

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



“La actividad ovulatoria de las cabras del subtrópico mexicano en anestro estacional es baja al ser estimuladas mediante el efecto hembra”

ALFONSO LONGINOS MUÑOZ BENÍTEZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Subdirección de Postgrado

“La actividad ovulatoria de las cabras del subtrópico mexicano en anestro estacional es baja al ser estimuladas mediante el efecto hembra”

Tesis

Por:

ALFONSO LONGINOS MUÑOZ BENÍTEZ

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

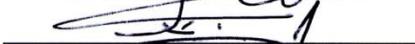
MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Comité particular

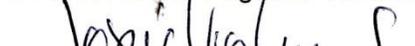
Asesor principal:


Dr. Gerardo Duarte Moreno

Asesor


Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez

Asesor

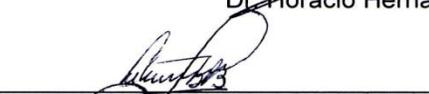

Dr. Jesús Vielma Sifuentes

Asesor


Dr. José Alfredo Flores Cabrera

Asesor


Dr. Horacio Hernández Hernández


Dr. Pedro Antonio Robles Trillo
Jefe del Departamento de Postgrado


Dr. Fernando Ruiz Zarate
Subdirector de Postgrado

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y guiarme en todo momento.

A mi hija Ana Lucía, por ser la mayor razón por la que lucho cada día y por ser mi mayor motivo para vivir.

A mi esposa Laura Alicia, por ser el principal pilar en mi vida y por estar siempre a mi lado apoyándome en todo momento.

A mis padres, por todos sus consejos y apoyo, y por su ejemplo de lucha y dedicación.

A mis hermanos, por ser siempre mis mejores amigos y por tantos momentos inolvidables a su lado.

A la familia Martínez-Benítez, por ser un gran apoyo y ejemplo a lo largo de mi vida.

A la familia Díaz-Herrera, por su apoyo y todos sus consejos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por brindarme la oportunidad de ser un profesionista y seguir preparándome.

Al CONACyT, por el apoyo que me brindó a lo largo de la maestría.

Al Dr. Gerardo Duarte Moreno, por todo su apoyo, consejos y tiempo que me brindó a lo largo de la maestría.

A mi comité particular: Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez, Dr. Jesús Vielma Sifuentes, Dr. Horacio Hernández Hernández y Dr. José Alfredo Flores Cabrera. Por compartir tantas enseñanzas y su tiempo a lo largo de mi estancia en el postgrado.

Al Dr. Gonzalo Fitz Rodríguez, por todo su apoyo, el cual me fue de mucha ayuda.

Al Dr. Matthieu Keller del INRA Nouzilly, Francia, por su valiosa colaboración en las determinaciones hormonales.

A mis compañeros y amigos del Postgrado en Ciencias Agrarias, en especial al M.C. Juan Carlos Martínez Alfaro, M.C. Marie Bedos y la M.C. Hillary Velázquez Ortega, por su amistad y todos los buenos momentos a su lado.

A la señorita Esther Peña Revuelta, por el apoyo y las atenciones secretariales a lo largo de la maestría.

COMPENDIO

“La actividad ovulatoria de las cabras del subtrópico mexicano en anestro estacional es baja al ser estimuladas mediante el efecto hembra”

Por:

ALFONSO LONGINOS MUÑOZ BENÍTEZ

MAESTRIA EN CIENCIAS AGRARIAS

Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”

Unidad Laguna

Torreón, Coahuila, México.

Octubre de 2012

Dr. Gerardo Duarte Moreno- Asesor

Palabras clave: Caprinos, Estacionalidad reproductiva, Hormonas exógenas, Efecto hembra.

El presente estudio se realizó durante el mes de mayo con el fin de determinar si la actividad ovárica de las cabras en anestro estacional es estimulada al ponerlas en contacto directo con hembras en actividad estral inducida artificialmente (bioestimuladoras) mediante el tratamiento con un progestágeno intravaginal (FGA) y la aplicación de eCG. Se utilizó un total de 61 cabras locales de la Comarca Lagunera (México 26° N) de entre 2 y 4 años de edad que tenían una condición corporal de 2.0 ± 0.1 (promedio \pm EEM; escala de 1 a 4) previamente identificadas como anéstricas mediante un ultrasonido transrectal. Estas cabras eran pastoreadas y sólo se mantuvieron en estabulación durante el experimento. Un grupo que recibió un estímulo sexual corto (GC, n=10), fue alojado junto con otras 10 cabras “bioestimuladoras” las cuales portaron una esponja intravaginal impregnada con FGA durante diez días, retirándoseles esta última al mismo tiempo en todas las hembras. Otro grupo que recibió un estímulo sexual prolongado (GP, n=10) fue alojado junto con otras 21 cabras bioestimuladoras a las cuales les fueron retiradas las esponjas intravaginales solo a 3 cabras a la vez cada 48 horas para propiciar que hubiera durante 15 días cabras inducidas al estro. Se formó otro grupo denominado testigo (GT, n=10) que fue aislado al separarlo a una distancia de 150 m de cualquier contacto con machos o hembras caprinas, el cual sirvió para determinar que las hembras experimentales se encontraban naturalmente en periodo de anestro estacional y que no existía ninguna ovulación espontánea. Se determinó si

existió ovulación en las hembras experimentales mediante la determinación de los niveles plasmáticos de progesterona. Se consideró que existió ovulación cuando los niveles fueron ≥ 0.5 ng/ml. En el grupo que recibió una estimulación corta, solo dos hembras (2/10) respondieron al estímulo proporcionado por las hembras bioestimuladoras. En el grupo que recibió una estimulación prolongada, solo una hembra (1/10) respondió al estímulo. En el grupo testigo, los niveles plasmáticos de progesterona en todas las muestras obtenidas de estas cabras, fueron inferiores a 0.5 ng/ml. La respuesta de la actividad ovulatoria de las cabras del grupo de estimulación corta, la del grupo de estimulación prolongada y la del grupo testigo al compararse no fue diferente ($P > 0.05$). Estos resultados demuestran que en las hembras caprinas del subtrópico mexicano la respuesta de la actividad ovulatoria al efecto hembra es baja al ponerlas en estrecho contacto con hembras inducidas a la actividad estral tratadas con FGA y la aplicación de eCG.

SUMMARY

“Ovulatory activity of goats from Mexican subtropic in seasonal anoestrous is low when stimulated them by the female effect”

By:

ALFONSO LONGINOS MUÑOZ BENÍTEZ

MASTER IN AGRICULTURAL SCIENCES

Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”

Unidad Laguna

Torreón, Coahuila, México.

October 2012

Dr. Gerardo Duarte Moreno- Adviser

Keywords: Goats, reproductive seasonality, exogenous hormones, female effect.

