus respectivos corrales durante 18 días. El estudio fue realizado en el mes de Abril, en la Región de la Comarca Lagunera en el Estado de Coahuila, México. De manera natural en éstos machos el reposo sexual de los machos cabríos se presenta de enero a Abril (Delgadillo *et al.*, 1999); y las hembras se encuentran en anestro estacional de Marzo a Agosto (Duarte *et al.*, 2008).

Manejo de los machos utilizados

Un total de 14 machos cabríos fueron seleccionados para este diseño experimental, dividido en dos grupos. Un primer grupo (n=7 machos) fueron expuestos a tratamiento fotoperiódico de días largos artificiales (16 h por día), de acuerdo con el protocolo planteado por Delgadillo *et al.*, (2002), durante 2.5 meses (iniciando el 1° de Noviembre). Un segundo grupo (n= 7 machos) fue expuesto a las variaciones naturales del fotoperiodo local (13 h 41 min de luz en el solsticio de verano y 10 h 19 min de luz en el solsticio de invierno). De los 7 machos, fotoestimulados, fueron utilizados 6 de ellos, los cuales tenían la misma condición corporal (3.5, en escala de 1 a 5), la misma intensidad del olor (3, es escala de 0 a 3), y la misma intensidad del comportamiento sexual, la cual fue determinada 1 día antes de la introducción de los machos a los grupos de cabras experimentales. La intensidad del olor fue evaluada a través de olfatear la región dorsal del cuello del macho, cerca de la base de los cuernos. Los valores utilizados fueron los propuestos por Walkden-Brown *et al.* (1993), la cual establece un rango de 0 (olor neutral, el cual no difiere del olor de una hembra o de un macho castrado) hasta 3 (fuerte olor a macho). Todos los machos estaban en un registro de 3. De los 7

machos sexualmente inactivos, fueron utilizados dos de ellos, los cuales tenían la misma condición corporal que los foto-estimulados, sin embargo, estos machos tenían un registro promedio de olor de 0, de acuerdo a la técnica anteriormente descrita.

Hembras

Las cabras utilizadas en este experimento fueron seleccionadas de un hato comercial que parieron entre Noviembre y Febrero. Todas las hembras fueron seleccionadas bajo tres condiciones: que tuvieran una condición corporal homogénea dentro de los cuatro grupos, que fueran hembras multíparas, y que las hembras no presentaran actividad ovárica (determinada a través de un diagnóstico de ultrasonografía transrectal).

Mediciones de las variables

Actividad ovulatoria determinada mediante Ultrasonografía

Todas las hembras se sometieron a una ultrasonografía transrectal para observar sus estructuras ováricas, la cual consistió en la observación de la presencia de al menos un cuerpo lúteo en al menos uno de los ovarios para determinar que presentaron ovulación. El primer diagnóstico fue realizado a los 6 días y el segundo a los 18 días después de la introducción de los machos.

Actividad ovulatoria determinada mediante las concentraciones de P4 y Perfil de Secreción

Once de las 15 hembras de cada grupo fueron subclasificadas para determinar los niveles de concentración plasmática de progesterona, éste subgrupo fue seleccionado aleatoriamente antes del inicio del experimento. Las muestras de sangre fueron obtenidas cada 24 horas en los 4 subgrupos de hembras durante 18 días, iniciando el día de la introducción de los machos. Todas las muestras fueron obtenidas por punción en la vena yugular en tubos de 5ml que contenían heparina (anticoagulante). Inmediatamente después de la colección las muestras fueron centrifugadas a 2500G durante 20 min para recuperar el plasma y congelado a -20 °C hasta su determinación. La ovulación fue inferida que ocurrió cuando la concentración plasmática de progesterona de las hembras de cada subgrupo (n=11) fue ≥ 0.05 ng/ ml de acuerdo a lo propuesto por Gómez-Brunet et al. (1995). Las concentraciones plasmáticas de progesterona fueron medidas mediante la prueba de ELISA inmuno-ensayo en duplicado como se ha sido descrita previamente por Canépa et al. (2008). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng/ ml. Los coeficientes intra e inter-ensayo de variación fueron del 5 y 7 respectivamente.

Área de estudio

El estudio experimental fue desarrollado en ejido “El Sacrificio” en el Municipio de Matamoros en el estado de Coahuila, México, ubicado a los 25° 31´ 4’’ de Latitud Norte y 103° 13´ 42’’ de Longitud Oeste.

Análisis estadístico

La proporción de cabras que ovularon fue comparada entre grupos mediante la prueba de Chi-cuadrada. Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa estadístico SYSTAT 13 (2009).

Nota ética

El manejo de los animales utilizados en este estudio experimental fue realizado de acuerdo a la guía para el cuidado y uso de Animales de Agricultura in: Agricultural Research and Teaching (FASS, 1999).

Resultados y Discusión

Actividad ovárica

Los resultados de la ultrasonografía mostraron que las hembras del grupo en contacto total SA fue diferente ($P < 0.001$) respecto a los demás grupos. Durante los primeros 6 días después de la introducción de los machos, la proporción de hembras que ovuló fue mayor ($P < 0.001$) en el grupo contacto total SA (10/15; 67%), respecto los grupos contacto total SI, restricción visual y táctil, y restricción táctil (0/15; 0%, 1/15; 7%, 0/15; 0%, respectivamente). Asimismo, los resultados de la ultrasonografía realizadas al día 18 después de la introducción de los machos fue diferente ($P < 0.05$) en el grupo contacto total SA (4/15; 27%), respecto a los grupos contacto total SI, restricción visual y táctil, y restricción táctil (0/15; 0%, 0/15; 0%, 0/15; 0%, respectivamente). Así, en el acumulado, la proporción total de cabras que ovularon al día 18 en el grupo contacto total SA fue de 94%, la cual fue

mayor que la registradas en los grupos contacto total SI (0%, 0/15), restricción visual y táctil (7%, 1/15) y restricción táctil (0%, 0/15). Estos resultados son consistentes con el hecho de que en ovejas y cabras el contacto físico total con los machos asegura la mayor respuesta de las hembras anovulatorias (Poindron *et al.*, 1980; Chemineau, 1987; Delgadillo *et al.*, 2002). Sin embargo, difieren de los estudios realizados en ovejas (Pearce y Oldham, 1988) y cabras (Shelton, 1980; Walkden-Brown; *et al.*, 1999), quienes demostraron que las señales olfatorias, visuales y auditivas inducen la ovulación en las hembras, aunque en menor proporción que las hembras sometidas a contacto físico total con machos. Estos argumentos, refuerzan nuestra hipótesis de que la restricción de la señal tanto visual como táctil de los machos cabríos inhibe la ovulación de las cabras anovulatorias en anestro estacional sometidas al efecto macho.

