

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**INDUCCIÓN DE LA RESPUESTA REPRODUCTIVA DE CABRAS EN ANESTRO  
A TRAVÉS DEL "EFECTO MACHO" UTILIZANDO MACHOS TRATADOS CON  
TESTOSTERONA MAS HEMBRAS ESTROGENIZADAS**

**POR:**

**ELIZABETH TORRES SALAS**

**TESIS:**

**Presentada como requisito parcial para**

**Obtener el título de:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**ENERO, 2015**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Inducción de la Respuesta Reproductiva de Cabras en Anestro  
a Través del “Efecto Macho” utilizando Machos Tratados con  
Testosterona más Hembras Estrogenizadas”**

POR

**ELIZABETH TORRES SALAS**

---

**DR. FRANCISCO GERARDO VÉLIZ DERAS  
ASESOR PRINCIPAL**

---

**MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

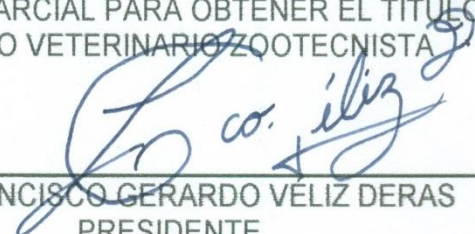
ENERO 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



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

  
DR. FRANCISCO GERARDO VELIZ DERAS  
PRESIDENTE

F. A. 11 - R

DR. FERNANDO ARELLANO RODRÍGUEZ  
VOCAL

  
DRA. LETICIA ROMANA GAYTÁN ALEMÁN  
VOCAL

  
DR. OSCAR ÁNGEL GARCÍA  
VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

ENERO 2015

## DEDICATORIAS

A Dios Padre, por darme la vida, por nunca soltar mi mano, por ser mi principal motor en la vida, gracias padre mío por todas las lecciones que has puesto en mi camino, gracias por la salud y la enfermedad, por los logros y los fracasos, pero sobre todo gracias por el infinito y misericordioso amor que me tienes. “Eh aquí la esclava, eh aquí la sierva del Señor.”

A mis padres Cuauhtémoc Torres Muñoz y María Carolina Salas Montoya por darme la vida, su apoyo y sobre todo su amor incondicional, por ser mis ejemplos a seguir en esta vida, gracias padres míos por creer en mí, y por estar conmigo siempre. Los amo con todo mi corazón pues Dios me ha dado la bendición de tenerlos y la oportunidad de contar con ustedes para compartir mis fracasos, triunfos, tristezas y alegrías. Los amo con todo mi corazón.

A mi hermano Abraham Torres Salas por todo su apoyo, por siempre estar ahí conmigo en las buenas y en las malas, gracias por demostrarme que “querer es poder, si tú te lo propones”, te amo Abe.

A la memoria de mi gran amigo incondicional David Eduardo Pineda Sánchez +, por enseñarme el gran amor a esta bella profesión. Por haber sido mi compañero, amigo, hermano y pañuelo de lágrimas, por siempre estar ahí con los brazos abiertos para darme un abrazo sincero. A pesar de que te has adelantado en este camino, sé que aún desde los cielos me cuidas y sigues estando conmigo. Por siempre “tu vaca favorita”.

A mis grandes amistades y compañeros de toda la carrera: Arely García, Gabriela Gaeta, Argelia Acosta, Gonzalo Domínguez, Humberto Cruz, Antonio Dávila; gracias por siempre estar conmigo en las buenas y en las malas, escuchándome, acompañándome, aconsejándome, pero sobre todo por demostrarme su hermandad ante todo y todos.

A esos amigos especiales que siempre me han brindado su apoyo incondicional a pesar de los fuertes vientos: Ana Karen, Andrés Dávila “Zaca”, Laurita y Dany Gabaldón, los adoro con todo mi corazón mis hijos, gracias por siempre sacarme una sonrisa cuando no encontraba ningún motivo por el cual sonreír.

“En la vida se nos dan pocas oportunidades para salir adelante y contar con seres que nos induzcan y nos enseñen que no debemos darnos por vencidos para lograr nuestras metas e ideales.”

Hoy agradezco todo su apoyo que simboliza el inicio de mi profesión.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi “ALMA TERRA MATER” por recibirme en su seno, alimentarme de su sabiduría y por brindarme todo su espacio para la realización de mi vida profesional.

A mis asesores los Dres. Francisco Gerardo Véliz Deras, Fernando Arellano Rodríguez, Leticia Romana Gaytán Alemán, Oscar Ángel García, por el tiempo dedicado a la revisión, correcciones y comentarios que enriquecieron esta tesis.

Mi agradecimiento especial al Dr. Oscar Ángel García porque su intervención en esta tesis fue especial y oportuna.

A todos y cada uno de mis profesores de toda la carrera, por sus enseñanzas, por sus lecciones, y consejos, y más que nada su amistad.

“Hay hombres que luchan un día y son buenos. Hay otros que luchan un año y son mejores. Hay quienes luchan muchos años, y son muy buenos. Pero hay los que luchan toda la vida, esos son los imprescindibles.”

Bertolt Brecht'

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIAS.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	iii
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS .....	v
TABLA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS .....	vi
RESUMEN.....	x
I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Objetivo General.....	2
1.2. Hipótesis .....	2
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA .....	3
2.1. Estacionalidad reproductiva de las cabras .....	3
2.2. Factores que desencadenan la estacionalidad reproductiva en el macho y hembra .....	6
2.2.1. Fotoperiodo.....	6
2.2.2. Nutrición.....	7
2.3. Control reproductivo del macho .....	9
2.3.1. Eje hipotálamo-hipófisis-gónada.....	9
2.3.2. Espermatogénesis .....	11
2.4. Control neuroendocrino en la hembra .....	17
2.5. Bioestimulación sexual.....	19
2.5.1. Efecto macho-hembra.....	20
2.5.2. Efecto hembra-hembra .....	20
2.6. Tratamientos hormonales para estimular el comportamiento sexual de los machos.....	21
2.6.1. Testosterona.....	21
2.6.2. Hormona Liberadora de Gonatropinas (GnRH).....	23
2.6.3. Melatonina.....	24
2.6.4. Glutamato .....	26
2.6.5. Kisspeptinas (Kp).....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	31
3.1. Lugar de estudio .....	31
3.2. Animales y su manejo .....	31

3.2.1. Manejo de los machos .....	31
3.2.1. Tratamiento de los machos .....	32
3.2.2. Manejo de las hembras .....	32
3.2.3. Tratamiento de las hembras .....	32
2.3 Empadre.....	33
2.4. Variables evaluadas .....	34
2.4.1. Actividad sexual de los machos .....	34
2.4.2. Determinación de la actividad estral .....	34
2.5. Análisis estadísticos.....	35
IV. RESULTADOS .....	36
4.1. Respuesta de los grupos experimentales .....	36
4.2. Respuesta a la actividad sexual de las hembras.....	37
V. DISCUSIÓN .....	39
VI. CONCLUSIÓN .....	41
VII. LITERATURA CITADA .....	42

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

<b>Figura y/o cuadro</b>	<b>Descripción</b>	<b>N° de página</b>
1.	Control fotoperiódico sobre la estacionalidad reproductiva en la hembra	5
2.	Interrelaciones del control reproductivo en el macho.	10
3.	Interrelaciones del control endocrino de espermatogénesis en el macho.	13
4.	Interrelaciones del control neuroendocrino en la hembra	19
5.	Estimulación de las kisspeptinas en la secreción de GnRH	30
6.	Componentes del comportamiento sexual de los machos multirraciales.	36
1.	Diseño experimental del empadre	33
2.	Respuesta de hembras que manifestaron actividad sexual al ser expuestas a machos multirraciales tratados con diferentes tratamientos	37
7.	Porcentaje acumulado de hembras que manifestaron actividad sexual al ser expuestas a machos multirraciales	38



## TABLA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

SÍMBOLO Y/OABREVIATURA	ESPAÑOL	INGLÉS
♀	Hembra	Female
♂	Macho	Male
n=	Población de grupo	Population group
=	Igual	Like
CONT	Control	Control
T4	Testosterona	Testosterone
E2	Estradiol	Estradiol
%	Porcentaje	Percentage
<	Menor que	Less than
>	Mayor que	Greater than
P	Probabilidad	Probability
vs.	Contra	Versus
Fig.	Figura	Figure
et al	Y colaboradores	Et al
°	Grados	Degrees

N	Norte	North
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas	Gonadotropin releasing hormone
IGF-I	Factor de crecimiento asociado a la insulina	Growth factor associated with insulin
NPY	Neuropéptido Y	Neuropeptide Y
LH	Hormona luteinizante	LH
SNC	Sistema nervioso central	CNS
FSH	Hormona folículo estimulante	FSH
ABP	Proteína conjugada de androgenos	Protein conjugate androgens
Bcl-2	B-cell lymphoma 2	B-cell lymphoma 2
CE	Circunferencia escrotal	Scrotal circumference
LCR	Líquido cefalorraquídeo	Cerebrospinal fluid
LHRH	Receptor de LH	LH receptor
C	Carbono	Carbon
ICSH	Hormona estimulante de las células intersticiales	Stimulating hormone interstitial cell
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico	Cyclic adenosine monophosphate
DAG	Diaglicerol	Diaglicerol

IP3	Inositol trifosfato	Inositol triphosphate
SN/F	Sin fecha	Undate
Glu	Glutamato	Glutamate
EAA	Aminoácidos excitadores	Excitatory amino acids
GABA	Ácido gamma aminobutírico	Gamma aminobutyric acid
Kp	Kisspeptinas	Kisspeptinas
ARC	Núcleo arcuato	Arcuate nucleus
m-RNA	Ácido ribonucleico mensajero	Messenger ribonucleic acid
AVPV	Núcleo anteroventral periventricular	Anteroventral periventricular nucleus
'	Minutos	Minutes
°C	Grados Celsius o centígrados	Degrees Celsius
mm	Milímetro	Millimeter
ml	Mililitro	Milliliter
In print	En impresión	In print
MHz	Megahertz	Megahertz
am	"ante meridiem" (antes de mediodía)	Before noon
pm	"post meridiem" (después del mediodía).	After noon