The present study was made in May to determine if ovarian activity in female goats in seasonal anoestrous is stimulated when placed in close contact with other female goats induced to estrous (biostimulators) by a treatment with intravaginal progestagens (FGA) and eCG. Sixty one local female goats of the Comarca Lagunera (Mexico 26° N) 2-4 years of age with a body condition 2.0 ± 0.1 (average \pm SEM; scale 1 to 4) were used after being previously identified in anoestrous by rectal ultrasonography. These female goats are usually under grazed conditions and they were only maintained in confinement during the study. One group with short stimulation (GC, n=10) was placed with another 10 “biostimulators” female goats. Estrous behavior was induced in “biostimulators” by means of intravaginal sponges impregnated with FGA that were removed after ten days in all females. Another group that received a prolonged stimulation (GP, n=10) was placed with another 21 biostimulators female goats. In this group the intravaginal sponges were removed only in 3 goats at a time every 48 hours to promote estrous females during 15 days. A control group (GT, n=10) was isolated from male or female goats by a distance of 150 m, and was used to verify that the experimental goats were in seasonal aneestrous and that there was no spontaneous ovulation. The occurrence of ovulation in experimental females was assessed by determining the plasma levels of progesterone, considering as ovulation when levels were ≥ 0.5 ng / ml. In the group receiving short stimulation, only two females (2/10) responded to the stimulus provided by biostimulators females. In the group receiving prolonged stimulation, only one female (1/10)

responded to stimulation. In the control group, the plasma levels were below 0.5 ng / ml in all samples of these females. The ovulatory response based on plasma progesterone levels was not different between groups ($P > 0.05$). These results demonstrate that in the female goats of Mexican subtropic the ovulatory response to the female effect is low when anestrous females are exposed to females induced estrous activity with a treatment of intravaginal sponges containing FGA and eCG application.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
COMPENDIO	iii
SUMMARY	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
I.INTRODUCCIÓN	1
II.REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1. Reproducción estacional de los ovinos y caprinos	4
1.1. La estacionalidad reproductiva como mecanismo de adaptación de las especies.....	4
1.2 Variaciones estacionales de la actividad reproductiva en relación a la latitud.....	5
1.3 El fotoperiodo como principal regulador de la actividad reproductiva...6	
2. Ciclo estral de la hembra caprina	7
3. Métodos de inducción de la actividad reproductiva en ovinos y caprinos..8	
3.1 Método hormonal a base de progestágenos	8
3.2 Métodos naturales	9
3.2.1 Efecto macho.....	9
3.2.2 Efecto hembra.....	10
III.OBJETIVO	12
IV.HIPÓTESIS	12
V.MATERIALES Y MÉTODOS	13
1. Localización del experimento	13
2. Descripción de animales de estudio	13
3. Tratamiento de inducción sexual de las hembras bioestimuladoras.....	14
4. Grupos experimentales.....	14
5. Variables determinadas	15
5.1 Actividad ovulatoria	15
5.2 Análisis de los datos.....	16

VI. RESULTADOS	17
1. Actividad ovulatoria	17
VII. DISCUSIÓN.....	21
VIII. CONCLUSIÓN.....	24
IX. LITERATURA CITADA	25

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Concentraciones plasmáticas de progesterona de las cabras anéstricas experimentales expuestas a un estímulo corto emitido por cabras inducidas al estro mediante el protocolo de FGA y aplicación de eCG. 18
- Figura 2.** Concentraciones plasmáticas de progesterona de las cabras anéstricas experimentales expuestas a un estímulo prolongado emitido por cabras inducidas al estro mediante el protocolo de FGA y aplicación de eCG. 19
- Figura 3.** Concentraciones plasmáticas de progesterona de las cabras anéstricas del grupo testigo. 20

I. INTRODUCCIÓN

Una de las más importantes adaptaciones evolutivas desarrolladas por algunas especies animales para poder adecuarse a las condiciones del medio ambiente es la estacionalidad reproductiva, la cual se caracteriza por la presentación de la actividad sexual durante un periodo específico del año, con la finalidad de que las crías puedan nacer en estaciones en que las probabilidades de sobrevivencia son mayores (Malpaux, 2006). La domesticación de muchas especies ha traído como consecuencia la pérdida de esta adaptación fisiológica, sin embargo, la gran mayoría de las razas de caprinos y ovinos originarias y/o adaptadas a zonas templadas y subtropicales manifiestan una estacionalidad reproductiva anual bien definida, que es controlada principalmente por el fotoperiodo, el cual sincroniza un ritmo endógeno de reproducción (Chemineau *et al.*, 1992; Malpaux *et al.*, 1996; Duarte *et al.*, 2008; 2010).

Para romper la estacionalidad reproductiva existen diferentes alternativas que permiten inducir y sincronizar la actividad reproductiva en hembras caprinas y ovinas durante el anestro estacional. Una de las alternativas más comúnmente usadas a nivel mundial es la administración de hormonas exógenas, principalmente progesterona o progestágenos en combinación con gonadotropina coriónica equina (eCG) y prostaglandinas (Whitley y Jackson, 2004; Holtz, 2005).

Las relaciones socio-sexuales pueden también modificar la estacionalidad reproductiva de los ovinos y caprinos. El “efecto macho” que

consiste en exponer las hembras anéstricas a machos, puede inducir y sincronizar las actividades estral y ovulatoria durante el anestro estacional (Walkden-Brown *et al.*, 1999; Delgadillo *et al.*, 2006; 2008).

Así mismo, el “efecto hembra” que consiste en poner en contacto hembras anéstricas con otras hembras que están inducidas artificialmente al estro, puede también estimular y sincronizar su actividad sexual durante el anestro. Sin embargo, los resultados que se han publicado sobre el efecto hembra son muy variados. El 52% de ovejas anéstricas y puestas en contacto directo con ovejas inducidas al estro mediante el uso de acetato de fluorogestona (FGA) y gonadotropina coriónica equina (eCG) ovularon (Zarco *et al.*, 1995). En otro estudio realizado por Álvarez *et al.* (1999), el 80% de las cabras anéstricas ovularon al ser puestas en contacto directo con cabras en estro inducido utilizando progesterona y estradiol. Contrariamente a estos resultados, otros autores reportan que la respuesta ovulatoria al efecto hembra es muy baja o ausente. En cabras, solo el 25% respondió al ser puestas en contacto directo con hembras en estro inducido con dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR) y eCG (Ramírez *et al.*, 2001). En cambio, ninguna respuesta ovulatoria fue reportada por Hogan *et al.* (2004) al someter al efecto hembra a cabras en pastoreo restringido (praderas cultivadas y limitadas por un cerco) utilizando el mismo método de inducción al estro anteriormente mencionado en las hembras estimuladoras.

La variación en la respuesta ovulatoria de las hembras sometidas al efecto hembra puede deberse a diversos factores como: la proporción utilizada entre las hembras bioestimuladoras y las estimuladas, su estado nutricional, el

periodo del año, entre otros. Por ello, el propósito del presente estudio fue determinar si en las cabras anéstricas del norte de México la actividad ovulatoria puede ser estimulada al ponerlas en contacto con otras hembras inducidas al estro utilizando FGA y la aplicación de eCG.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. Reproducción estacional de los ovinos y caprinos

1.1. La estacionalidad reproductiva como mecanismo de adaptación de las especies

A lo largo de la evolución, las diferentes especies de animales en vida silvestre han sido capaces de desarrollar estrategias en sus funciones fisiológicas, comportamiento y morfología para poder adaptarse al medio ambiente. Uno de estos mecanismos de adaptación desarrollados fue la capacidad de restringir la actividad reproductiva a una cierta época del año con el propósito de asegurar que los periodos de mayor disponibilidad de alimento coincidan con las etapas de mayor exigencia energética para las hembras (último tercio de gestación, parto y lactancia, entre otras). De este modo, se incrementan las probabilidades de sobrevivencia de las crías y por ende de la especie (Malpaux, 2006). En algunas razas de mamíferos, como sucede en la vaca productora de leche o en la cerda, la domesticación ha provocado una pérdida casi total de esta adaptación; sin embargo, la mayoría de las razas de ovinos y caprinos de zonas templadas y subtropicales han sido capaces de mantener la estacionalidad reproductiva, manifestando variaciones importantes en su actividad reproductiva anual de acuerdo a su origen y localización geográfica (Amoah *et al.*, 1996; Duarte *et al.*, 2008)

1.2 Variaciones estacionales de la actividad reproductiva en relación a la latitud

Las hembras de razas ovinas y caprinas originarias de latitudes templadas ($>40^\circ$), presentan variaciones estacionales muy marcadas en su comportamiento sexual y actividad ovárica. La mayoría de las hembras presentan una actividad sexual en otoño e invierno y un periodo de reposo sexual durante el resto del año, teniéndose así una estación de actividad sexual y una estación de anestro bien definidas (Chemineau *et al.*, 1992).