La respuesta de las cabras a la exposición al olor y vocalizaciones de los machos sexualmente activos parece no ser importante en el efecto macho. Lo cual, difiere de los resultados reportados tanto en ovejas (Pearce y Oldham, 1988), como en cabras (Shelton, 1980), quienes plantean que tanto el olor como las vocalizaciones que emiten los machos son señales complementarias que permiten la respuesta sexual de las hembras en estado de reposo sexual. Sin embargo, nuestros resultados son congruentes con el hecho de que el olor y la presencia del macho cabrío sedado no son suficientes para estimular la respuesta ovárica en las hembras caprinas en reposo sexual (Vielma *et al.*, 2009). En este sentido, parece ser que todas las señales sensoriales emitidas por el macho de manera conjunta con el comportamiento sexual, participan de tal manera que la respuesta de las

hembras es sincronizada y provocan que se manifieste el patrón de repuesta conocido en el efecto macho.

Las señales visuales de machos foto-estimulados parecen no ser determinantes sobre la ovulación de hembras caprinas anéstricas. El grupo en el cual se suprimió la señal visual no mostró diferencia respecto al grupo en el que se incluyó esta señal y ninguno de los grupos con contacto restringido difirió del grupo expuesto a machos sexualmente inactivos. De esta forma, estos resultados difieren con el hecho de que las hembras expuestas a la señal visual tienen una mayor respuesta que cuando sólo se exponen a la señal olfatoria tanto en cabras por Shelton (1980) como en ovejas por Pearce y Oldham (1988). De esta forma, parece ser que la señal visual de los machos sexualmente activos no participa de manera importante en la ovulación de cabras en reposo sexual.

Perfiles de secreción de Progesterona

Los perfiles de progesterona de las cabras expuestas a diferentes grados de contacto con machos corroboraron los hallazgos encontrados en la ultrasonografía, los cuales mostraron que el grupo contacto total SA fue diferente ($P < 0.0001$) respecto a los grupos contacto total SI, restricción visual y táctil, y restricción táctil. De este modo, del día 6 al 8, después de la introducción de los machos, en el grupo contacto total SA hubo un incremento en la concentración plasmática de P4 (> 0.5 ng/ml) en la mayoría de las cabras (10/11; 90 %) indicativo del desarrollo de cuerpos lúteos. Todas las cabras (11/11; 100%) mostraron un incremento en las concentraciones plasmáticas de P4 del día 13 al 18 después de

la introducción de los machos, mientras que en los grupos contacto total SI y restricción visual y táctil, no se observó ningún incremento significativo durante los 18 días de muestreo. La proporción de cabras que mostraron un incremento en la concentración plasmática de progesterona en el grupo restricción visual y táctil, es decir que solo perciben el olor y posiblemente los ruidos del macho fue muy baja (1/11; 9 %). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre este grupo y el grupo contacto total SI (Figura 1). En este sentido, las señales sensoriales actuando aisladamente, tal como el olor y las emisiones sonoras que emiten los machos cabríos producen un estímulo inicial que desencadena la respuesta endócrina en las hembras, sin embargo este estímulo no es lo suficientemente fuerte para mantener la respuesta endocrina (Vielma *et al.*, 2009). En este sentido, nuestros resultados demuestran que las hembras expuestas al olor y a las vocalizaciones tuvieron una muy baja respuesta ovulatoria, (7%; 1/15), lo cual de acuerdo a los criterios planteados por Gómez-Brunet *et al.* (1995), quienes determinan que los valores de progesterona plasmática por encima de 0.5 ng/ml son indicativos de ovulación. En este sentido, nuestros resultados demuestran que ni el olor, ni la presencia del macho son suficientes para desencadenar la respuesta ovulatoria de las hembras caprinas en anestro estacional, lo cual difiere con el hecho de que el sistema olfatorio principal puede ser el responsable de la respuesta ovulatoria tanto en ovejas (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986) como en cabras (Booth y Webb, 2011). Probablemente, debido a que nuestro estudio fue realizado a la mitad del anestro estacional (Abril), y quizá el estímulo es muy débil para permitir la respuesta de las cabras anovulatorias.

P4 (ng / ml)