$\alpha$	Alfa	Alpha
$\beta$	Beta	Beta
h	Horas	Hours
NAT	n-acetiltransferasa	n-acetyltransferase

## RESUMEN

Inducción de la respuesta reproductiva de hembras en anestro estacional a través del "efecto macho" utilizando machos tratados con testosterona más hembras estrogenizadas. Se utilizaron 6 machos adultos, divididos en dos grupos, homogéneos en cuanto a condición corporal, peso corporal, circunferencia escrotal y peso testicular, estos machos se mantuvieron estabulados durante el tratamiento. Un primer grupo fue tratado con 1 ml de NaCl (♂CONT), un segundo (♂T4) y tercer grupo fueron tratados con 50 mg de testosterona vía intramuscular cada tercer día por 21 días. Además, se utilizaron 60 hembras anovulatorias divididas en tres grupos (n=20). Del 30 de mayo al 03 de junio, un primer grupo de hembras fue puesto en contacto con dos machos control (♀+♂ CONT), un segundo grupo de hembras fue puesto en contacto con dos machos tratados con testosterona (♀+♂T4), y un tercer grupo de hembras fue puesto en contacto con machos tratados con testosterona más el estímulo de dos hembras estrogenizadas (♀+♂T4+♀E2). Durante los 5 días de empadre se evaluó el comportamiento sexual de cada grupo de machos durante 2 h, dónde se registró el número de olfateos, aproximaciones, flehmen, intentos de montas, montas completas, automarcajes y agresiones de cada macho. La actividad estral se registró 2 veces al día durante los 5 días de empadre. El comportamiento sexual de los machos y el porcentaje de actividad estral se compararon por medio de una chi-cuadrada. Todos los análisis estadísticos se efectuaron mediante el paquete estadístico MYSTAT 12 (Evenston, ILL, USA, 2000). En las conductas sexuales estadísticamente no hubo diferencia en los tres grupos. El porcentaje de estro para el grupo ♀+♂CONT vs ♀+♂T4 no fue diferente (60% vs; 70% respectivamente; P>0.05). Mientras el grupo ♀+♂T4+♀E2 obtuvo una mayor respuesta al inducir el 100% de la respuesta reproductiva en hembras en anestro estacional. Estos resultados demuestran que los machos cabríos tratados con testosterona más hembras estrogenizadas inducen la actividad estral de hembras en anestro estacional mejor que los machos control o sólo tratados con testosterona.

**Palabras clave:** Inactividad sexual, Testosterona, Actividad estral, Comportamiento sexual.

## I. INTRODUCCIÓN

Los eventos reproductivos en cabras y ovejas son controlados por varios factores: internos (endocrinología, genética, edad, experiencia, etc.) y medioambientales (fotoperiodo, temperatura, nutrición, interacciones socio-sexuales, etc.). Entre estos factores, las interacciones sexuales entre parejas o congéneres del mismo sexo parece ser importante en el control de la reproducción. La domesticación de estas especies no fue capaz de modificar el patrón estacional de reproducción mostrado por estos animales en la vida salvaje, cuyo objetivo era garantizar que los corderos y cabritos nacieran en el momento óptimo del año, por lo general en la primavera. Este patrón de reproducción estacional resulta en un período claro de partos, si los animales son ordeñados, un patrón estacional de la producción de leche. Esta situación provoca un patrón estacional de los precios de productos, siendo más bajo cuando el suministro de carne y leche es la más alta (finales de primavera hasta principios de otoño) y viceversa. La reproducción de pequeños rumiantes puede ser controlada por varios métodos desarrollados en las últimas décadas. Algunas de ellas implican la administración de hormonas exógenas. Algunos otros no incluyen hormonas, sino sólo "métodos naturales", tales como el control fotoperiódico o exposición a un macho "efecto macho" o a una hembra "efecto hembra-hembra".

## **1.1. Objetivo General**

Inducción de la respuesta reproductiva de hembras en anestro estacional a través del "efecto macho" utilizando machos tratados con testosterona más hembras estrogenizadas.

## **1.2. Hipótesis**

El "efecto macho" utilizando machos tratados con testosterona más el contacto de hembras estrogenizadas induce la respuesta reproductiva en cabras en anestro estacional que con solo utilizar machos tratados con testosterona.

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1. Estacionalidad reproductiva de las cabras

La estacionalidad de la reproducción es parte del proceso de selección natural; este mecanismo de adaptación es desarrollado por algunos mamíferos silvestres con el fin de minimizar el impacto negativo del ambiente (temperatura, humedad y disponibilidad de alimento) en la supervivencia de manera que los partos ocurran en la época más favorable del año, es decir, con pastos abundantes y temperatura confortable (Chemineau *et al.*, 2010; Duarte *et al.*, 2008; Karsch *et al.*, 1984).

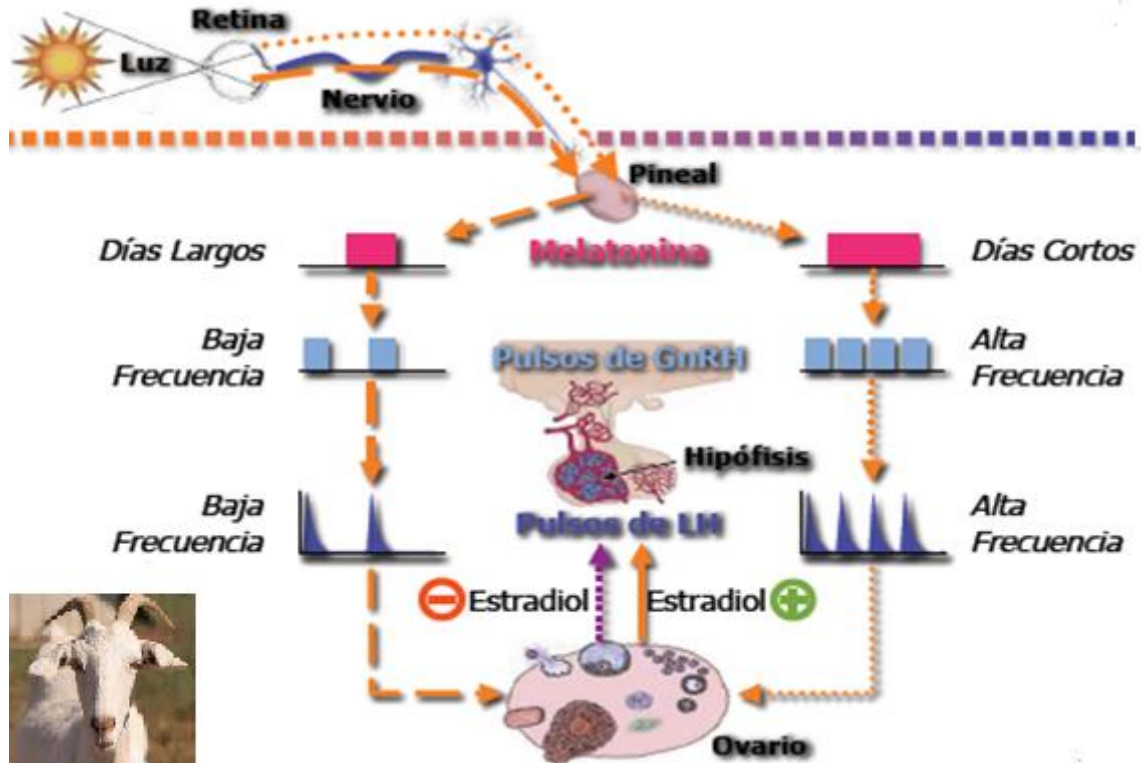
Las noches son más largas en invierno que en verano y entre más alejado se esté del Ecuador (latitudes extremas) esta situación empeora, lo que cambia el comportamiento de la N-acetil transferasa (NAT) que aumenta los niveles de melatonina y esta a su vez los de GnRH. La liberación pulsátil de LH de la hipófisis produce espermatogénesis y secreción de testosterona en el testículo y el ciclo del estrógeno, progesterona y ovulación en el ovario (Genes y Wadith, 2009)

Las variaciones estacionales que muestran los pequeños rumiantes sobre su frecuencia de ovulación (presencia o ausencia de ovulación), la actividad espermatogénica (de moderada disminución a ausencia completa de la producción de espermatozoides), la calidad del gameto (variaciones en el índice de fertilización y supervivencia embrionaria) y también del comportamiento sexual. En efecto, los



mecanismos involucrados son una compleja combinación de ritmos endógenos circanuales, conducidos y sincronizados por la luz y la melatonina. Los pequeños rumiantes son animales poliéstricos estacionales, es decir que presentan varios ciclos estrales únicamente en una estación variada del año, con lo cual, la actividad reproductiva se relaciona íntimamente con el ritmo de producción de la carne, leche y sus derivados (Chemineau *et al.*, 2008).

Los ovinos y caprinos enfrentan las condiciones del medio ambiente con una estrategia reproductiva bien definida, ya que seleccionan la época del año más favorable para sus partos, ocurriendo generalmente en la primavera, estación del año en la que se encuentra el clima y la disponibilidad de alimento para el adecuado desarrollo de sus crías (Duarte *et al.*, 2008). La actividad reproductiva de los animales puede ser influenciada por diversos factores como son: la raza, la localización, el fotoperiodo, alimentación, entre otros (Chemineau *et al.*, 2008).



**Figura 1.** Control fotoperiódico sobre la estacionalidad reproductiva en la hembra (Tomado de Van Lier, 2008).

El fotoperiodo es el principal factor medioambiental que controla la estacionalidad reproductiva de los pequeños rumiantes (Zarazaga *et al.*, 2003). En efecto, algunas razas caprinas originarias a latitudes subtropicales presentan estacionalidad en su actividad reproductiva. En las cabras locales de las zonas áridas de México (26°N), el anestro estacional se presenta de marzo a agosto, mientras que en los machos de esta misma raza el periodo de reposo sexual se extiende de enero a mayo (Carrillo *et al.*, 2010; Carrillo *et al.*, 2007).