En razas caprinas locales o adaptadas a latitudes subtropicales (de 23° a 40°), las hembras expresan variación en su actividad reproductiva anual, observándose también dos periodos bien diferenciados a lo largo del año: una estación reproductiva durante los meses de otoño e invierno y una estación de reposo sexual en primavera y verano (Restall, 1992; Rivera *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2008; 2010).

A medida que el origen de las razas es más cercano al ecuador ($<20^\circ$), la estacionalidad reproductiva de los ovinos y caprinos disminuye (Chemineau *et al.*, 1992). Por ejemplo, las cabras criollas de la isla de Guadalupe en el Caribe (16°N) no muestran variaciones estacionales marcadas en su actividad ovulatoria ni en su comportamiento estral (Chemineau, 1986).

1.3 El fotoperiodo como principal regulador de la actividad reproductiva

En ovinos y caprinos originarios de zonas templadas o adaptados a zonas subtropicales, el fotoperiodo es la principal señal medioambiental que sincroniza el inicio y el final de la duración de la estación reproductiva en condiciones naturales (Chemineau *et al.*, 1992; Malpaux *et al.*, 1996; Delgadillo *et al.*, 2004, Duarte *et al.*, 2010). La información fotoperiódica es percibida en primera instancia por la retina y transmitida a través de un complejo nervioso (Malpaux *et al.*, 1997), que incluye los núcleos supraquiasmáticos y paraventriculares, el ganglio cervical superior y la glándula pineal la cual regula el ritmo de síntesis y secreción de la melatonina (Karsch *et al.*, 1984; Bronson, 2009). La melatonina es secretada únicamente durante la noche, y es la duración de su secreción la que ayuda a interpretar la diferencia entre un día corto y un día largo, regulando así la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Karsch *et al.*, 1988). Los días cortos estimulan la actividad reproductiva y los días largos la inhiben, tal como lo demostró Duarte *et al.* (2010) al someter cabras locales del subtrópico de México (26° N) a una alternancia de tres meses de días largos artificiales (14 horas de luz/día) seguidos de tres meses de días cortos artificiales (10 horas de luz/día) durante 2 años consecutivos. En este estudio las ovulaciones ocurrieron durante los días cortos artificiales y terminaron durante los días largos artificiales.

2. Ciclo estral de la hembra caprina

Las hembras caprinas de la mayoría de las razas son consideradas como poliéstricas estacionales con ovulaciones espontáneas. La duración promedio del ciclo estral de la cabra es de 21 días (Fatet *et al.*, 2010). El ciclo estral es dividido en dos fases: la fase folicular que corresponde al crecimiento de los folículos hasta la ovulación y la fase luteal que comienza después de la ovulación y con la formación del cuerpo lúteo hasta la luteólisis (Driancourt, 2001).

Durante la fase folicular, la hormona gonadotrópica hipofisiaria folículo estimulante (FSH) promueve el crecimiento de los folículos y bajo la influencia de la hormona luteinizante (LH) un grupo de folículos alcanza la etapa de folículo preovulatorio, mientras que otros folículos son subordinados y se degeneran (atresia folicular). Los folículos preovulatorios comienzan a secretar estradiol, el cual induce el comportamiento estral y por retroalimentación positiva estimula la descarga de la LH (pico preovulatorio) que provoca la ovulación (Fernández, 1993).

La fase luteal inicia después de la ovulación y 3 días después, se inicia la formación del cuerpo lúteo (CL), el cual secreta progesterona durante aproximadamente 16 días. Alrededor de los días 16-18 después de la ovulación si no ocurre una fecundación, el cuerpo lúteo es destruido (luteólisis) por acción de las prostaglandinas F2 α , las cuales son producidas en el útero, provocando con esto una disminución de la progesterona plasmática. Con la disminución de los niveles plasmáticos de progesterona se suprime la retroacción negativa

sobre la GnRH y en consecuencia sobre la secreción de las hormonas gonadotrópicas, comenzando con esto una nueva fase folicular (Malpaux, 2006; Fatet *et al.*, 2010).

3. Métodos de inducción de la actividad reproductiva en ovinos y caprinos

3.1 Método hormonal a base de progestágenos

La administración de progestágenos y eCG es comúnmente utilizada en cabras y ovejas para inducir el estro y la ovulación durante el anestro estacional (Leboeuf *et al.*, 2003). El protocolo más comúnmente usado consiste en poner esponjas intravaginales impregnadas con Acetato de Fluorogestona (FGA) durante 10 ± 1 días. La eCG se aplica 48 horas antes del retiro de las esponjas (Baldassarre y Karatzas, 2004; Whitley y Jackson, 2004; Holtz, 2005).

Inicialmente el tiempo que permanecían las esponjas dentro de la vagina era de 21 días; sin embargo, los tratamientos con progestágenos por periodos prolongados han sido asociados con baja fertilidad (Viñoles *et al.*, 2001; Menchaca y Rubianes, 2004), la cual es atribuida a cambios en la contractibilidad cervico-uterina con una subsecuente alteración en el transporte espermático (Pearce y Robinson, 1985; Holtz, 2005). Por ello, en años recientes se han desarrollado métodos con progestágenos intravaginales de duración ultra corta (5 a 7 días), los cuales han demostrado tener buena eficacia al inducir el estro en hembras que se encuentran en reposo sexual (ovejas >90%; Viñoles *et al.*, 2001).

3.2 Métodos naturales

3.2.1 Efecto macho

Durante el anestro estacional la actividad sexual en cabras y ovejas puede ser inducida y sincronizada mediante la introducción repentina de machos en el hato, fenómeno al cual se le conoce como “Efecto Macho” (Walkden-Brown *et al.*, 1999; Delgadillo *et al.*, 2006; 2008). En cabras y ovejas anéstricas de razas originarias de zonas templadas y/o adaptadas a zonas subtropicales, la respuesta inmediata a la exposición repentina a un macho es el incremento en la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH (Poindron *et al.*, 1980, Chemineau, 1987; Vielma *et al.*, 2009; Chanvallon *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2011). Si el estímulo proporcionado por la presencia del macho permanece, el incremento en la frecuencia de los pulsos de LH promueve el desarrollo de los folículos ováricos; estos a su vez, secretan cantidades elevadas de estradiol induciendo la aparición del pico preovulatorio de LH y por consiguiente la ovulación (Chemineau *et al.*, 2006). Entre los días 2 al 5 después de la exposición al macho un porcentaje variable de cabras presenta una primera ovulación la cual está acompañada de comportamiento estral. Sin embargo, el cuerpo lúteo que se forma en esta primera ovulación puede secretar muy bajas cantidades de progesterona, insuficiente para impedir el incremento de la síntesis de LH, conduciendo al inicio de un nuevo ciclo. Por lo anterior, la mayoría de estas cabras manifiestan un ciclo corto presentando un segundo estro entre los días 6 a 12 después del primer contacto con el macho y el cuerpo lúteo formado en esta ocasión es de buena calidad y tiene una vida media con duración promedio

a la de un ciclo normal (Chemineau, 1987; Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2002).