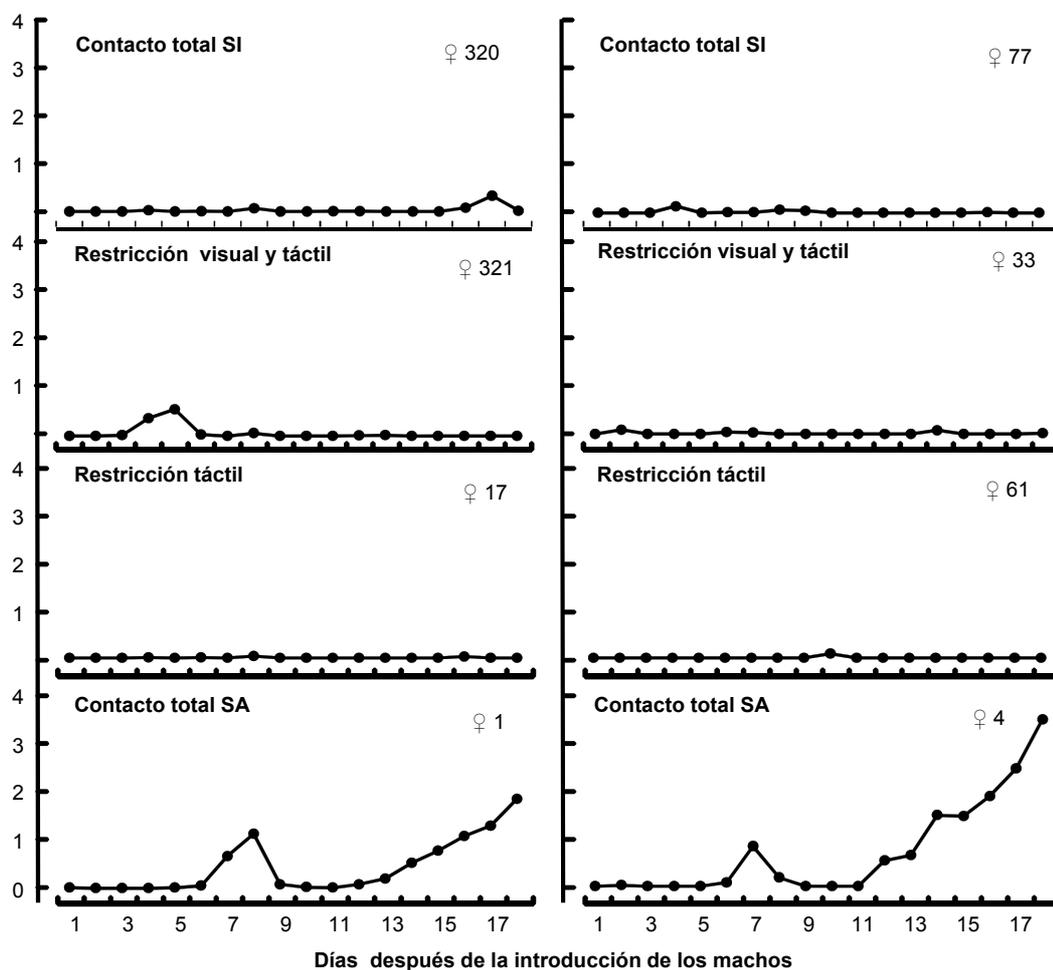


Figura 1. Perfiles representativos de secreción de Progesterona (P4) en cabras expuestas a contacto restringido con machos: (Grupo contacto total SI) hembras en contacto total con machos sexualmente inactivos. (Grupo restricción visual y táctil) hembras en contacto restringido (restricción visual y táctil) con macho sexualmente activos. (Grupo restricción táctil) hembras en contacto restringido (restricción táctil) con machos sexualmente activos. (Grupo contacto SA) hembras en contacto total con machos sexualmente activos. Los machos sexualmente activos fueron expuestos a 2.5 meses de días largos artificiales del 1° de noviembre al 15 de enero.

Los niveles de progesterona de las hembras del grupo contacto total SA se incrementaron ($> 1\text{ng/ml}$) entre el día 6 y 9 después de la introducción de los machos, lo cual sugiere que presentaron una ovulación alrededor del día 3 después de la introducción de los machos, ya que el incremento en los niveles de progesterona entre 72 y 96 horas después de la ovulación es indicativo de diestro (Chemineau *et al.*, 1982). Estos resultados son consistentes con los reportados por Delgadillo *et al.* (2002) quienes mencionan que la ovulación ocurre al tercer día después de la introducción de los machos sexualmente activos. Sin embargo, los niveles de progesterona demuestran que esa primera ovulación tuvo una fase luteal corta ya que estas hembras tuvieron un segundo incremento en los niveles de progesterona alrededor del día 12 y 13 los cuales fueron progresivos hasta obtener niveles superiores a los 8 ng/ml . Lo anterior concuerda parcialmente con los resultados obtenidos por Chemineau (1983) quien sostiene que el 89 % de las hembras que tuvieron una primera ovulación, tienen una segunda alrededor del día 12 y 13, después de la introducción de los machos. De forma general los datos muestran que el comportamiento sexual es el más importante en el desencadenamiento de la respuesta ovulatoria de cabras anéstricas, lo cual ha sido demostrado por (Shelton, 1980; Walkden-Brown, *et al.*, 1999; Flores *et al.*, 2000, Delgadillo *et al.*, 2006). En este sentido, nuestros resultados sugieren que el comportamiento sexual que los machos manifiestan cuando están en contacto físico total con las hembras es el responsable de desencadenar la ovulación en las hembras caprinas anovulatorias y que el olor y las vocalizaciones participan de manera conjunta para obtener una mayor respuesta al efecto macho.

Conclusión general

Nuestros resultados demuestran que la restricción de las señales visuales y táctiles que emiten los machos cabríos foto-estimulados hacia las hembras es suficiente para inhibir la respuesta ovárica de las hembras caprinas en anestro estacional sometidas al efecto macho.

Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agrarias Antonio Narro, por su asistencia técnica. También agradecemos a Esther Peña y Dolores López, por su asistencia técnica y administrativa. Agradecemos también al Sr. Teódulo Esparza por proporcionar sus cabras para este estudio. A CONACYT, por la beca otorgada a J.C. Martínez-Alfaro durante los estudios de doctorado (Número de beca, CVU-96498).

Literatura citada

- Booth, K.K., E.C. Webb, 2011. Effect of blockage of the ducts the vomeronasal organ on LH plasma levels during the “Whitten Effect” in Does. *Veterinary Medicine International*. Article ID 305468. 2011, 1- 8.
- Canépa, S., A.L. Lainé, A. Bluteau, C. Fagu, Ch. Flon, D. Monniaux, 2008. Validation d’une method immunoenzymatique pour le dosage de la progesterone dans le plasma des ovins et des bovins. *Cah. Techn. Inra*. 64, 19-30.
- Claus, R., R. Over, M., Dehnhard, 1990. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim. Reprod. Sci.* 22, 27–38.
- Cohen-Tannoudji, J., C. Lavenet, A. Locatelli, J. Tilled J.P. Signoret, 1986. Non involvement of the accessory olfactory system in the LH response of anoestrous ewes to male odour. *J. Reprod. Fert.* 86, 135-144.
- Cohen- Tannoudji, J., J. Einhorn, J.P. Signoret, 1994. Ram sexual pheromone: first approach of chemical identification. *Physiol. Behav.* 56, 955-961.
- Chemineau, P., D. Gauthier, J.C. Poirier, J. Saumande, 1982. Plasma levels of LH, FSH, Prolactin, Oestradiol 17-B and Progesterone during natural and induced oestrus in the dairy Goat. *Theriogenology*. 17, 313-323.
- Chemineau, P., 1983. Effect on oestrus and ovulation of exposing creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fert.* 67, 65-72.