## **2.2. Factores que desencadenan la estacionalidad reproductiva en el macho y hembra**

### *2.2.1. Fotoperiodo*

Hay una relación entre el ambiente y las adaptaciones de la conducta reproductiva, el fotoperiodo que provoca cambios fotoneuroendocrinos. Estos cambios involucran fotoreceptores, un reloj biológico y el aparato neuroendocrino. Intervienen en esta regulación las gonadotropinas, el desarrollo gonadal, la retroalimentación negativa de las gonadotropinas por los esteroides sexuales, la intervención de las fibras retino-hipotalámica y los núcleos supraquiasmáticos, así como la secreción de melatonina (Bustos-Obregón y Torres-Díaz, 2012). En los caprinos locales del norte de México, en particular los de la Comarca Lagunera (26°N), existe una estacionalidad reproductiva. En efecto, los machos el periodo de reposo sexual ocurre de enero a abril, mientras que en las hembras, el periodo de anestro sucede de marzo a agosto. En ambos sexos, esta estacionalidad es provocada por las variaciones de la duración del día, Los días cortos estimulan la actividad sexual y los días largos la inhiben (Carrillo *et al.*, 2010; Delgadillo *et al.*, 2003; Lincoln *et al.*, 1990).

### 2.2.2. Nutrición

La influencia de la nutrición en la reproducción se ha investigado extensamente, concluyéndose que la secreción de la Hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH) se reduce en los animales desnutridos. Sin embargo, el mecanismo a través del cual las señales metabólicas generadas por una nutrición deficiente son captadas a nivel central para regular la secreción de GnRH es complejo y no se ha establecido de manera precisa (Arroyo, 2011; Martin *et al.*, 1992).

Se han estudiado distintos indicadores metabólicos que participan en este proceso, como la glucosa, ácidos grasos volátiles, algunos aminoácidos y ácidos grasos no esterificados. También se investigaron mediadores endocrinos entre el estado nutricional y los procesos reproductivos; entre ellos, el factor de crecimiento asociado a la insulina (IGF-I), la hormona del crecimiento, la colesistoquinina, el neuropéptido Y (NPY), los péptidos opioides endógenos y su relación con la insulina. La glucosa regula la liberación de GnRH y, al parecer, los péptidos asociados a la insulina participan en el control del metabolismo de energía en el cerebro. En ovejas con una condición corporal baja, ovariectomizadas y tratadas con implantes subcutáneos de estradiol, se reduce el IGF-I, lo cual inhibe el incremento de secreción de Hormona luteinizante (LH) asociado con el inicio de la

época reproductiva. Por lo tanto, una nutrición inadecuada puede prolongar el anestro estacional (Arroyo, 2011).

En México subtropical (latitud 26°N), al igual que en otras latitudes subtropicales, la mayor parte de las hembras por lo general pastan pastos no mejorados naturalmente, comiendo la vegetación que sólo está disponible por alrededor de 8-9 horas al día sin alimentación suplementaria (Restall, 1992). Como consecuencia, estos animales son sometidos a grandes cambios estacionales en la disponibilidad de alimentos que está relacionado con las variaciones dramáticas de precipitaciones característica de estas regiones (De Santiago-Miramontes *et al.*, 2009). La nutrición es un componente importante del complejo de señales ambientales, ya que regulan el calendario anual de la temporada de reproducción en sí (Duarte *et al.*, 2008). La función reproductiva se ve influenciada por la condición nutricional de los animales, en particular el de la energía, que incluye la cantidad de energía que almacena el cuerpo y la energía obtenida a partir del consumo de alimentos sobre una base diaria. Ambos componentes de la condición de la energía generan, respectivamente, las señales de largo y corto plazo. Señales, que a su vez, tienen influencia, ya sea de forma independiente o de forma interactiva, la secreción de GnRH y LH y la función de los ovarios, incluyendo el desarrollo y ovulaciones foliculares. La restricción de forraje puede provocar períodos de anestro. La suplementación nutricional es importante en la inducción de la actividad sexual durante el periodo de reposo reproductivo (Maldonado *et al.*, 2011).

## **2.3. Control reproductivo del macho**

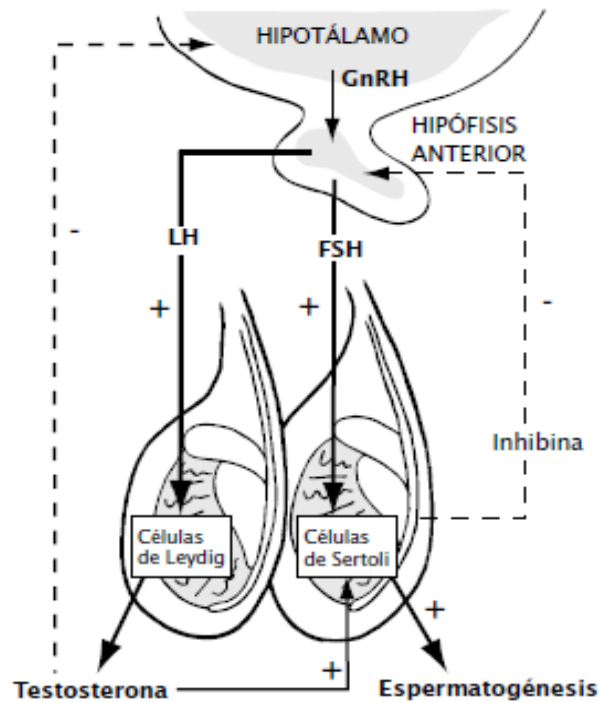
### *2.3.1. Eje hipotálamo-hipófisis-gónada*

Dos ejes esenciales controlan la actividad reproductiva: el sistema nervioso central (SNC) y el sistema endócrino. Existe una estrecha relación entre los órganos nerviosos superiores y las gónadas lo que forma el eje hipotálamo - hipofisiario - gonadal. El hipotálamo es una porción nerviosa del encéfalo que se comunica en forma amplia con el medio externo a través del sistema límbico formado por el quiasma óptico, el bulbo olfatorio y otras estructuras nerviosas (Ruiz-Cervantes, 2004).

Desde el punto de vista reproductivo destaca la GnRH, la cual controla la liberación de la Hormona folículo estimulante (FSH) y LH. El hipotálamo también produce otra hormona importante en los eventos reproductivos; la oxitocina, la cual es transportada por vía nerviosa y se libera a nivel de la neurohipófisis (Frandsen, 1984; Hafez, 1989; Chemineau y Delgadillo, 1994).

La síntesis y liberación de la FSH se encuentran controladas por la inhibina relacionada con concentraciones altas de estradiol. En el caso de la LH no está influenciada por inhibina en machos, su secreción es tónica. La FSH estimula la producción de ABP (proteína conjugada de andrógenos) e inhibina por las células

de Sertoli. La ABP forma un complejo con andrógenos y es transportada junto con los espermatozoides hacia el epidídimo. Por otra parte la inhibina tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH, pero no sobre la LH (Hafez, 1993; Ruiz-Cervantes, 2004).



**Figura.2** Interrelaciones del control reproductivo en el macho (Tomado de Perez-Clariget *et al.*, 2004)

Durante el reposo sexual la secreción de LH, de testosterona, el peso testicular y de producción espermática cualitativa y cuantitativa se encuentran reducidos (Delgadillo *et al.*, 1999; Delgadillo *et al.*, 2001), por lo tanto en dicho periodo el comportamiento sexual de los machos se ve reducido, ya que el número

de montas reduce y las copulaciones pueden desaparecer totalmente (Carrillo *et al.*, 2010).

La actividad espermatogénica depende de la secreción de las hormonas LH y FSH, éstas inducen la diferenciación y la multiplicación de las células germinales, así como la síntesis secreción y de testosterona por las células de Leyding del testículo. La testosterona está presente en el mantenimiento de la espermatogénesis, ya que induce el comportamiento sexual y ejerce una retroalimentación sobre la secreción de las gonadotropinas (Delgadillo *et al.*, 2004). La maduración de los espermatozoides en parte depende de los andrógenos (testosterona) que actúan sobre las células de Sertoli en las cuales están incluidos los espermatozoides en desarrollo, la FSH actúa sobre las células de Sertoli (Walkden-Brown *et al.*, 1994)

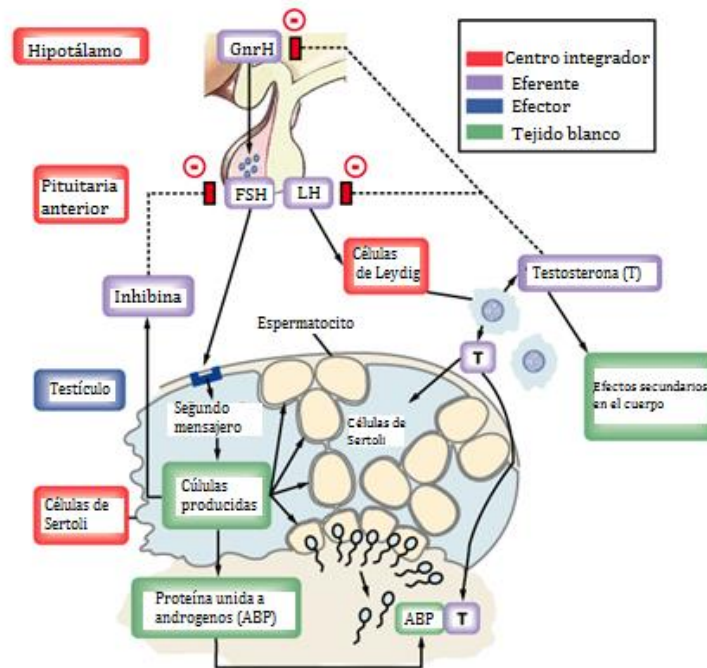
### 2.3.2. *Espermatogénesis*

La espermatogénesis en el macho adulto es un mecanismo altamente complejo, ya que tiene dos objetivos principales: la continua multiplicación de la célula espermatogonia madre para la producción de espermatozoos y una renovación permanente de estas espermatogonias que constituyen un almacén del futuro esperma. Justo antes de la diferenciación sexual, las células germinales primordiales migran con el testículo fetal, luego la diferenciación es en el interior de



los gonocitos que están contenidos en los túbulos seminíferos, estos son multiplicados antes del nacimiento, transformándose en espermatogonia que permanecen inactivas hasta la pubertad, posteriormente ellos son transformados a espermatozoides, la espermatogonia madre constituye en el testículo del macho adulto el almacén de renovación de la cual la espermatogénesis tenga inicio en la vida reproductiva futura del macho y al mismo tiempo, las células diferenciadas la cual conduce al espermatocito primario (Franco, 1996)

La maduración de las espermátides a espermatozoides depende de los andrógenos que actúan sobre las células de Sertoli en las cuales están incluidos los espermatozoides en desarrollo. La producción de espermatozoides se realiza en los túbulos seminíferos. La primera liberación de espermatozoides móviles y fértiles se presenta en la pubertad, aunque el proceso de espermatogénesis se inicia en la vida fetal. Las células productoras de espermatozoides y las espermatogonias troncales, surgen a partir de las células germinales, estableciéndose en las paredes de los túbulos seminíferos (Franco, 1996; Ruiz-Cervantes, 2004)



**Figura 3.** Interrelaciones del control endocrino de espermatogénesis en el macho

Una vez establecida la espermatogonia permanece inactiva hasta la pubertad, momento en que empieza a dividirse para producir espermatozoides. La población de células troncales de espermatogonias es de varios millones y permanece constante a lo largo de la vida (Ruiz-Cervantes, 2004). La duración de la espermatogénesis es aproximadamente 49 - 61 días en rumiantes (Wrobel y Dellman, 1994).