Al igual que ocurre en las cabras, en un número variado de ovejas el primer cuerpo lúteo tiene una regresión prematura, una segunda ovulación se presenta alrededor de 6 días después de la primera; sin embargo, es hasta la tercera ovulación (ocurrida aproximadamente 17 días después de la segunda ovulación) cuando se observa el primer estro (Martin y Scaramuzzi, 1983; Martin *et al.*, 1986), ya que en esta especie es necesaria una sensibilización previa del cerebro a la progesterona durante la fase lútea para poder expresar plenamente el comportamiento estral (Caraty y Skinner, 1999).

3.2.2 Efecto hembra

Se le denomina “Efecto Hembra” al papel estimulante de la presencia de hembras en estro sobre la actividad estral y ovulatoria de las hembras anéstricas (Álvarez y Zarco, 2001). En ovejas, Oldham (1980) y en cabras, Bouillon *et al.* (1982), fueron de los primeros investigadores que reportaron este efecto. Un factor fundamental para que este fenómeno tenga una mayor efectividad es el contacto directo entre hembras “bioestimuladoras” y hembras “estimuladas” (Walkden-Brown *et al.*, 1993; Restall *et al.*, 1995; Álvarez *et al.*, 1999). En diferentes estudios realizados en ovinos y caprinos durante el anestro estacional fueron reportadas diferentes respuestas para el efecto hembra. En ovejas se demostró que el mayor porcentaje de hembras que ovularon (52%)

fueron las que se mantuvieron en contacto directo con las hembras inducidas al estro; sin embargo, la respuesta disminuye en hembras alojadas en corrales adyacentes: separados únicamente por una malla (37.5%), separadas a 18 m (32%) y separadas a 36 m (13%; Zarco *et al.*, 1995). En cabras, Walkden-Brown *et al.* (1993) reportaron una respuesta ovulatoria del 77.8 % en hembras caprinas puestas en contacto directo con hembras inducidas a la actividad sexual. Así mismo, Álvarez *et al.* (1999) lograron obtener una respuesta ovulatoria del 80% en las hembras caprinas estimuladas al ponerlas en contacto directo con hembras inducidas a estro. Sin embargo, Ramírez *et al.* (2001) reportaron que solo el 25% de hembras ovularon cuando estuvieron en contacto directo con las hembras bioestimuladoras, mientras que ninguna ovulación se registró en los grupos adyacentes. Finalmente, Hogan *et al.* (2004) no reportaron ninguna ovulación cuando las hembras anéstricas se pusieron en contacto con las hembras estimuladoras.

Estos resultados demuestran que la respuesta ovulatoria al efecto hembra varía de un estudio a otro. Esta variación puede ser debida entre otros factores a la proporción de hembras bioestimuladoras y estimuladas puestas en contacto, la época del año y el estado nutricional de las hembras.

III. OBJETIVO

Determinar si las cabras anéstricas de la Comarca Lagunera ovulan al ponerlas en contacto con hembras inducidas artificialmente al estro mediante el uso de FGA y eCG.

IV. HIPÓTESIS

Las cabras anéstricas del norte de México responden con una elevada actividad ovulatoria al ponerlas en contacto directo con hembras inducidas artificialmente al estro mediante el tratamiento con FGA y eCG.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Localización del experimento

El presente estudio se realizó durante los primeros veinte días del mes de mayo en el municipio de Matamoros, Coahuila (Latitud 25° 31´ N, Longitud 103° 13´ O). Esta región se caracteriza por presentar una variabilidad en el fotoperiodo de 13 h 41 min de luz en el solsticio de verano a 10 h 19 min de luz en el solsticio de invierno y por tener un clima muy seco semicálido con una precipitación media anual de 200 mm que por lo general ocurre entre junio y septiembre, con una amplia variabilidad entre años (CONAGUA, 2012).

2. Descripción de animales de estudio

Se utilizaron 61 cabras multíparas locales de la Comarca Lagunera comúnmente llamadas “Criollas” que tenían una condición corporal de 2.0 ± 0.1 (promedio \pm EEM; escala de 1 a 4) y cuya edad variaba de 2-4 años. Estos animales estaban mantenidos bajo sistema de pastoreo sedentario e iban al campo de 09:00 a 19:00 h, consumiendo solamente la flora nativa, y en ocasiones esquilmos agrícolas y/o suplementación en el corral.

En las cabras de la Comarca Lagunera el anestro estacional se presenta de febrero a septiembre (Duarte *et al.*, 2008). Las hembras fueron consideradas anéstricas al no observar cuerpos lúteos mediante un ultrasonido transrectal realizado 10 días antes de iniciar el estudio. Para ello se utilizó un Scanner

Mode-B (Aloka SSD, Tokio, Japón), equipado con un transductor transrectal lineal de 7.5 Mhz.

Las cabras fueron estabuladas 4 días antes de iniciar el estudio, permaneciendo así hasta el final del mismo. Todas las hembras recibieron una alimentación diaria a base de heno de alfalfa de buena calidad (18% de PC; 1.5 kg/día/animal) y concentrado comercial (14% de PC; 300 g/día/animal), se les proporcionó sales minerales y agua a libre acceso. Antes del estudio, los animales fueron desparasitados con Ivermectina adicionada con vitaminas A, D y E. Todas las cabras utilizadas para el estudio se ordeñaron manualmente una vez al día a partir de las 6 am.

3. Tratamiento de inducción sexual de las hembras bioestimuladoras

Un grupo de hembras (n=31) fue inducido al estro mediante la inserción intravaginal de una esponja impregnada con 20 mg de FGA (Cronogest ®, Intervet, México); 48 h antes del retiro de la esponja se les aplicó una inyección intramuscular de eCG (300 UI, Folligon ®, Intervet, México). No se aplicaron prostaglandinas porque previamente con el ultrasonido, no se identificó la presencia de cuerpos lúteos. Este grupo de cabras fue utilizado para proporcionar el estímulo sexual a los grupos experimentales de hembras en anestro. Todas estas hembras bioestimuladoras mostraron signos de celo.

4. Grupos experimentales

Un grupo de cabras anéstricas (GC, n=10) recibió un estímulo corto al ponerlas en contacto directo con 10 cabras bioestimuladoras las cuales

portaron la esponja intravaginal por diez días y se les retiró al mismo tiempo, manifestando actividad estral únicamente durante 24 a 48 h.

Otro grupo de cabras anéstricas (GP, n=10) recibió un estímulo prolongado por parte de 21 cabras bioestimuladoras a las cuales les fueron retiradas las esponjas intravaginales a 3 cabras a la vez cada 48 horas (día 10, 13, 15, 17, 19, 21 y 23 de tratamiento con la esponja) con el fin de propiciar que hubiera cabras en estro durante aproximadamente 15 días.

Otro grupo de cabras denominado testigo (GT, n=10) fue aislado al separarlo a una distancia de 150 m de cualquier contacto con machos o hembras caprinas.