- Chemineau, P., 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest. Prod. Sci.* 17, 135–147.
- Delgadillo, J. A., G.A. Canedo, P. Chemineau, D. Guillaume, B. Malpoux, 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male goats in subtropical Northern Mexico. *Theriogenology*. 52, 727–737.
- Delgadillo, J. A., J.A. Flores, F.G. Véliz, H.F. Hernández, G. Duarte, J. Vielma, P. Poindron, P. Chemineau, 2002. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats treated only with artificially long days. *J. Anim. Sci.* 80, 2780-2786.
- Delgadillo, J. A., J.A. Flores, F.G. Véliz, G. Duarte, J. Vielma, H. Hernández, I.G. Fernández, 2006. Importance of the signals provided by the bucks for the success of the male effect in goats. Review. *Reprod. Nutr. Dev.* 46, 391-400.
- Duarte, G., J.A. Flores, B. Malpoux, J.A. Delgadillo, 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domest. Anim. Endocrinol.* 35, 362-370.
- FASS, 1999. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals.
- Flores, J.A., F.G., Véliz, J.A. Pérez-Villanueva, G. Martínez de la Escalera, P. Chemineau, P. Poindron, B. Malpoux, J.A. Delgadillo, 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.

Gómez-Brunet, A., A. López-Sebastián, R.A. Picazo, B. Cabellos, S. Goddard, 1995. Reproductive response and LH secretion in ewes treated with melatonin implants and induced to ovulate with the ram effect. *Anim. Reprod. Sci.* 39, 23–34.

Knight, T.W., P.R. Lynch, 1980. The pheromones from rams that stimulate ovulation in the ewe. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 13, 74–76.

Martin, G.B., C.M. Oldham, Y. Cognié, T.D. Pearce, 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. A Review. *Livest. Prod. Sci.* 15, 219-247.

Over R., J. Cohen-Tannoudji, M. Dehnhard, M. Claus, J.P. Signoret, 1990. Effects of pheromones from male goats on LH-Secretion in anoestrous ewes. *Physiol. Behav.* 48, 665-668.

Pointron, P., Y. Cognie, F. Gayerie, P. Orgeur, C.M. Oldham, J.P. Ravault, 1980. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by introduction of rams. *Physiol. Behav.* 25, 227-237.

Pearce, G.P., C.M. Oldham, 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 84, 333-339.

- Perkins, A., J.A. Fitzgerald, 1994. The behavioral component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrous in anovulatory ewes. *J Anim Sci.* 72, 51-55.
- Rivas-Muñoz, R., G. Fitz-Rodríguez, P. Poindron, B. Malpoux, J.A. Delgadillo, 2007. Stimulation of estrous behavior in grazing female goats by continuous or discontinuous exposure to males. *J. Anim. Sci.* 85, 1257-1263.
- Rosa, H. J. D., M.J. Bryant, 2002. The “ram effect” as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. A review. *Small Rumin. Res.* 45, 1-16.
- SYSTAT 13, Chicago, ILL USA, 2009.
- Shelton, M., 1980. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res.* 1, 156-162.
- Véliz F.G., S. Moreno, G. Duarte, J. Vielma, P. Chemineau, P. Poindron, J.A. Delgadillo, 2002. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. *Anim Reprod Sci.* 72, 197-207.
- Vielma, J., P. Chemineau, P. Poindron, B. Malpoux, J.A. Delgadillo, 2009. Male sexual behavior contributes to the maintenance of high LH pulsatility in anestrous female goats. *Horm. Behav.* 56, 444-449.
- Vielma, J., A. Terrazas, F.G. Veliz, J.A. Flores, H. Hernández, G., Duarte B, Malpoux, J.A. Delgadillo. 2008. Las vocalizaciones de los machos cabríos no estimulan la secreción de la LH ni la ovulación en las cabras anovulatorias. *Tec. Pec. Mex.* 46, 25-36.

Walkden-Brown, S.W., B.J. Restall, Henniawati, 1993. The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrus females. *Anim. Reprod. Sci.* 32, 69-84.

Walkden-Brown, S.W., G.B. Martin, B.J. Restall, B.J., 1999. Role of male–female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 52, 243–257.

Watson, R.H., H.M. Radford, 1960. The influence of rams on onset of oestrus in Merino ewes in the Spring. *Aust. J. Agric. Res.* 11, 65-71.

VI. DISCUSIÓN GENERAL

Uno de los hallazgos más importantes de la presente tesis, es el hecho de que la supresión del comportamiento sexual del macho cabrío mediante la sedación, inhibe la aparición del pico preovulatorio de LH y la ovulación de las hembras cuando son sometidas al efecto macho. Estos resultados son consistentes con el hecho de que el comportamiento sexual del macho cabrío es necesario para el mantenimiento de la alta secreción pulsátil de la LH en cabras anovulatorias después de las 24 horas de la introducción de los machos (Vielma *et al.*, 2009). Sin embargo, nuestros resultados difieren con el hecho de que el olor del macho puede estimular la secreción de la LH, aunque la respuesta ovulatoria es más baja que cuando están expuestos a contacto total con machos (Over *et al.*, 1990; Claus *et al.*, 1990). En este sentido, los resultados de la presente tesis demuestran que ni el olor, ni la presencia del macho cabrío sexualmente activo actuando aisladamente son suficientes para inducir el pico preovulatorio de LH, ni la ovulación de las hembras en anestro estacional.

Se ha documentado ampliamente tanto en ovejas como en cabras que el contacto físico total entre machos y hembras aseguran la mayor respuesta de las hembras anovulatorias (ovejas: Poindron *et al.*, 1980; cabras: Chemineau, 1987; Delgadillo *et al.*, 2002; Véliz *et al.*, 2002). Asimismo, estudios realizados en ovejas (Pearce y Oldham, 1988) y en cabras (Shelton, 1980; Walkden-Brown *et al.*, 1999), han demostrado que las señales olfatorias, visuales y auditivas inducen la ovulación en las hembras, aunque en menor proporción que las hembras sometidas a contacto físico total con machos. Estos hallazgos, refuerzan la

hipótesis de que la restricción del comportamiento, así como de las señales visuales y táctiles del macho durante el cortejo sexual inhibe la respuesta endocrina y ovulatoria de las cabras anovulatorias sometidas al efecto macho. Por lo que sería todavía necesario explorar si seleccionando machos foto-estimulados que una intensa conducta sexual, pero evitar en las hembras el percibir el olor, el contacto, y las vocalizaciones de los machos, y de esta forma determinar si solo los “movimientos” del macho son tan eficientes para inducir la respuesta de las hembras, como cuando están todas las señales y conductas como ocurre en el cortejo sexual. Lo anterior ayudaría a explicar si la percepción de las diversas conductas “movimientos” y por ello de esas señales visuales es de importancia o no en el fenómeno de inducción.