La función endocrina del testículo consiste principalmente en la producción de testosterona (hormona sexual masculina) por las células de Leydig o células intersticiales. Las hormonas como la testosterona tienen efectos masculinizantes y se conocen genéricamente como andrógenos; el testículo es el origen predominante

de estos, pero también se producen en la corteza suprarrenal, la placenta y el ovario (Ruiz-Cervantes, 2004)

La función testicular normal es dependiente de hormonas que actúan a través de vías endocrinas y paracrinas tanto in vivo como in vitro. Células de Sertoli proporcionan factores necesarios para la progresión exitosa de espermatogonias en espermatozoides. Las células de Sertoli tienen receptores para la FSH y la testosterona, que son los principales reguladores hormonales de la espermatogénesis. Las hormonas como la testosterona, FSH y la LH son conocidos por influir en el destino de las células germinales. Su eliminación induce la apoptosis de las células germinales. Las proteínas de la familia Bcl-2 (*B-cell lymphoma 2*) proporcionan una vía de señalización que parece ser esencial para la homeostasis de células germinales masculinos. Además de las señales paracrinas, las células germinales también dependen de las señales derivadas de Sertoli por el contacto directo de la membrana. La somatostatina es un péptido regulador de jugar un papel en la regulación de la proliferación de los gametos masculinos. Activina A, folistatina y la FSH juegan un papel en la maduración de las células germinales durante el período en gonocitos reanudar la mitosis para formar las células madre de espermatogonias y diferenciar las poblaciones de células germinales. Los cultivos in vitro sistemas han proporcionado pruebas de que las espermatogonias en estado avanzado de diferenciación tiene mecanismos reguladores específicos que controlan su destino (Zamiri *et al.*, 2010).

Las células de Sertoli son las únicas células somáticas en los túbulos seminíferos. El papel esencial de las células de Sertoli en la función testicular se destaca por el hecho de que nunca se han observado, células germinales solas en los testículos la gran mayoría de sistemas de cultivo in vitro para la diferenciación de las células germinales exitosa requiere la presencia de células de Sertoli y el número de células germinales sufridas por los testículos está directamente relacionada con la población de células de Sertoli. Las células de Sertoli limitan la expansión de la población de espermatogonias, con cada célula de Sertoli que soporta un número definido de células germinales. Las células de Sertoli forman nichos para las células germinales; estos nichos permiten un cierto número de células germinales a residir en o repoblar los túbulos seminíferos (Almeida *et al.*, 2007).

La duración de la espermatogénesis es aproximadamente de 49-61 días en rumiantes. Los espermatozoides llegan a la luz de los túbulos seminíferos, desde donde son empujados hacia el epidídimo por los elementos contráctiles, que se encuentran en la pared de los túbulos. Aunque en un principio son poco móviles, los espermatozoides alcanzan su potencial de movimiento en la cola del epidídimo (Aránguiz, 2007).

La tasa de producción de espermatozoides es directamente proporcional a la masa testicular, y esto depende del momento del año, teniendo los mayores efectos el fotoperiodo y la nutrición. Existe una demora de 7 semanas entre el comienzo del

estímulo (como la alimentación adicional o suplementación) y el resultado en mayor producción de semen, y esto tiene que ser considerado cuando se formulen planes de manejo (Martin y Walkden-Brown, 1995).

Los caprinos son reproductores estacionales influenciados por el fotoperiodo, que determina variaciones anuales de la libido, la calidad seminal y el tamaño testicular. Este último, relacionado con la producción espermática, puede estimarse mediante la circunferencia escrotal (CE). El comportamiento reproductivo de los caprinos es estacional de días cortos debido a la influencia fotoperiódica (De la Vega *et al.*, 2006)

La CE presenta correlación con el volumen eyaculado y el contenido total de espermatozoides. En machos, se producen variaciones en libido, calidad seminal y tamaño testicular. Sin embargo, los caprinos Criollos de regiones tropicales manifiestan actividad sexual todo el año (De la Vega *et al.*, 2006)

Las variaciones estacionales en la calidad y cantidad del semen son debido principalmente a los cambios en la duración del día en todo el año. Esta variación en calidad y cantidad de esperma es entonces uno de los factores limitantes en la reproducción de la cabra (Al-Ghalban *et al.*, 2004). La edad es también uno de los principales factores que contribuyen a las diferencias en la circunferencia escrotal y semen con el tamaño testicular que está estrechamente relacionado con la producción total de espermatozoides (Al-Ghalban *et al.*, 2004).

El comportamiento sexual y la calidad del semen son los principales factores que limitan la eficiencia reproductiva masculina durante el año. Estos factores pueden variar en función de la raza, ubicación geográfica , la estación del año (Barkawi *et al.*, 2006).

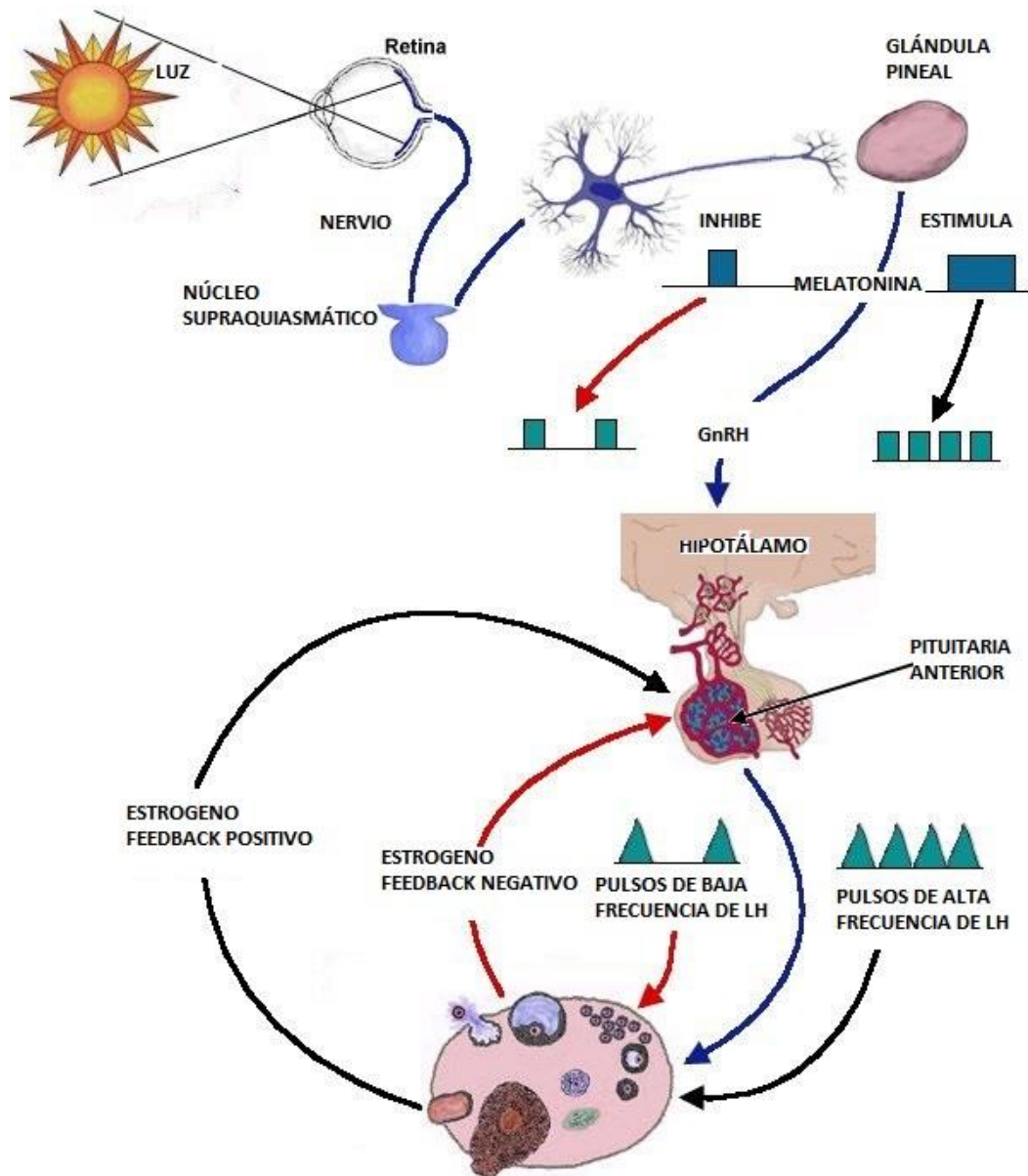
En el testículo, las endocrinocitos intersticiales (de Leydig) (que secretan testosterona y también estrógenos), establecen un asa de retroalimentación con la adenohipófisis y el hipotálamo en un circuito de asa larga, corta y ultracorta, donde neuronas neuroendocrinas tienen un rol importante. Los sustentocitos (células de Sertoli) (intratubulares) son importantes por su rol mecánico, tráfico y metabólico respecto a las células germinales y la secreción de activina e inhibina, que provoca o inhibe la secreción de FSH respectivamente (Bustos-Obregón y Torres-Días, 2012).