5. Variables determinadas

5.1 Actividad ovulatoria

Las ovulaciones se determinaron mediante la medición de los niveles plasmáticos de progesterona. Se obtuvo por venopunción yugular una muestra sanguínea de 5 ml de cada hembra experimental los primeros 6 días y el noveno día después del retiro de las esponjas de las hembras bioestimuladoras. Dichas muestras se colocaron en tubos heparinizados para posteriormente centrifugarlas a 2301G durante 30 minutos. El plasma sanguíneo se recuperó y éste fue almacenado a -20 °C hasta que se realizó la prueba de determinación hormonal mediante radioinmunoanálisis (RIA) en duplicado como lo describió Saumande *et al.* (1985). Las determinaciones hormonales se realizaron en un

solo ensayo con un coeficiente de variación de 6.3% intra ensayo. Se determinó que una hembra había ovulado cuando los niveles de progesterona en el plasma fueron ≥ 0.5 ng/ml (Gómez-Brunet *et al.*, 1995).

5.2 Análisis de los datos

La proporción de cabras que mostraron respuesta ovulatoria en base a las concentraciones plasmáticas de progesterona fue comparada entre los 2 grupos experimentales y también con las concentraciones plasmáticas de progesterona de las cabras del grupo testigo mediante la prueba de Chi-cuadrada (SYSTAT 13; Chicago, IL).

VI. RESULTADOS

1. Actividad ovulatoria

La respuesta ovulatoria de los tres grupos no fue significativamente diferente ($P>0.05$). En el grupo experimental que recibió un estímulo corto 2 hembras de 10 ovularon (Figura 1). En el grupo experimental que recibió un estímulo prolongado, 1 de 10 cabras ovuló (Figura 2). En cambio, ninguna respuesta ovulatoria se encontró en el grupo aislado (Figura 3).

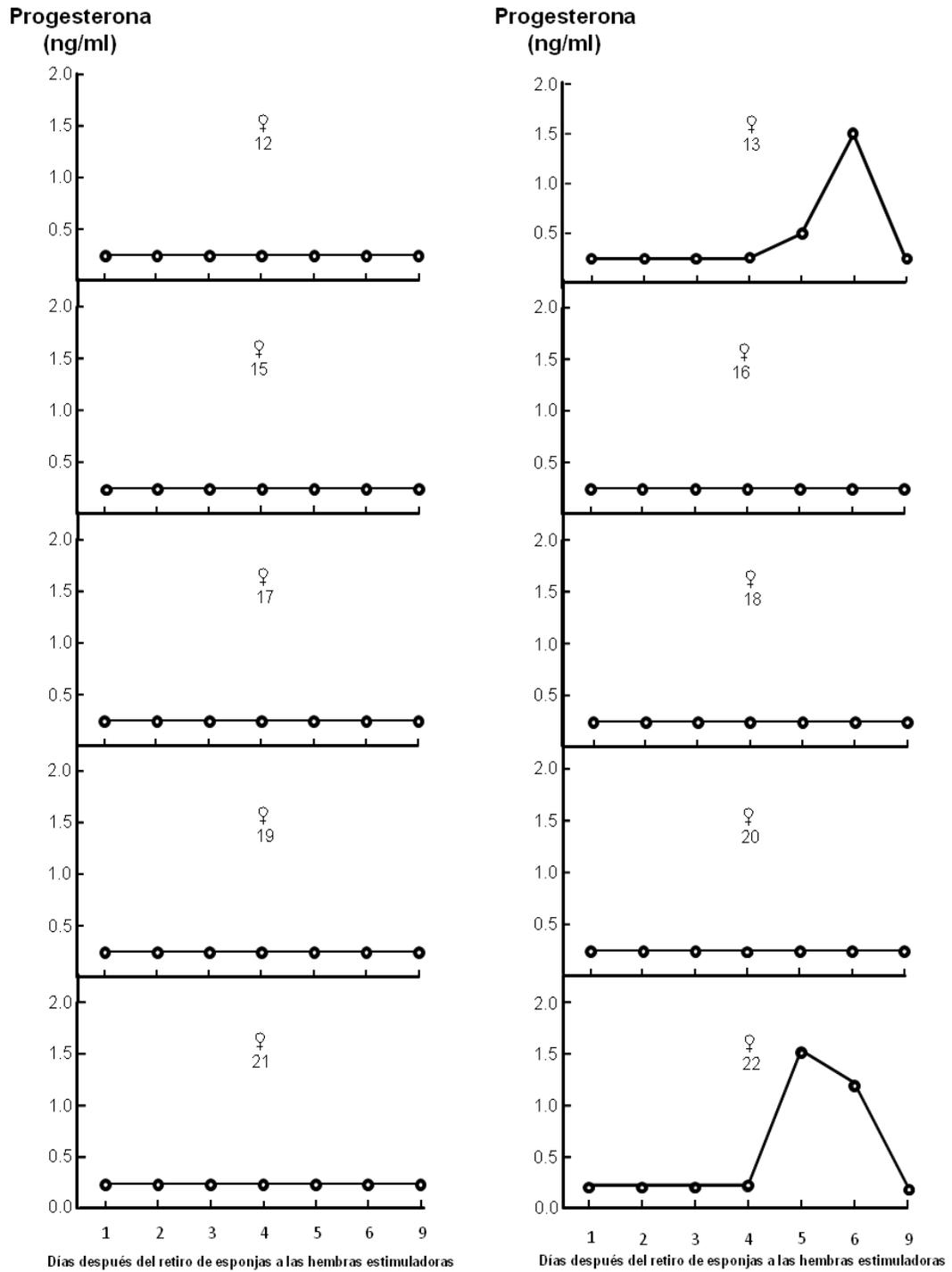
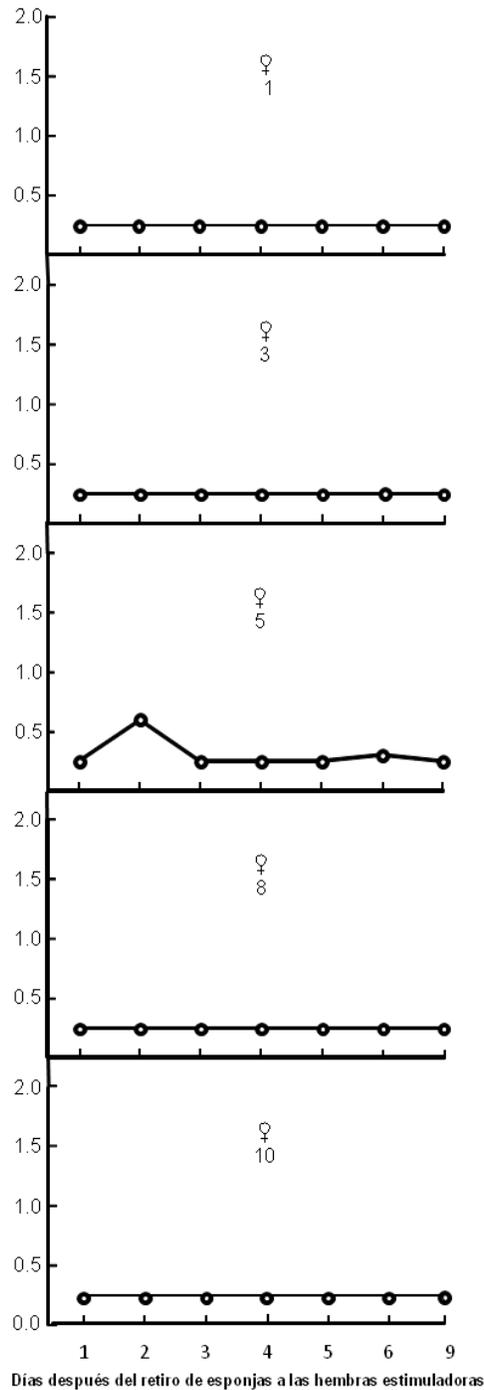


Figura 1. Concentraciones plasmáticas de progesterona de las cabras anéstricas experimentales expuestas a un estímulo considerado corto de cabras inducidas al estro mediante un protocolo de progestágeno y eCG.