Otro de los resultados importantes en este estudio han demostrado que la supresión de las señales visuales y táctiles a través del contacto restringido entre machos y hembras es suficiente para evitar la ovulación de las cabras en anestro estacional. La proporción de cabras que ovularon en respuesta al contacto restringido de las señales visuales y táctiles de machos foto-estimulados fue estadísticamente similar a la proporción de cabras que estuvieron en contacto total con machos sexualmente inactivos (0/15; 0% vs 1/15; 7%, respectivamente). Lo cual, difiere de los resultados reportados tanto en ovejas (Pearce y Oldham, 1988), como en cabras (Shelton, 1980), quienes plantean que tanto el olor como la señal visual pueden inducir la ovulación de las hembras expuestas a diferentes grados de contacto con machos. Por otro lado, en estudios realizados en cabras criollas de la Comarca Lagunera, demuestran que ni las vocalizaciones que emiten los

machos con hembras durante el cortejo sexual grabadas, editadas y reproducidas en discos compactos (Vielma *et al.*, 2008), ni el olor del macho cabrío son suficientes para estimular la respuesta ovárica en las hembras caprinas en reposo sexual (Vielma *et al.*, 2009), y que éstas señales podrían ser complementarias en la respuesta de las hembras sometidas al efecto macho. Al contrario, Delgadillo *et al.* (2012) demuestran que las vocalizaciones en vivo de los machos cabríos durante el cortejo sexual captadas a través de micrófonos ambientales, amplificadas y reproducidas en un corral de hembras ubicado a 200 metros, puede inducir una respuesta ovulatoria en el 33% (2/6) de las cabras. En este sentido, parece ser que todas las vocalizaciones y demás emisiones sonoras que emiten los machos directamente hacia las hembras durante el cortejo sexual tienen efectos diferentes de las vocalizaciones y ruidos de los machos que permanecen en las grabaciones después de haber editado en el laboratorio las grabaciones originales.

En el grupo de cabras, en el cual se permitió el contacto visual con los machos foto-estimulados, ninguna hembra ovuló (0/15). Estos resultados parecen indicar que ésta señal no es importante para la respuesta ovulatoria de las hembras. Sin embargo, estudios realizados en algunas razas de ovejas se ha documentado que las hembras en estro tienen preferencia por los rostros de los machos que de las hembras en estro (Kendrick *et al.*, 1995). Esto sugiere que el sentido de la vista puede ser una señal importante en al menos algunas razas de ovinos. Por otro lado en caprinos se ha reportado que los machos cabríos tienen un mejor desempeño sexual cuando tienen contacto visual con el comportamiento

de monta hembra-hembra (Shearer y Katz, 2006). Asimismo, nuestros resultados difieren con los reportados en ovejas por Pearce y Oldham(1998), y en cabras por Shelton (1980), quienes demostraron que las hembras que estuvieron en contacto visual con machos a través de una malla transparente tuvieron actividad ovulatoria. No obstante, los resultados en este estudio demuestran que el contacto visual entre las hembras anovulatorias y los machos sexualmente activos no participa en la respuesta ovulatoria de cabras en reposo sexual. Los resultados de este estudio sugieren que la señal visual por sí sola probablemente participa en la conducta sexual de las hembras, sin embargo posiblemente actúan de manera conjunta con las señales olfatorias y auditivas en la respuesta ovulatoria de las hembras sometidas al efecto macho.

Aún, no se ha determinado claramente el papel que desempeña cada una de las señales exteroceptivas en las relaciones socio-sexuales entre machos y hembras. Sin embargo, existe evidencia que las señales sensoriales que emiten los animales en las relaciones socio-sexuales se han desarrollado como un mecanismo de selección natural que les ha permitido su sobrevivencia. En algunas especies vocalizadoras, han desarrollado algunas adaptaciones anatómicas que les ha permitido modificar la relación entre el tamaño corporal y la frecuencia de dispersión en sus señales vocales, particularmente en aquellas en las que los machos y las hembras permanecen separados y que solamente en la etapa reproductiva conviven de manera conjunta, lo cual indica que los mecanismos de adaptación anatómica y funcional de las cuerdas vocales se han desarrollado como un mecanismo de selección natural (Fitch y Hauser, 2002). Las

hembras del ciervo rojo prefieren el bramido de los machos más grandes (Charlton *et al.*, 2008). Otro de los mecanismos que algunas especies de animales han desarrollado como mecanismo de adaptación es la comunicación a través de sustancias químicas “feromonas” que son emitidas por un individuo para ser percibidas por otro miembro de la misma especie. En este sentido, éstas especies de animales han utilizado ésta señal como mecanismo de atracción sexual, (Novotny, 2003). Esto sugiere, las señales sensoriales involucradas en las relaciones socio-sexuales de los ovinos y caprinos han sido parte de un proceso evolutivo, y así como estas especies se han adaptado a diversas condiciones climáticas y ambientales, probablemente también las adaptaciones anatómicas y fisiológicas que les ha permitido desarrollar la comunicación a través de las señales sensoriales han sido parte de la rusticidad de éstas especies.

VII. CONCLUSIONES

Con los resultados descritos en la presente tesis se puede concluir que tanto la supresión del comportamiento sexual de los machos foto-estimulados mediante la sedación, así como la supresión de las señales visuales y táctiles a través del contacto restringido entre machos y hembras inhiben la aparición del pico preovulatorio de LH y la respuesta ovulatoria de las cabras anovulatorias en anestro estacional, lo cual indica que ni el olor ni la presencia del macho son suficientes para inducir el pico preovulatorio de LH y la ovulación de las cabras anovulatorias. Se confirma que el comportamiento sexual del macho es necesario para el mantenimiento de la secreción pulsátil de LH de las hembras caprinas anovulatorias en reposo sexual, sometidas al efecto macho.