#### **2.4. Control neuroendocrino en la hembra**

De todos los factores ambientales, el fotoperiodo es el más repetible y con variabilidad nula entre años, la duración de las horas luz, sincroniza el ciclo reproductivo. Los ovinos detectan las variaciones anuales en la duración del fotoperiodo utilizan una compleja red neural a nivel central y transforman la señal luminosa en una señal hormonal a través de la síntesis y secreción de melatonina. En este mecanismo, la luz es captada en el ojo, a través de la retina, la señal

luminosa se transforma en una señal eléctrica que es conducida de la retina al hipotálamo por medio del tracto retinohipotalámico; en el hipotálamo, el núcleo supraquiasmático; capta la señal y posteriormente se transfiere al núcleo paraventricular, finalmente al cerebro posterior, específicamente al ganglio cervical superior. En este punto, la señal eléctrica se transforma en una señal química, el ganglio cervical superior libera noradrenalina, la cual es captada por receptores alfa y beta adrenérgicos en la membrana celular de los pinealocitos, se induce la síntesis de la N-acetil-transferasa, enzima fundamental en la síntesis de la melatonina; de esta manera, la hormona se sintetiza en los pinealocitos de la glándula pineal durante las horas de oscuridad a partir del aminoácido triptófano. La menor duración en la secreción de melatonina durante los días largos, permite la síntesis de dopamina e induce el anestro estacional. Durante los días cortos, la mayor duración en la síntesis y secreción de melatonina inhibe la producción de dopamina, con el subsecuente restablecimiento de la actividad estral y la ovulación (Arroyo, 2011)

Se ha demostrado claramente que en los mamíferos se recibe la información fotoperiódico en el nivel de la retina y se transmite a través de una vía neural de varios pasos a la glándula pineal donde el mensaje modula el ritmo de secreción de melatonina. La melatonina se libera tanto en la vena de Galeno y en el líquido cefalorraquídeo y las concentraciones en el LCR son 20 veces mayores que en la vena yugular. La melatonina se libera sólo por la noche y, por lo tanto, la duración de la secreción difiere entre días largos y cortos. Esta duración de la secreción de melatonina se procesa entonces neuralmente para regular la secreción de LHRH (Malpoux *et al.*, 1997).



**Figura. 4. Interrelaciones en el control neuroendocrino en la hembra**

## 2.5. Bioestimulación sexual

La introducción del macho y hembras a grupos de ovejas y cabras anéstricas, provoca una respuesta ovulatoria sincronizada en los primeros tres a cinco días siguientes (efecto macho y hembra). La señal del macho es principalmente feromonal y desencadena un incremento en la frecuencia y amplitud de los pulsos



de la LH. El porcentaje de hembras ovulando en respuesta al olor del macho es menor que cuando existe contacto físico total con el semental, esto último indica que otros sentidos están involucrados en la mediación del fenómeno pero ninguno es indispensable (Álvarez y Zarco, 2001)

#### *2.5.1. Efecto macho-hembra*

El efecto macho se refiere al estímulo que ejercen los machos sobre las hembras en anestro poco profundo, o en aquellas próximas al inicio de la estación de apareamiento. El efecto provocado por la introducción repentina de los machos estimula un proceso que culmina con la ovulación y la presentación de estros. El efecto estimulante del macho ha sido reconocido desde hace muchos años como una forma eficaz y barata para el control del empadre, sobre todo en los de primavera. También se le ha usado como forma de inducir el inicio de la vida reproductiva en hembras jóvenes (Delgadillo *et al.*, 2003).

#### *2.5.2. Efecto hembra-hembra*

La presencia continua de ovejas cíclicas o la introducción repentina de ovejas en celo (generalmente por inducción hormonal) a las ovejas en anestro estacional es capaz de inducir y sincronizar la ovulación en estas ovejas y así avanzar en el inicio de la temporada de cría. Este fenómeno se conoce como la facilitación social y porque la estimulación es proporcionada por las señales sociales que emanan de

las hembras que más recientemente ha sido designado como el "efecto hembra-hembra" (Rosa y Bryant, 2002).

En ausencia del fotoperiodo, las hembras pueden utilizar información social para iniciar su actividad reproductiva en el momento apropiado del año, ello sucede aun en ausencia total del macho, lo que sugiere que la información proveniente de las hembras puede ser usada por sus compañeras para inducir y sincronizar su actividad sexual. Por lo tanto las hembras pueden utilizar señales provenientes de los machos; en ausencia de estos, recurren a la información de otras hembras para ayudarse a coordinar sus eventos reproductivos con un ambiente físico y social apropiado (Álvarez y Zarco, 2001).

## **2.6. Tratamientos hormonales para estimular el comportamiento sexual de los machos**

### *2.6.1. Testosterona*

La testosterona (T), es una prohormona que ejerce su acción fisiológica o farmacológica la cual debe reducirse en posición 5- a dihidrotestosterona, que es la hormona activa. Los testículos también producen estradiol que ejerce algunas acciones metabólicas y androgénicas. La androsterona, metabolito de la

dihidrotestosterona y la eticolanolona, metabolito de la testosterona son los principales productos de acción androgénica de excreción urinaria, ambos fisiológicamente inactivos. Químicamente la testosterona, un esteroide de 19 átomos de C es sintetizada a partir del colesterol en las células de Leydig de los testículos, la corteza suprarrenal y en las células tecales del ovario. Varios derivados se originaron a partir de modificaciones de la estructura de la testosterona: el agregado de grupos metilos en C1, C7 y C17 aumenta la actividad biológica. La 17- $\alpha$ - metil-testosterona es un derivado especial porque conserva su acción androgénica (Malgor y Valsecia, SN/F).

Las células intersticiales de Leydig del testículo son el sitio de la síntesis principal de testosterona, y la LH, es la reguladora específica de la producción de la testosterona. La LH suele ser llamada también hormona estimulante de las células intersticiales La acción de la LH y Hormona estimulante de las células intersticiales (ICSH), está mediada por la activación de la adenilciclase y proteínas específicas reguladoras de nucleótidos de guanina (proteínas G), para la producción intracelular de adenosin monofosfato cíclico (AMPc). Además la acción de la LH, puede también involucrar activación de fosfolipasa C e incremento de la producción de los segundos mensajeros, diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP3) a partir de fosfoinositoles de la membrana (Malgor y Valsecia SN/F).

La LH es hormona reguladora específica de la producción de T, se une a receptores en la superficie de las células de Leyding en el testículo y estimula la

producción de testosterona, que ocurre dentro del túbulo seminífero. Ésta actúa sobre las células de Sertoli, estimulando la diferenciación de las células germinales (Aránguiz, 2007). La T producida en las células de Leyding puede ejercer un feedback negativo, tanto a nivel hipotalámico como hipofisiario, disminuyendo la secreción pulsátil de GnRH en el hipotálamo y de LH en la adenohipófisis. Una mayor concentración sérica de esta hormona en conjunto con un tratamiento por dos meses con fotoperiodo los conducen a un incremento del olor del macho así como del comportamiento sexual (Bedos *et al.*, 2010), el cual resulta en tratamientos muy costosos y en la mayoría de los casos no son aplicados a nivel de campo. Existen, otros métodos de inducción de la actividad sexual del macho durante la época de reposo sexual, la cual resulta mucho más barato y consiste en tratar T por 3 semanas y que al final de este periodo los machos tratados con T tienen la habilidad de inducir hasta el 93% de actividad estral en hembras anovulatorias, mientras que los machos no tratados no son capaces de inducir la actividad sexual de las hembras (Luna-Orozco *et al.*, 2012).

### *2.6.2. Hormona Liberadora de Gonatropinas (GnRH)*

La GnRH se secreta en el hipotálamo anterior, específicamente por las neuronas hipotalámicas hacia la circulación porta-hipofisiaria. En las membranas de los gonadotropos se une a receptores específicos para GnRH, se libera en pulsaciones y provoca la liberación de dos hormonas de la adenohipófisis: LH y

FSH. Estas dos gonadotropinas participan en el control de la reproducción en mamíferos machos y hembras. Se utiliza la frecuencia de pulsos de LH como un índice de secreción de GnRH (Aránguiz, 2007).

### *2.6.3. Melatonina*

La síntesis de la melatonina es realizada partir del triptófano suministrado por la dieta, el cual llega a la glándula pineal por la corriente sanguínea, donde se transforma en 5- hidroxitriptamina (serotonina) la cual por la acción de la encima específica de la pineal hidroxindol se transforma en melatonina (n- acetilmetoxitriptamina). La serotonina se transforma en n- acetilserotonina por acción de la n- acetiltransferasa, encima que es el paso limitante en la síntesis de la melatonina. La serotonina por acción de la n- acetiltransferasa (NAT) se transforma en n- acetilserotonina, por lo que el NAT es limitante para la síntesis de melatonina. La NAT se activa en la oscuridad y es inhibida por la luz, además esta enzima es estimulada cuando se da la liberación de noradrenalina en las células pineales interaccionando con receptores  $\alpha 1$  y  $\beta 1$  adrenérgicos dando como resultado un aumento en el AMPc dentro del pinealocito el cual produce un aumento en la producción de melatonina mediante la inducción o activación de la NAT. En cuanto a la reproducción, la melatonina, la luz y estación cumplen un papel muy importante, ya que es inevitable que durante los cambios anuales hayan días más largos que otros lo cual tiene repercusión biológica importante, ya que altera la producción de melatonina que en nuestro caso son animales que se reproducen en días cortos

(otoño), la melatonina es el mensajero hormonal de la glándula pineal, por lo tanto la extirpación de la glándula previene los efectos supresores de los días cortos sobre la fisiología reproductiva. La melatonina pasa la información según el fotoperiodo al sistema neuroendocrino reproductor que se manifiesta con cambios tanto anatómicos como hormonales en los órganos sexuales (Genes y Wadith, 2009)

Otro efecto de la melatonina es que actúa sobre el pulso de la GnRH de esta manera la melatonina puede controlar el estado funcional de las gónadas y controla así la capacidad reproductiva de un animal según la estación del año. La melatonina es altamente lipofila y difunde rápidamente desde el pinealocito a la corriente sanguínea, alcanzando otros líquidos corporales, como la saliva, líquido cerebro espinal, líquido amniótico, líquido seminal y líquido folicular ovárico.