Progesterona
(ng/ml)



Progesterona
(ng/ml)

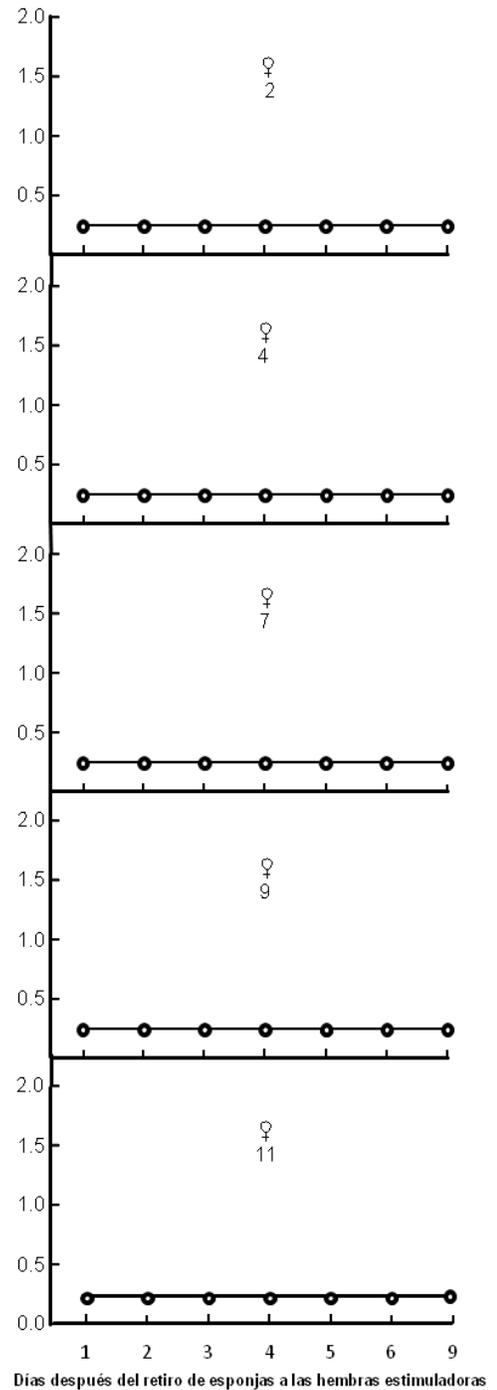
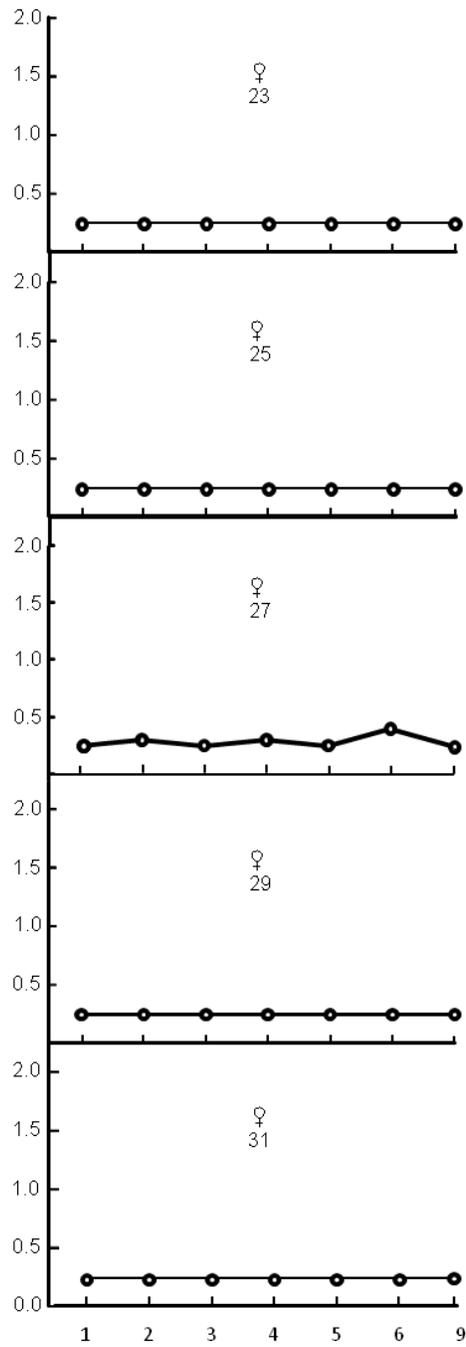


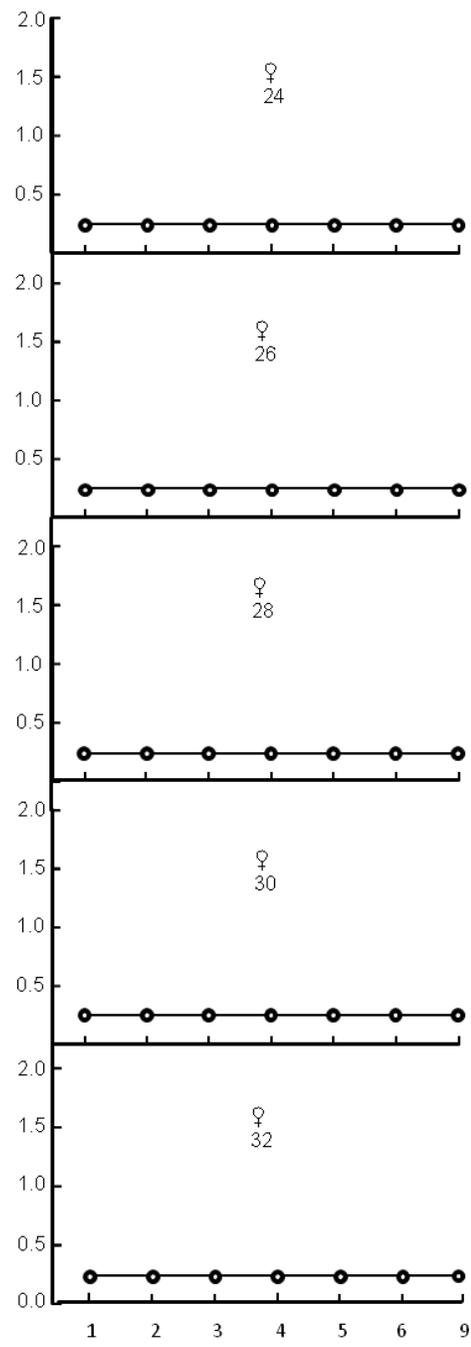
Figura 2. Concentraciones plasmáticas de progesterona de las cabras anéstricas experimentales expuestas a un estímulo considerado prolongado de cabras inducidas al estro mediante un protocolo de progestágeno y eCG.