VIII. LITERATURA CITADA

- Arroyo, J. 2011. Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. Review. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 14, 829-845.
- Arteaga C. M., Martínez-Gómez, M., Guevara-Guzmán M., Hudson R. 2007. Comunicación Química en Animales Domésticos. Vet. Méx. 38, 105-123.
- Bedos, M., Flores, J.A., Fitz-Rodríguez, G., Keller, M., Malpaux, B., Poindron, P., 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. Fisiol. Behav. 106, 259-263.
- Blaschke, C.F., Thompson, D.L., Humes, P.E., Godke, R.A. 1984. Olfaction, sight and auditory perception of mature bulls in detecting estrual responses. In: Proceedings of 10th Int. Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. 3, 284.1–284.3.
- Bronson, F. 1989. Seasonal strategies: Ultimate factors. In: FH Bronson (Ed.), Mammalian Reproductive Biology. University of Chicago, Press, Chicago, pp. 28-59.
- Bronson, F. H., Heideman, P. D. (1994). Seasonal regulation of reproduction in mammals. In *The Physiology of Reproduction* (E. Knobil, and J. D. Neill, Eds.), pp. 541–83. Raven Press, New York.
- Bronson, F.H. 2009. Climate change and seasonal reproduction in mammals. Phil. Trans. R. Soc. B. 364, 3331-3340.

- Carrillo, E., Véliz, F.G., Flores, J.A., Delgadillo, J.A. 2007. El decremento en la proporción de macho-hembra no disminuye la capacidad para inducir la actividad estral de las cabras anovulatorias. *Tec. Pec. Méx* 45, 319-328.
- Charlton, B.D., Reby, D., McComb, K. 2008. Effect of combined source (F0) and filter (formant) variation on red deer hind response to males roars. *J. Acoust. Soc. Am.* 123, 2936-2943.
- Chemineau, P. 1986. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity, *Reprod. Nutr. Dévelop.* 26, 441-452.
- Chemineau, P., Levy, F., Thimonier, J., 1986. Effects of anosmia on LH secretion, ovulation and oestrous behavior induced by males in the anovular Creole goat. *Anim. Reprod. Sci.* 10, 125-132
- Chemineau, P. 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest. Prod. Sci.* 17, 135–147.
- Chemineau, P., Cognie, Y., Guerin Y., Orgeur, P., Vallet, J.C., 1991. Training manual on artificial insemination in Sheep and Goats. *FAO Animal Production and Health Paper. No. 83.* Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Pp. 31-96.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A., Guérin, Y., Ravault, J.P., Thimonier, J., Pelletier, J. 1992a. Control of sheep and goats reproduction: use of light and melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 30, 157-184.

- Chemineau, P., Daveau, A., Cognié, Y., Maurice, F., Delgadillo, J.A. 1992b. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rumin. Res.* 8, 229-312.
- Chemineau, P., Morello, H., Delgadillo, J.A., Malpoux, B. 2003. Estacionalidad reproductiva en pequeños rumiantes: Mecanismos fisiológicos y técnicas para la inducción de una actividad sexual a contra-estación. 3er Congreso ALEPRICS, Villa del Mar, Chile. Pp 1-16
- Chemineau, P., Menassol, J.B., Scaramuzzi, R.J., Malpoux, B. 2010. Seasonal rhythms of reproductive activity in sheep and goats are driven by photoperiod but modulated by the male effect and nutrition in: Muñoz-Gutiérrez, M., Delgadillo, J.A., Retana-Marquez, M.S. (Ed.) *Fisiología Reproductiva en Mamíferos. Simposio Internacional. México, D.F.* Pp. 27-44.
- Claus, R., Over, R., Dehnhard, M. 1990. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim. Reprod. Sci.* 22, 27–38.
- Cohen-Tannoudji, J., Locatelli, A., Signoret, J.P., 1986. Non-pheromonal stimulation by the male of LH release in the anoestrus ewe. *Physiol. Behav.* 36, 921-924.
- Cohen-Tannoudji, J., Lavenet, C., Locatelli, A., Tillet, Y., Signoret, J.P., 1989. Non-involvement of the accessory olfactory system in the LH response of anoestrous ewes to male odour. *J. Reprod. Fertil.* 86, 135-144.
- Cushwa, W.T., Bradford, G.E., Stabenfeld, G.H., Berger, Y.M., Dally, M.R. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in aneestrous ewes: effects of

- isolation of ewes of rams before joining and date of ram introduction. *J. Anim. Sci.* 70, 1195-1200.
- 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., Leboeuf, B., Chemineau, P. 1991. 1992. Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by photoperiodic cycles in goat bucks. *Small Rum Res* 9:47-59
- 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. *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 goats in subtropical Northern Mexico. *Theriogenology*. 52, 727-737.
- Delgadillo, J.A., Cortes-López, M.E., Duarte, G., Malpoux, B. 2000. El fotoperiodo modifica la actividad sexual de los machos cabríos criollos del subtrópico mexicano. XLII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. XX Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiológicas. Cancún, Quintana Roo, México. C191.
- Delgadillo, J. A., Carrillo, E., Moran, 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. *J Anim Sci* 79:2245- 2252
- Delgadillo, J. A., Flores, J. A., Véliz, F. G., Hernández, H. F., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P. 2002. Induction of sexual activity in lactating

- anovulatory female goats treated only with artificially long days. *J. Anim. Sci.* 80, 2780-2786.
- Delgadillo, J. A., Fitz-Rodríguez, G., Duarte, G., Véliz, F. G., Carrillo, E., Flores, J., Vielma, J., A., Hernández, H. Malpoux, B. 2004. Management of photoperiod to control caprine reproduction in subtropics. *Reprod. Fertil. Dev.* 16, 471-478.
- 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 bucks for the success of the male effect in goats. Review. *Reprod. Nutr. Dev.* 46, 391-400.
- Delgadillo, J. A., Vielma, J., Flores, J. A., Véliz, F. G., Duarte, G., Hernández, H. F. 2008. La calidad del estímulo emitido por el macho determina la respuesta de las cabras sometidas al efecto macho. Revisión. *Tropical and subtropical agroecosystems.* 9, 39-45.
- 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. *Behav. Brain Res.* 200, 304-314.
- Delgadillo J.A., Vielma, J., Hernández, H.H., Flores, J.A., Duarte, G., Fernández, I.G., Keller, M., Gelez, H. 2012. Male goats vocalization stimulate the estrus behavior and LH secretion in anestrous goats that have been previously exposed to bucks, *Horm. Behav.* 62, 525-530.