La melatonina es un mediador esencial de la reproducción estacional en las especies fotoperiódicas, pero muy posiblemente no es solo un factor anti o pro gonadotrópico ya que muchos sistemas son alterados cuando existe una periodicidad circanual, como por ejemplo el metabolismo lipídico, la actividad tiroidea, regulación de la temperatura, consumo de alimento; lo que sugiere la utilización de melatonina y por tanto la relación con la actividad de la glándula pineal (Genes y Wadith, 2009).

La melatonina, secretada por la glándula pineal, es considerado uno de los factores desencadenantes del cambio fisiológico estacional en animales. La melatonina se produce durante la oscuridad y alcanza niveles altos en la noche. Los altos niveles de melatonina se mantienen más tiempo bajo condiciones de días cortos.

Se ha demostrado que el uso de melatonina o una combinación de días largos y melatonina induce la actividad reproductiva durante el anestro estacional sin separación de los machos. Sin embargo el uso de días largos solo no induce el estro en un porcentaje suficientemente alto de las hembras (Zarazaga *et al.*, 2011).

#### 2.6.4. Glutamato

El glutamato (Glu) pertenece a la familia de neurotransmisores conocida como amino ácidos excitadores (EAA), es el principal neurotransmisor excitador en el SNC y ejerce esta función por medio de receptores específicos. Los EAA en general, y el glutamato en particular ejercen un marcado efecto estimulante sobre el eje reproductivo, particularmente en el momento de la pubertad. La administración de glutamato y sus agonistas promueven la liberación pulsátil de LH en animales previamente expuestos a esteroides. A la inversa, los antagonistas de los receptores ionotrópicos de glutamato inhiben la liberación de LH, e inhabilitan la secreción de LH inducida por estradiol (E2) y la oleada preovulatoria de LH (Meza-Herrera *et al.*, 2009).

Existe evidencia que sugiere que los AAE pueden estar involucrados en el control neural de circuitos asociados con la medida del tiempo, especialmente en especies fotoperiódicas de reproducción estacional. Esta evidencia sugiere que a nivel del hipotálamo, la función excitadora del glutamato implica la participación

estimuladora o inhibitoria del pulso generador de GnRH, además de estimuladores secundarios tales como: Neuropéptido-Y, Noradrenalina, GABA, Opioides, Neurotensina y la especial participación de la hormona Melatonina. Asimismo, los AAE pueden estar involucrados en los eventos neuroquímicos que regulan la reproducción mediante el control pineal de la melatonina (Colwell *et al.*, 1991).

El inicio de la pubertad requiere una comunicación recíproca neurona-glía que implica EAA, principalmente glutamato y aspartato, además de algunos factores de crecimiento y la acción coordinada de un grupo de los neuromoduladores, todo lo cual representa un mayor nivel de control que regula el proceso de la pubertad, son también necesarias (Ottem *et al.*, 2004).

#### 2.6.5. Kisspeptinas (Kp)

Las Kisspeptinas (Kp) son una familia de neuropéptidos producidos principalmente por dos poblaciones de células neuronales hipotalámicas. Han surgido recientemente como un importante regulador del eje gonadotropina y su acción se encuentra sobre la población de células de la GnRH. Las kisspeptinas, son producto del gen KiSS1, y su receptor GPR54 enlazado a proteínas G, han emergido como reguladores esenciales de la reproducción y como elementos clave en la regulación de la secreción de GnRH, tanto en la ausencia como en el inicio de la pubertad (Tena-Sempere, 2006; Roa *et al.*, 2011).



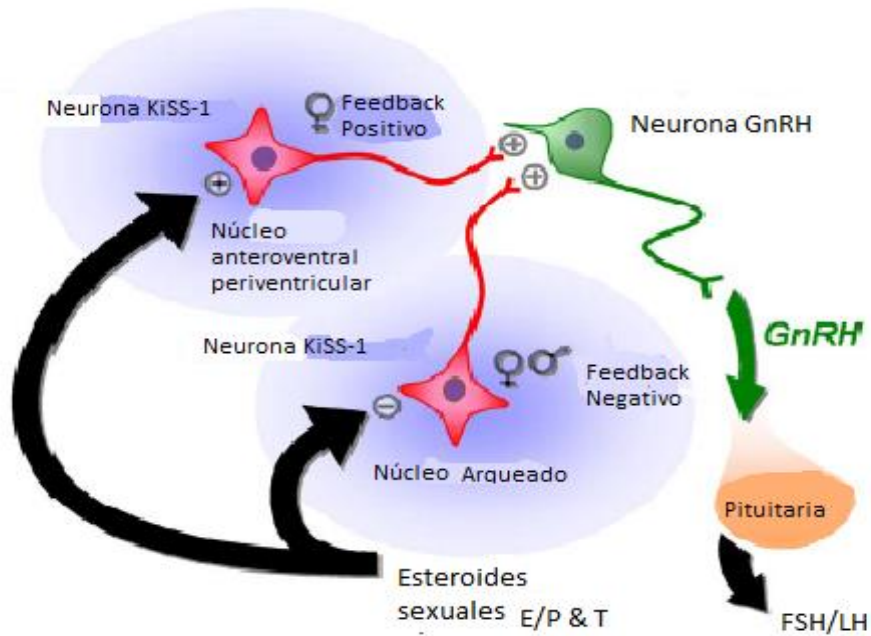
Estos péptidos participan en la maduración y función del eje reproductivo. En los mamíferos, la administración exógena de Kp estimula potentemente la secreción de gonadotropinas. Esta acción se ejerce principalmente, si no exclusivamente, a través de la estimulación de la liberación de GnRH. La administración intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea de Kp indujo un aumento rápido en plasma de gonadotropinas hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del folículo (FSH). Sin embargo, este efecto estimulante es de corta duración (Caraty *et al.*, 2012)

En el sistema periférico las kisspeptinas han sido identificadas en testículos, ovarios, gonadotropos de la pituitaria anterior, páncreas e intestino delgado (Hameed *et al.*, 2011). La administración de kisspeptinas en animales inmaduros refuerzan la idea de un papel relevante del sistema KiSS-1 en la activación puberal del eje reproductor (Tena-Semper, 2006, 2010).

La administración de kisspeptinas en corderas prepuberales provoca la liberación del pulso de LH y estimula la función ovárica, llevando al aumento de la estereidogénesis ovárica, la estimulación de una oleada preovulatoria de LH y la actividad de la ovulación y la lútea (Redmond *et al.*, 2011). Los mecanismos que producen la activación del sistema GnRH por las kisspeptinas durante la pubertad son diversos, sofisticados y altamente regulados, reflejo de la importancia funcional de los mismos. Se han identificado cuatro mecanismos de gran importancia hasta la fecha: 1) aumento del tono endógeno de kisspeptinas, reflejado por un incremento de la expresión del gen KISS-1 en torno a la pubertad; 2) posible aumento de la expresión del receptor GPR54, de menor magnitud que la del ligando; 3) incremento

de la sensibilidad a las acciones estimuladoras de las kisspeptinas durante la transición puberal, que se asociaría a un aumento de la eficacia del acoplamiento de GPR54 a sus rutas de señalización; 4) incremento de los contactos sinápticos entre neuronas KiSS-1 y neuronas de GnRH a lo largo de la pubertad (Calderón, 2012)

En ovejas, las neuronas de kisspeptinas en el núcleo preciso parecieran tener un papel tanto en la retroalimentación negativa como positiva de la liberación de GnRH, ejercida por los esteroides sexuales. Recientemente se descubrieron dos péptidos RF-amida (péptidos con una terminal-C similar, arg-fen-NH<sub>2</sub>), la kisspeptina (ó metastina) y la GnIH (ó RFRP). Las kisspeptinas participan de manera determinante en la activación del eje reproductivo y es fundamental para el inicio de la pubertad. La kisspeptina estimula la secreción de gonadotropinas en roedores y ovejas, con un efecto directo en las neuronas GnRH, las cuales expresan el receptor Kiss1r. En la oveja, las neuronas kisspeptinas se localizan en el núcleo arcuato (ARC; también conocido como núcleo A12) y en el área preóptica y parece ser determinante en la ocurrencia del pico preovulatorio de LH. Por otro lado, se sugiere que la expresión hipotalámica del gen Kiss1 se regula de acuerdo con el ciclo reproductivo anual en hámsters y ovejas (Greives *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2007).



**Figura. 5.** La Kisspeptina estimula la secreción de GnRH por un efecto directo sobre las neuronas de GnRH, la mayoría de los cuales expresan el receptor kisspeptina, GPR54. Las neuronas que expresan KISS-1 mRNA residen en el núcleo anteroventral periventricular (AVPV) y el núcleo arqueado (arqueado). En la forma de arco, el estradiol (E) y la testosterona (T4) inhiben la expresión de KiSS-1 mRNA, mientras que, en el AVPV, estas mismas hormonas esteroides sexuales inducen KiSS-1 mRNA expresión Tomado de (Gottsch et al., 2006)

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de estudio**

El presente trabajo se realizó en la Comarca Lagunera en el ejido 6 de enero, Lerdo, Durango. (Latitud norte 25° 46' y Latitud Oeste 103° 31'); la cual presenta un clima semidesértico con una precipitación pluvial anual de 230 mm y una temperatura máxima y mínima de 37° C y 6° C respectivamente.

#### **3.2. Animales y su manejo**

##### *3.2.1. Manejo de los machos*

Se utilizaron 6 machos adultos divididos en dos grupos de más de 2 años de edad, siendo estos homogéneos en relación de condición corporal, peso corporal, circunferencia escrotal y peso testicular. Durante el empadre éstos animales se mantuvieron estabulados con una alimentación a base de heno de alfalfa, sales minerales y agua a libre acceso, sin embargo al momento del empadre su alimentación se basó en rastrojos y flora natural de la región, además se complementaron con algunos desechos de destilería, y block de sales minerales. Estos animales se determinaron en reposo sexual por la época del año.