Progesterona
(ng/ml)



Días después del retiro de esponjas a las hembras estimuladoras

Progesterona
(ng/ml)



Días después del retiro de esponjas a las hembras estimuladoras

Figura 3. Concentraciones plasmáticas de progesterona de las cabras anéstricas del grupo aislado.

VII. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que la actividad ovulatoria en las cabras anéstricas de la Comarca Lagunera es baja al ser sometidas al efecto hembra. En el grupo que recibió un estímulo corto, 2 de 10 cabras ovularon, mientras que en el grupo que recibió un estímulo prolongado, 1 de 10 cabras ovuló.

Los resultados obtenidos en diferentes estudios sobre el efecto hembra han sido muy variados: unos reportaron un alto porcentaje de hembras que ovularon, mientras que en otros, este porcentaje fue bajo e incluso ninguna respuesta ovulatoria fue observada. Nuestros resultados coinciden con lo publicado por Ramírez *et al.* (2001) quienes reportaron que solo el 25% de las hembras expuestas al efecto hembra en mayo ovularon. Sin embargo, difieren de lo reportado por Álvarez *et al.* (1999) quienes lograron que el 80% de las hembras caprinas ovularan al ser expuestas al efecto hembra.

Las causas que provocan la diferencia en la respuesta ovulatoria de las hembras expuestas al efecto hembra, son desconocidas. Sin embargo, es probable que distintos factores puedan ser considerados en la respuesta a este fenómeno:

- 1) Proporción entre hembras: en efecto, se ha demostrado que una disminución en la relación entre hembras bioestimuladoras y hembras estimuladas disminuye también la respuesta ovulatoria de estas últimas. Hogan *et al.* (2004) sugirieron que para que exista una respuesta ovulatoria en cabras

anéstricas, es necesaria una mayor proporción entre hembras bioestimuladoras y anéstricas a la que ellos utilizaron (1/5) en Nueva Zelanda (37° S), en donde no tuvieron respuesta alguna. Sin embargo, en nuestro estudio, aunque en ambos grupos experimentales utilizamos una proporción mayor a la de los autores antes mencionados, no obtuvimos una respuesta significativa en la respuesta ovulatoria de las cabras anéstricas.

2) Periodo del año: se puede considerar que es más fácil conseguir el estímulo sexual mediante el efecto hembra a medida que las hembras anéstricas están más cerca del inicio de su actividad ovárica natural. Hernández-Aldana *et al.* (1999) sugirieron en ovejas que a la mitad del anestro se bloquea la respuesta ovulatoria en presencia de hembras en actividad estral, a diferencia de las ovejas en transición hacia la actividad sexual las cuales responden de manera significativa. En el mes de Junio, periodo de transición entre el anestro estacional y el inicio de la actividad ovárica natural, Zarco *et al.* (1995) obtuvieron una respuesta ovulatoria de 52% en ovejas estimuladas mediante el efecto hembra realizado. En abril y mayo, Álvarez *et al.* (1999) obtuvieron un 80% de respuesta ovulatoria en cabras anéstricas estimuladas. Sin embargo, estos autores utilizaron machos dos veces al día para identificar las hembras en celo. Se ha demostrado que la introducción de machos por periodos cortos incrementa la pulsatilidad de la secreción de LH y la ovulación en las hembras ovinas y caprinas (Martin *et al.*, 1986; Bedos *et al.*, 2010). Se podría considerar que la respuesta tan alta por parte de las cabras anéstricas de estos estudios fue influenciada por su exposición a los machos (Álvarez *et al.*, 1999). Por lo anterior, se podría considerar que la baja respuesta ovulatoria

obtenida en nuestro estudio pudo deberse a que durante el mes de mayo las cabras se encontraban mayormente influenciadas por el efecto inhibitor del fotoperiodo (Duarte *et al.*, 2008; 2010).

3) Condición corporal de las hembras anéstricas: la nutrición es un importante componente de las señales medioambientales que regulan el inicio y duración de la estación reproductiva en las cabras (Duarte *et al.*, 2008). Se ha demostrado que la respuesta de cabras expuestas al efecto macho puede ser influenciada por el estado nutricional de estas mismas (Mellado *et al.*, 1994; Fitz-Rodríguez *et al.*, 2009). Sin embargo, a pesar de que nuestro estudio no es sobre el efecto macho, pudiera considerarse, que la condición corporal de nuestras cabras experimentales (2.0 ± 0.1 ; promedio \pm EEM; escala de 1 a 4) pudo haber influido en su baja respuesta ovulatoria al ser expuestas al efecto hembra.

Nuestros resultados sugieren que las señales exteroceptivas emitidas por parte de las cabras bioestimuladoras tratadas con FGA intravaginal y la aplicación de eCG, no fueron capaces de estimular la actividad ovulatoria en un porcentaje significativo de cabras anéstricas mediante el efecto hembra.

VIII. CONCLUSIÓN

Con los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir que durante el anestro estacional, aunque no se demuestra una diferencia significativa entre los grupos, existe una baja respuesta ovulatoria en las cabras de la Comarca Lagunera (26°N) al someterlas al efecto hembra durante el mes de mayo mediante el contacto directo con cabras inducidas artificialmente al estro con el protocolo de esponjas intravaginales conteniendo FGA y la aplicación de eCG.

IX. LITERATURA CITADA

- Alvarez, L., Ducoing, A. E., Zarco, L. A. y Trujillo, A. M. 1999. Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con hembras en estro. *Veterinaria México*. 30: 25-31.
- Alvarez, L. y Zarco, L. A. 2001. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Veterinaria México*. 32: 117-129.
- Amoah, E. A., Gelaye, S., Guthrie, P. and Rexroad, C. E. 1996. Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *Journal of Animal Science*. 74: 723-728.
- Baldassarre, H. and Karatzas, C. N. 2004. Advanced assisted reproduction technologies in goats. *Animal Reproduction Science*. 82: 255-266.
- Bedos, M., Flores, J.A., Fitz-Rodríguez, G., Keller, M., Malpoux, B., Poindron, P. and Delgadillo, J.A. 2010. Four hours of daily contact with sexually active males is sufficient to induce fertile ovulation in anestrous goats. *Hormones and Behavior*. 58: 473-477.
- Bouillon, J., Lajous, A. et Fourcaud, P. 1982. Mise en évidence d'un effet "chèvres induites" comparable à l' "effet bouc" chez les caprin. 7èmes J. Rech. Ov. et Cap., París, 1-2 Déc, Eds. INRA-ITOVIC-SPEOC : 325-333.
- Bronson, F. H. 2009. Climate change and seasonal reproduction in mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*. 364: 3331-3340.
- Caraty, A. and Skinner, D. C. 1999. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinology*. 140: 165-170.
- Chanvallon, A., Sagot, L., Pottier, E., Debus, N., Francois, D., Fassier, T., Scaramuzzi, R. J. and Fabre-Nys, C. 2011. New insights into the influence of breed and time of the year on the response of ewes to the 'ram effect'. *Animal*. 5: 1594-1604.