- Duarte, G., Flores, J.A., Malpaux, 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.
- Fabre-Nys C. 2000. Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. *INRA Prod Anim.* 13, 11-23.
- Fernández, 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 response of LH, estrus or fertility in anestrous goats exposed to sexually active males. *Horm. Behav.* 60, 484-488.
- Fitch, W.T., Hauser, M. 2002. Unpacking “honesty” Vertebrate vocal production and the evolution of acoustic signals. In *Acoustic communications.* 1, 65-137.
- 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. *Anim. Reprod. Sci.* 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. *Biol. Reprod.* 62, 1409–1414.
- Gelez, H., Archer, E., Chesneau, D., Campan, R., Fabre-Nys, C. 2004. Importance of learning in the response of ewes to male odor. *Chem. Senses.* 29, 555-563.

- Gelez, H. Fabre-Nys, C. 2004. The "male effect" in sheep and goats: A review of the respective roles of the two olfactory system. *Horm. Behav.* 46, 257-271.
- Girard, L. 1813. Moyens employés avec succès, par M. Morel de vindé, Membre de la société d'Agriculture de Seine et Oise, pour obtenir, dans le temps le plus court possible, la fécondation du plus nombre des brebis portères d'un troupeau. *Ephémérides de la société d'Agriculture du Département de l'Indre pour l'an 1813. Séanse du 5 September, VIII Cahier, Chateaux-Roux, Département de l'Indre.* 7, 66-68.
- Goldman, B. Gwinner, E., Karsch, F.J., Saunders D., Zucker I., Ball G.F. 2004. Circannual rhythms and photoperiodism. In: *Chronobiology Biological time keeping.* Dunlap, J.C., J.J. Loros, I. de Coursey (Eds.). 1st Ed. Sinauer Associates Inc. 23 Plumtree Road Sunderland. pp. 107-142.
- Iwata, E. Wakabayashi, Y. Kakuma, Y., Kikusui, T., Takeuchi, Y., Mori, Y. 2000. Testosterone dependent primer pheromone production in the sebaceous gland of male goat. *Biol. Reprod.* 62, 806-810.
- 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 Prog. Horm. Res.* 40, 185–232.
- Kendrick, K.M., Atkins, K., Hinton, M.R., Broad, K.D., Fabre-Nys, C., Keverne B. 1995. Facial and vocal discrimination in sheep. *Anim. Behav.* 49, 1665-1676.
- Knight, T.W., Lynch, P.R. 1980. The pheromones from rams that stimulate ovulation in the ewe. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 13, 74–76.

- Knight, T.W. Peterson, J., Payne, E. 1978. The ovarian and hormonal response of the ewe to stimulation by the ram early in the breeding season. *Theriogenology*. 10, 343-353.
- Leboeuf, B., Delgadillo, J.A., Manfredi, E., Piacère, A., Clément, V., Martin, P., Pellicer-Rubio, M.T., Boué, P., de Cremoux, R. 2008. Place de la maîtrise de la reproduction dans les schémas de sélection en chèvres laitières. *INRA Prod. Anim.* 21, 391–402.
- Lincoln, G. A., Short, R.V. 1980. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent. Prog. Horm. Res.* 36, 1-51.
- Lincoln, G.A., Lincoln, C.E., McNeilly, A.S. 1990. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibine and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *J. Reprod. Fertil.* 88, 623-633.
- Lindsay, D.R., Pelletier, J. Pisselet C., Courat, M. 1984. Changes in photoperiod and nutrition and their effect on testicular growth of rams. *J. Reprod. Fertil.* 71, 351-356.
- Luna-Orozco, J.R. 2009. La respuesta sexual de las cabras nulíparas o sin experiencia sexual no disminuye si son expuestas a machos sexualmente activos. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Torreón, Coahuila, México. p40.
- Malpoux, B., Vigué, C., Thiery, J.C., Chemineau, P. 1996. Contrôle photopériodique de la reproduction. *INRA Prod. Anim.* 9, 9-23.
- Malpoux, B. 2000. The neuroendocrine control of seasonal rhythms. In: *Neuroendocrinology in physiology and medicine*. P. Michael Conn and M.E.

- Freeman (Eds.). Human Press Inc., 999 Riverview Drive, Suite 208. Totowa, New Jersey 07512.
- Malpaux, B. 2006. Seasonal regulation of reproduction in mammals in: Physiology of Reproduction. Knobil and Neill, J. (Eds.). 3th Ed. pp 2262- 2265.
- Martin, G.B., Oldham, C.M., Cognie. Y., Pearce, D.T. 1986. The physiological-responses of anovulatory ewes to introduction of rams a review. Livest. Prod. Sci. 15, 219-247.
- Martin, G.B., Milton, J.T.B., Davidson, R.H., Blanchero-Hunzicker, G.E., Lindsay D.R., Blache D. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. Anim. Reprod. Sci. 16. 231-246.
- McComb K. 1987. Roaring by red deer stags advances the date of oestrus in hinds. Nature. 30, 648-649.
- Mellado, M., Hernández, J.R. 1996. Ability of androgenized goat weathers and does induce estrus in goats under extensive conditions during anestrus and breeding seasons. Small Anim. Res. 23, 37-42.
- Mori, Y., Kano, Y., 1984. Changes in plasma concentrations of LH, progesterone and oestradiol in relation to the occurrence of luteolysis, oestrus and time of ovulation in the Shiba Goats (*Capra hircus*). J. Reprod. Fertil. 72, 223-230.
- Neitz, J., Jacobs, G.H. 1989. Spectral sensitivity of cones in an ungulate. Visual Neuroscience. 2, 97-100.
- Novotny, M.V. 2003. Pheromones, binding proteins and receptor responses in rodents. Biochem. Soc. Trans. 31,117–122.
- Oldham, C.M. Pearce, D.T. 1983. Mechanism of the ram effect. Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol. 15. 72