### 3.2.1. Tratamiento de los machos

Un primer grupo ♂CONT; fue tratado con 1 ml de solución salina fisiológica cada 3 días durante 21 días. Un segundo grupo ♂T4, recibieron 50 mg por animal vía intramuscular, cada tercer día durante 21 días.

### 3.2.2. Manejo de las hembras

Se utilizaron 60 hembras anovulatorias de genotipo indefinido divididas en tres grupos (n=20). Las cuales fueron alimentadas con forrajes presentes en la región, que son el zacate buffel (*Cenchrusciliaris*), bermuda o zacate chino (*Cynodondactylon*) zacate navajita (*Boutelouagracilis*) Johnson (*Sorghumhalepense*); arbustivas como el mezquite (*Prosopis granulosa*) y el huizache (*Acacia farnesiana*) y herbáceas como Trompillo (*Solanumelaeagnifolium*), Arrastradilla (*Sida abutifolia*) y Hierba del Negro (*Sphaeralcea angustifolia*) (Carrillo *et al.*, 2008)

### 3.2.3. Tratamiento de las hembras

Previo al empadre a todas las hembras se les aplicó 25 mg de progesterona vía intramuscular (IM) a las -24 h (Véliz *et al.*, 2009). Además 2 hembras fueron

estrogenizadas las cuales recibieron a las -48 h 2 mg de cipionato de estradiol vía IM (Carrillo *et al.*, 2014).

### 2.3 Empadre

El periodo de empadre fue del 30 de mayo al 03 de junio de 2013. Un primer grupo de hembras, fue puesto en contacto con dos machos control (♀+♂ CONT), el segundo grupo se puso en contacto con dos machos tratados con testosterona (♀+♂T4). Mientras que el tercer grupo fue puesto en contacto con dos machos tratados con testosterona más el estímulo de dos hembras estrogenizadas (♀+♂T4+♀E2).

#### Cuadro 1. Diseño experimental del empadre

Grupos	Hembras en contacto con:
♀	♂ CONT
♀	♂T4
♀	♂T4 +♀E2

## **2.4. Variables evaluadas**

### *2.4.1. Actividad sexual de los machos*

Al final de los tratamientos los machos fueron puestos en contacto con los grupos de hembras anovulatorias, para lo cual se midió a través de una prueba de comportamiento sexual de estos machos durante 2 h diarias los primeros 5 días del empadre, 09:00 a 10:00 am y 17:00 a 18:00 pm, mediante la observación directa de las conducta sexuales de cada macho, la cual consistió en registrar el número de olfateos ano-genitales, aproximaciones, flehmen, intentos de montas, montas completas, y automarcajes (Ángel-García *et al.*, 2014).

### *2.4.2. Determinación de la actividad estral*

La actividad estral se registró 2 veces al día, a las (09:00 y 17:00 h), durante 5 días. Se evaluó la actividad estral mediante la introducción de un macho en cada grupo, durante 15 minutos los primeros 5 días del empadre 09:00 a 10:00 am y 17:00 a 18:00 pm. Las hembras que permanecieron inmóviles a la monta del macho se consideraron en estro (Chemineau *et al.*, 1992).

## **2.5. Análisis estadísticos**

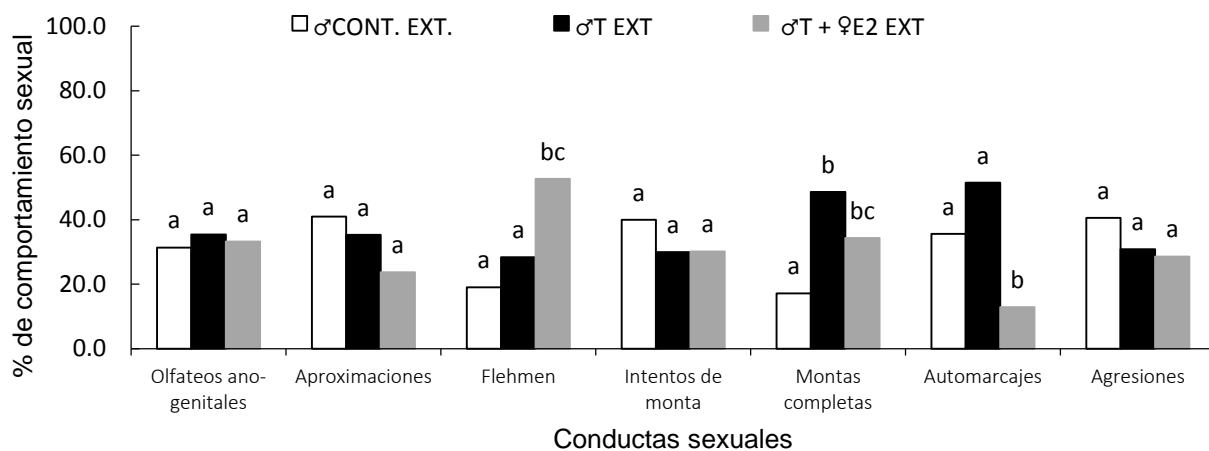
El comportamiento sexual de los machos y la respuesta de la actividad estral se compararon por medio de una chi-cuadrada. Todos los análisis estadísticos se efectuaron mediante el paquete estadístico MYSTAT 12 (Evenston, ILL, USA, 2000).



## IV. RESULTADOS

### 4.1. Respuesta de los grupos experimentales

El comportamiento sexual de los grupos tratados se muestra en la Fig. 6. El 33% de las conductas sexuales fueron realizadas por el grupo ♂CONT seguido por un 39% del ♂T4 ( $P<0.05$ ). Mientras que el grupo de machos del grupo ♂T4 + ♀E2 fue 28% ( $P<0.05$ ).



**Figura 6.** Componentes del comportamiento sexual de los machos multirraciales (mezcla de diferentes razas lecheras) sexualmente inactivos tratados con diferentes tratamientos.

## 4.2. Respuesta a la actividad sexual de las hembras

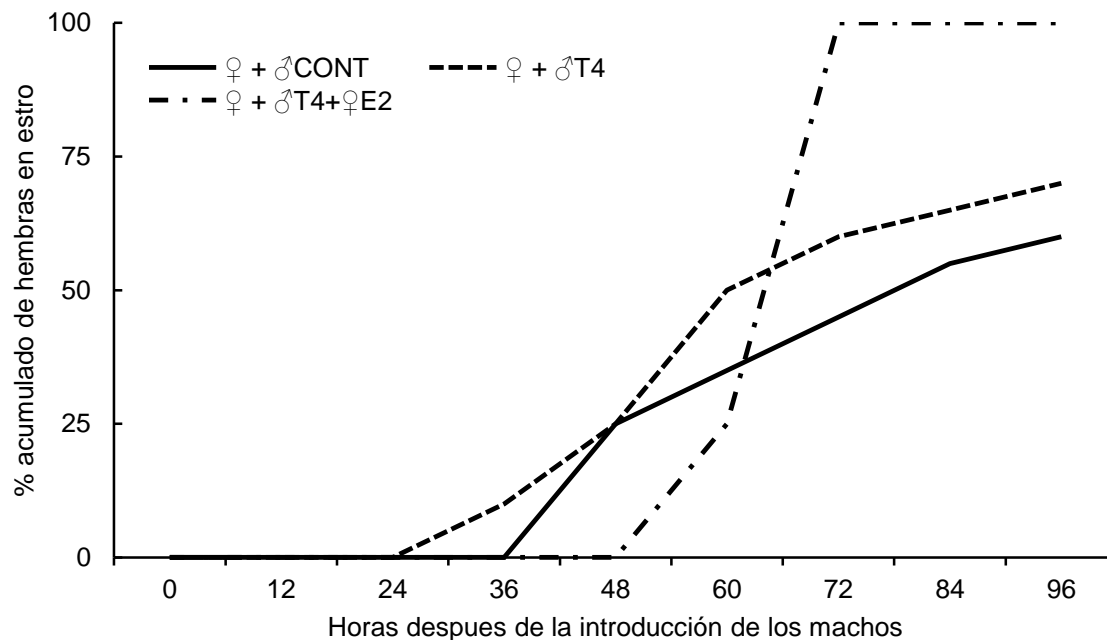
Las hembras que manifestaron actividad sexual se observa en el Cuadro. 2.

Grupo	% de Estro
♀ + ♂ CONT	60% (12/20) <sup>a</sup>
♀ + ♂T4	70% (14/20) <sup>ab</sup>
♀+ ♂T4 + ♀E2	100% (20/20) <sup>b</sup>

\*<sup>a,b,c</sup> literales con superíndices diferentes indican (P<0.005)

**Cuadro 2.** Respuesta de hembras que manifestaron actividad sexual al ser puestas en contacto a machos multirraciales con diferentes tratamientos (♀+ ♂ CONT; ♀ + ♂T4 y ♀+ ♂T4 + ♀E2).

En la Fig. 7. se muestra el porcentaje acumulado de hembras que manifestaron celo durante el empaque.



**Figura 7.** Porcentaje acumulado de hembras que manifestaron actividad sexual al ser expuestas a machos multirraciales con diferentes tratamientos.

## V. DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo demuestran que los tratamientos con testosterona exógena estimulan el comportamiento sexual en machos cabríos durante época de reposo sexual (Luna-Orozco *et al.*, 2011; Ángel-García *et al.*, 2014). En efecto, se conoce que el comportamiento sexual de los machos cabríos está dado por la testosterona la cual disminuye durante el periodo de reposo sexual (Veliz *et al.*, 2006), la secreción de testosterona aumenta en respuesta a una alta frecuencia de pulsos de LH, la cual estimula los centros del comportamiento a nivel del cerebro y las glándulas sudoríparas de la piel, lugar donde se producen las feromonas putativas que estimulan el sistema reproductivo de la oveja (Martin y Banchemo, 1999), y en la cabra (Álvarez y Zarco, 2001). Se ha realizado bastante investigación en el "efecto macho" tanto para los caprinos como para los ovinos, donde la introducción del macho incrementa la frecuencia de pulsos de LH e induce la ovulación en hembras durante la estación no reproductiva (Rivera *et al.*, 2003). Además, se conoce que el contacto de machos a través de hembras estrogenizadas induce el comportamiento sexual de estos machos durante el periodo de reposo sexual, encontrándose en estos machos un aumento en los niveles de testosterona plasmática (Carrillo *et al.*, 2014).