- Chemineau, P. 1986. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity. *Reproduction, Nutrition and Development*. 26: 441-452.
- Chemineau, P. 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats – a review. *Livestock Production Science*. 17: 135-147.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Delgadillo, J. A., Guérin, Y., Ravault, J. P., Thimonier, J. and Pelletier, J. 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*. 30: 157-184.
- Chemineau, P., Pellicer-Rubio, M. T., Lassoued, N., Khaldi, G. and Monniaux, D. 2006. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reproduction, Nutrition and Development*. 46: 417-429.
- CONAGUA. 2012. <http://www.cna.gob.mx/> Fecha de consulta: 13 de junio de 2012.
- Delgadillo, J. A., Cortez, M. A., Duarte, G., Chemineau, P. and Malpoux, B. 2004. Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. *Reproduction, Nutrition and Development*. 44: 1- 11.
- Delgadillo, J. A., Flores, J. A., Véliz, F. G., Duarte, G., Vielma, J., Hernández, H. and Fernández, I. G. 2006. Importance of the signals provided by the buck for the success of the male effect in goats. *Reproduction, Nutrition and Development*. 46: 391-400.
- Delgadillo, J. A., Flores, J. A., Véliz, F. G., Hernández, H. F., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P. and Malpoux, B. 2002. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *Journal of Animal Science*. 80: 2780-2786.
- Delgadillo, J. A., Vielma, J., Flores, J. A., Véliz, F. G., Duarte, G. y Hernández H. 2008. La calidad del estímulo emitido por el macho determina la respuesta de las cabras sometidas al efecto macho. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 9: 39-45.

- Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 55: 1211-1239.
- Duarte, G., Flores, J. A., Malpaux, B. and Delgadillo, J. A. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domestic Animal Endocrinology*. 35: 362-370.
- Duarte, G., Nava-Hernández, M. P., Malpaux, B. and Delgadillo, J. A. 2010. Ovulatory activity of female goats adapted to the subtropics is responsive to photoperiod. *Animal Reproduction Science*. 120: 65-70.
- Fatet, A., Pellicer-Rubio, M. T. and Leboeuf, B. 2010. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*. 124: 211-219.
- Fernández, D. H. *Principios de fisiología reproductiva ovina*. 1993. Editorial Hemisferio Sur S. R. L. Universidad de la República. pp: 247.
- Fernández, I. G., Luna-Orozco, J. R., Vielma, J., Duarte, G., Hernández, H., Flores, J. A., Gelez, H. and Delgadillo, J. A. 2011. Lack of sexual experience does not reduce the responses of LH, estrus or fertility in anoestrous goats exposed to sexually active males. *Hormones and Behavior*. 60: 484-488.
- Fitz-Rodríguez, G., De Santiago-Miramontes, M.A., Scaramuzzi, R.J., Malpaux, B. and Delgadillo, J.A. 2009. Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect. *Animal Reproduction Science*. 116: 85-94.
- Flores, J. A., Véliz, F. G., Pérez-Villanueva, J. A., Martínez de la Escalera, G., Chemineau, P., Poindron, P., Malpaux, B. and Delgadillo J. A. 2000. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biology of Reproduction*. 62: 1409-1414.
- Gómez-Brunet, A., López-Sebastián, A., Picazo, R. A., Cabellos, B. and Goddard, S. 1995. Reproductive response and LH secretion in ewes treated with melatonin implants and induced to ovulate with the ram effect. *Animal Reproduction Science*. 39: 23-34.

- Hernández-Aldana, N. A., Angulo, R. B., Cervantes, J., Ortiz, A., Zarco, L., Valencia, J. 1999. Influencia de la raza y de la profundidad del anestro sobre el efecto hembra-hembra en ovejas. *Memorias del X Congreso Nacional de Producción Ovina*; octubre: 13-15; Veracruz, México. México (DF): Asociación Mexicana de Técnicos y Especialistas en Ovinos A. C: 80-84.
- Hogan, N., Waas, J. R. and Verkerk, G. A. 2004. Can female–female stimulation of breeding condition occur in dairy goats?. *Small Ruminant Research*. 55: 21-27.
- Holtz, W. 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Ruminant Research*. 60: 95-110.
- Karsch, F. J., Bittman, E. L., Foster, D. L., Goodman, R. L., Legan, S.J. and Robinson, J. E. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormone Research*. 40: 185-210.
- Karsch, F. J., Malpaux, B., Wayne, N. L. and Robinson, J. E. 1988. Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. *Reproduction, Nutrition and Development*. 28: 459-472.
- Leboeuf, B., Forgerit, Y., Bernelas, D., Pougard, J. L., Senty, E. and Driancourt, M. A. 2003. Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. *Theriogenology*. 60: 1371-1378.
- Malpaux, B. 2006. Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: Neill, J. D. *Physiology of reproduction*. Third ed. New York: Elsevier: 2231-2281.
- Malpaux, B., Viguié, C., Skinner, D. C., Thiéry, J. C. and Chemineau, P. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin*. 44: 431-438.
- Malpaux, B., Viguié, C., Skinner, D. C., Thiéry, J. C., Pelletier, J. and Chemineau, P. 1996. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science*. 42: 109-117.
- Martin, G. B., Oldham, C. M., Cognie, Y. and Pearce, D. T. 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. *Livestock Production Science*. 15: 219-247.

- Martin, G. B. and Scaramuzzi, R. J. 1983. The induction of oestrus and ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. *Journal of Steroid Biochemistry*. 19:869-875.
- Mellado, M., Vera, A. and Loera, H. 1994. Reproductive performance of crossbred goats in good or poor body condition exposed to bucks before breeding. *Small Ruminant Research*. 14: 45–48.
- Menchaca, A. and Rubianes, E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development*. 16: 403-413.
- Oldham, C. M. 1980. A study of seasonal and ovarian activity in Merino Sheep. (PhD Thesis). University of Western Australia.
- Pearce, D. T. and Robinson, T. J. 1985. Plasma progesterone concentrations , ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. *Journal of Reproduction and Fertility*. 75: 49-62.
- Poindron, P., Cognie, Y., Gayerie, F., Orgeur, P., Oldham, C. M. and Ravault, J. P. 1980. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiology and Behavior*. 25: 227-237.
- Ramírez, A., Alvarez, L., Ducoing, A. E., Trujillo, A. M., Gutiérrez, J. y Zarco, L. A. 2001. Inducción de la actividad ovárica en cabras anéstricas mediante diferentes grados de contacto con hembras en estro. *Veterinaria México*. 32: 13-17.
- Restall, B. J. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Animal Reproduction Science*. 27: 305-318.
- Restall, B. J., Restall, H. and Walkden-Brown, S. W. 1995. The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. *Animal Reproduction Science*. 40: 299-303.
- Rivera, G. M., Alanis, G. A., Chaves, M. A., Ferrero, S. B. and Morello, H. H. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Ruminant Research*. 48: 109-117.

- Saumande, J., Tamboura, D. and Chupin, D. 1985. Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationships with number of ovulations and embryos collected. *Theriogenology*. 23: 719-731.
- Vielma, J., Chemineau, P., Poindron, P., Malpaux, B. and Delgadillo, J. A. 2009. Male sexual behavior contributes to the maintenance of high LH pulsatility in anoestrous female goats. *Hormones and Behavior*. 56: 444-449.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G. and Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*. 55: 993-1004.
- Walkden-Brown, S. W., Martin, G. B. and Restall, B. J. 1999. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement. 52: 243-257.
- Walkden-Brown, S. W., Restall, B. J. and Henniawati. 1993. The male effect in the Australian cashmere goats. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Animal Reproduction Science*. 32: 69-84.
- Whitley, N. C. and Jackson, D. J. 2004. An update on estrus synchronization in goats: A minor species. *Journal of Animal Science*. 82: 270-276.
- Zarco, L., Rodríguez, E. F. Angulo, M. R. B. and Valencia, J. 1995. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Animal Reproduction Science*. 39: 251-258.