- Oldham, C.M., Lindsay, D.R., Martin, G.B. 1990. Effect of seasonal variation of live weight on the breeding activity of Merino ewes.,In: Oldham, C.M., Martin, G.B., Purvis, I.W. (Eds.). Reproductive Physiology of Merino Sheep. 1st Ed. The University of Western Australia. p41-58.
- Ortavant, R., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland-Nail, P. 1985. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. Oxford Rev. Reprod. Biol. 7, 306–345.
- Ortavant, R., Bocquier, F., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland-Nail, P. 1988. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod Aust. J. Biol. Sci.. 41, 69–85.
- Over R., Cohen-Tannoudji, J., Dehnhard, M., Claus, M., Signoret, J.P. 1990. Effects of pheromones from male goats on LH-Secretion in anoestrous ewes. Physiol. Behav. 48, 665-668.
- Pearce, G.P., Oldham, C.M. 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. J. Reprod. Fertil. 84, 333-339.
- Pelletier, J. y Almeida, G. 1987. Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. J. Reprod. Fertil. Suppl. 34, 215-226.
- Perkins, A., Fitzgerald, J.A., 1994. The behavioral component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrous in anovulatory ewes. J. Anim. Sci. 72, 51-55.
- Perret, G. 1986. Races ovines Paris, Ed Itovic-Speoc 441pp.
- Pointron, P., Cognie, 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 introduction of rams. *Physiol. Behav.* 25, 227-237.
- Price, E. O. 1985. Sexual Behavior of Large Domestic Farm Animals: an Overview. *J. Anim. Sci.* 61, 62-74.
- Prieto-Gómez, B., Velázquez-Paniagua, M. 2002. Fisiología de la Reproducción. Hormona Liberadora de Gonadotrofinas. Monografía. *Rev. Fac. Med. Vet. UNAM.* 6, 252-257.
- Prudhomme C. 1732. De la propagation de l'espece de bêtes à laine. La Nouvelle Maison Rustique ou Economie General de tous les Biens De Campagne. La manière de les entretenir & de les multiplier. Donné ci-devant au public par le Sieur Liger, 4eme Edition, Augmente confiderablement & mife et meilleur ordre, avec la vertu des simples, L'apothicairerie & les definition du droit-francois fur les Matières Rurales. À Paris. 1, 341-343
- Restall, B.J. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim. Reprod. Sci.* 27, 305-318.
- Ritar, A.J. 1991. Seasonal changes in LH, androgens and testes in Angora male goats. *Theriogenology.* 36, 959 – 972.
- 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 males. *J. Anim. Sci.* 85, 1257-1263.
- Rosa, H.J.D. y Bryant, M.J. 2002. The "ram effect" as a way of modifying the reproductive activity in the ewe A review. *Small Rumin. Res.* 45, 1-16.
- Rosa, H.J.D. y Bryant, M.J. 2003. Seasonality of reproduction in sheep. Review. *Small Rumin. Res.* 48, 155-171

- Santa María, A., Cox, J., Muñoz, E., Rodríguez R., Caldera, L. 1990. Estudio del ciclo sexual, estacionalidad reproductiva y control del estro en la cabra criolla en Chile. Proc. of Final Research Co-ordination meeting. FAO, Bogotá, Colombia, 363-365.
- Shackleton, D.M., Shank, C.C. 1984. A review of the social behavior of feral and wild sheep and goats. *J. Anim Sci.* 58, 500- 509.
- Shearer, M.K., Katz, L.S. 2006. Female-female mounting amount goats stimulates sexual performance in males. *Horm. Behav.* 50, 33-37.
- Shelton, M. 1980. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. *Int. Goat Sheep Res.* 1, 156-162.
- Signoret J.P. 1974. Rôle des différentes informations sensorielles dans l'attraction de la femelle en oestrus par le mâle chez les porcins. *Ann Biol Anim Bioch Biophys.* 14, 747-755.
- Signoret, J.P., Fulkerson, W.J., Lindsay, D.R. 1982/83. Effectiveness of testosterone-treated wethers and ewes as teasers. *Appl. Anim. Ethol.* 9, 35-47.
- Signoret, J.P. 1990. The influence of the ram effect on the breeding activity of ewes and its underlying physiology. In: Oldham, C.M., Martin, G.B., Purvis, I.W. (Eds), *Reproductive Physiology of merino sheep*. University of Western Australia. P. 56-70.
- Taylor, A.M., Reby, D. 2010. The contribution of the source-filter theory to mammal vocal communication research. *Journal of Zoology.* 280, 221-236.

- Thimonier, J. Cognié, Y., Lassoued, N., Khaldi, G. 2000. L'effet male chez les ovins: une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. INRA. Prod. Anim. 4, 223-231.
- Underwood, E.J., Shier, F.L., Davenport, N. 1944. Studies in sheep husbandry in western Australia. The breeding season of Merino, crossbred and British breed ewes in the agricultural districts. J. Dep. Agric. West. Austr. 2, 135-143
- Ungerfeld, R., Forsberg, M., Rubianes, E. 2004. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. Reprod. Fertil. Dev. 16, 479-490.
- Valencia, M., Heredia, M., González, E. 1981. Estacionalidad reproductiva en hembras Pelibuey. Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Sto. Domingo, Republica Dominicana. p. 137.
- Véliz F.G., Moreno, S., Duarte, G., Vielma, J., Chemineau, P., Poindron, P., Delgadillo, J.A. 2002. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. Anim Reprod Sci. 72, 197-207.
- Vielma, J., Terrazas, A., Veliz, F.G., Flores, J.A., Hernández, H., Duarte G., Malpoux, B., Delgadillo, J.A. 2008. Las vocalizaciones de los machos cabríos no estimulan la secreción de la LH ni la ovulación en las cabras anovulatorias. Tec. Pecu. Mex. 46, 25-36.
- 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., Restall, B.J., Henniawati, 1993. The male effect in the Australian cashmere goat.3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrus females. *Anim. Reprod. Sci.* 32, 69-84.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, 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.
- Walkden-Brown, S.W., Martin, G.B. and Restall, B.J. 1999. Role of male–female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 52, 243–257.
- Watson, R.H, Radford, H. M. 1960. The influence of rams on onset of oestrus in Merino ewes in the Spring. *Aust. J. Agric. Res.* 11, 65-71.
- Wayne, N.L., Malpaux, B., Karsch, F.J. 1989. Social cues can play a role in timing onset in the breeding season of the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 87, 707-713.
- Wingfield, J.C., Whaling, C.S., Marler, P.R. 1994. Communication in vertebrate aggression and reproduction: the role of hormones. In *The Physiology of Reproduction* (E. Knobil and J. D. Neill, Eds.), pp. 303–342. Raven Press, New York.
- Wysocki, C. J., Beauchamp, G. K., Reidinger, R. R., Wellington, J. L. 1985. Access of large and nonvolatile molecules to the vomeronasal organ of mammals during social and feeding behaviors. *Journal of Chemical Ecology.* 11,1147 – 1159.