Se sabe que el macho cabrío se vuelve más efectivo induciendo la ovulación cuando está en un buen estado nutritivo. La nutrición o los estímulos sociales que mejoran el estado reproductivo del macho cabrío resultan en cambios de comportamiento y

posiblemente en la secreción de señales químicas que adelantan y sincronizan el inicio de la respuesta sexual de las hembras expuestas a ellos (Rivera et al., 2003).

En efecto la intensidad en el comportamiento sexual de los machos es un factor determinante en la respuesta sexual de las hembras sometidas al efecto macho. Se sabe que la mayor respuesta de la actividad sexual se ha registrado cuando se realiza al final del anestro estacional a finales de mayo, cuando los machos ya han iniciado probablemente su actividad sexual de manera natural (Carrillo, 2007).

El intervalo entre la introducción de los machos a la presentación del estro es más larga en las cabras con baja condición corporal que en las hembras con buena condición corporal. Se ha reportado que las cabras con bajo peso corporal tienen menor respuesta sexual al efecto macho con respecto a las hembras con alto peso corporal al exponerlas a machos inducidos a una intensa actividad sexual durante la mitad del anestro (Véliz *et al.*, 2006; Rivas-Muñoz *et al.*, 2010).

Aunque el comportamiento sexual de los machos de los tres grupos no hubo diferencia, la respuesta sexual de las cabras expuestas a los machos tratados con testosterona más hembras estrogenizadas fue mayor, esto es probable que se debió al doble estímulo que recibieron las hembras tanto de los machos como de las hembras. En efecto, se ha reportado que con solo la presencia de hembras en estro pueden estimular a las otras hembras anovulatorias (Álvarez y Zarco., 2001; Walkden-Brown et al., 1993), es probablemente debido a las feromonas secretadas por las hembras, en las secreciones vaginales, lo que es probable que sucedió en el presente estudio.

Por otra parte la falta de diferencia registrada en el comportamiento de los machos se debió a que los machos del grupo testigo estaban en actividad. Esto se

comprueba en la respuesta sexual de las hembras sometidas a estos machos (60%). En efecto, se menciona que en estas razas y en esta región los machos sexualmente inactivos son incapaces de estimular más del 20% de las hembras a la actividad sexual (Veliz *et al.*, 2002), por lo que es muy probable que los machos del grupo control estuvieran entrando en el periodo de actividad sexual, con lo cual muestran un mejor comportamiento sexual el cual es suficiente para estimular la actividad sexual de las hembras (Carrillo *et al.*, 2007).

## **VI. CONCLUSIÓN**

La inducción de la actividad sexual de las cabras anovulatorias a través del "efecto macho" es mejor al utilizar machos tratados con testosterona más el contacto de hembras estrogenizadas que con solo utilizar machos tratados con testosterona.

## VII. LITERATURA CITADA

- Al-Ghalban, A. M., M. J. Tabbaa, y R. T. Kridli. 2004. Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in damascus bucks. *Small Rumin Res* 53: 141-149.
- Almeida, A. M., L. M. J. Schwalbach, L. A. Cardoso, y J. P. C. Greyling. 2007. Scrotal, testicular and semen characteristics of young boer bucks fed winter veld hay: The effect of nutritional supplementation. *Small Rumin Research* 73: 216-220.
- Álvarez, L., y L. A. Zarco. 2001. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet Mex* 32: 117-129.
- Ángel-García, O. et al. 2014. Seminal characteristics, libido and serum testosterone concentrations in mixed-breed goat bucks receiving testosterone during the non-breeding period. *J. Appl. Anim Res* 00: 1-5.
- Aránguiz, F. A. 2007. Características del eyaculado obtenido por electroeyaculación en corderos post-puberales nacidos de hembras expuestas a un exceso de testosterona durante la preñez., Universidad de Concepción, Chillán-Chile.
- Arroyo, J. 2011. Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Trop Subtrop Agroecosyst* 14: 829-845.
- Arroyo, J. 2011. Reproductive seasonality of sheep in Mexico. *Tropical and Subtrop Agroecosyst* 14: 829-845.
- Barkawi, A. H., E. H. Elsayed, G. Ashour, y E. Shehata. 2006. Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in zaraibi goats. *Small Rumin Res* 66: 209-213.
- Bedos, M. et al. 2010. Four hours of daily contact with sexually active males is sufficient to induce fertile ovulation in anestrus goats. *Horm Behav* 58: 473-477.

- Bustos-Obregón, E., y L. Torres-Días. 2012. Reproducción estacional en el macho. *Int J Morphol* 30: 1266-1279.
- Bustos-Obregón, E., y L. Torres-Días. 2012. Seasonal reproduction in the male. *Int J Morphol* 30: 1266-1279.
- Calderón, M. G. 2012. Suplementación de glutamato, inicio de pubertad y metabolitos sanguíneos en cabras: Proteína total y urea, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.
- Caraty, A., C. Decourt, C. Briant, y M. Beltramo. 2012. Kisspeptins and the reproductive axis: Potential applications to manage reproduction in farm animals. *Domestic Animal Endocrinology* 43: 95-102.
- Carrillo, E. Meza-Herrera, C.A. Olán-Sánchez, A. Robles-Trillo, P.A. Leyva, C. Luna-Orozco, et al., 2014 The "female effect" positively affects the appetitive and consummatory sexual behaviour and testosterone concentrations of Alpine male goats under subtropical conditions *Czech J. Anim Sci* 59: 337-343
- Carrillo, E., C. A. Meza-Herrera, y F. G. Véliz. 2010. Reproductive seasonality of young french-alpine goat bucks adapted to subtropical conditions in Mexico. *Rev Mex Cienc Pec* 1: 169-178.
- Carrillo, E., F. G. Véliz, J. A. Flores, y J. A. Delgadillo. 2007. A diminution in the male/female ratio does not reduce the ability of sexually active male goats to induce estrus activity in anovulatory female goats. *Tec Pec Méx* 45: 319-328.
- Colwell, C. S., M. Max, D. Hudson, y M. Menaker. 1991. Excitatory amino acid receptors may mediate the effects of light on the reproductive system of the golden hamster. *Biol Reprod* 44: 604-608.
- Chemineau, P., L. Bodin, M. Migaud, J. C. Thiery, y B. Malpoux. 2010. Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reprod Domest Anim* 45 Suppl 3: 42-49.
- Chemineau, P., A. Daveau, F. Maurice, y J. A. Delgadillo. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rum Res* 8: 299-312.
- Chemineau, P. et al. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: Intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reprod Domest Anim* 43 Suppl 2: 40-47.



- De la Vega, A. C., P. Morales, M. Zimmerman, y O. Wilde. 2006. Variación anual de la circunferencia escrotal en caprinos criollos serranos. *Arch Zootec* 55: 113-116.
- De Santiago-Miramontes, M. A., B. Malpoux, y J. Delgadillo. 2009. Body condition is associated with a shorter breeding season and reduced ovulation rate in subtropical goats. *Anim Reprod Scien* 114: 175-182.
- Delgadillo, J. A. et al. 2004. Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reprod Fertil Dev* 16: 471-478.
- Delgadillo, J. A. et al. 2003. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos con fotoperiodo y efecto macho. *Vet Méx* 34: 69-79.
- Duarte, G., J. A. Flores, B. Malpoux, y J. Delgadillo. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Dom Anim Endocrinol* 35: 362-370.
- Duarte, G., J. A. Flores, B. Malpoux, y 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.
- Franco, M. A. 1996. Efecto de naloxona sobre la espermatogénesis y el anabolismo de caprinos en crecimiento, Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín.
- Genes, A., y D. Wadith. 2009. Reproducción en ovejas y cabras, Córdoba.
- Gottsch, M. L., D. K. Clifton, y R. A. Steiner. 2006. Kisspeptin-gpr54 signaling in the neuroendocrine reproductive axis. *Mol Cell Endocrinol* 254-255: 91-96.
- Hafez, E. S. E. 1993. *Reproduction in farm animals*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Karsch, F. J. et al. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog Horm Res* 40: 185-232.
- Lincoln, G. A., C. E. Lincoln, y A. S. McNeilly. 1990. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of fsh, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *J Reprod Fertil* 88: 623-633.
- Maldonado, G. et al. 2011. Aminoácidos excitadores, machos caprinos circunferencia escrotal, fotoperiodos crecientes y el patrón de secreción de insulina. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas* 10: 91-97.

- Malgor, L. A., y M. E. Valsecia. SN/F. Hormonas sexuales masculinas Farmacología médica No. 1. p 211-219.
- Malpoux, B., C. Viguié, D. C. Skinner, J. C. Thiery, y P. Chemineau. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Res Bullet* 44: 431-438.
- Martin, G. B., R. Boukhliq, S. Tjondronegoro, M. J. Hötzel, y J. S. Fisher. 1992. The effects of nutrition on reproductive endocrinology. *Proceedings of the Nutrition Society of Australia* 17: 177-185.
- Martín, G.B. y Banchemo H.G. 1999 Investigación Australiana en Reproducción de Caprinos. Symposium on Goat Reproduction.
- Mellado, M., R. Valdéz, J. E. Garcia, R. López, y A. Rodriguez. 2006. Factors affecting the reproductive performance of goats under intensive conditions in a hot arid environment. *Small Rumin Res* 66: 110-118.
- Ottem, E., J. Godwin, S. Krishnan, y S. Petersen. 2004. Dual-phenotype-gaba/glutamate neurons in adult preoptic area sexual dimorphism and function. *J Neuroscience* 15: 8097-8115.
- Perez-Clariget, R., J. Bermudez, H. Andersson, y J. Burgueno. 2004. Influence of nutrition on testicular growth in corriedale rams during spring. *Reprod Nutr Dev* 38: 529-538.
- Restall, B. J. 1992. Seasonal variations in reproductive activity in australian goats. *Anim. Reprod. Sci* 27: 305-318.
- Rivera, G. M., G. A. Alanis, M. A. Chaves, S. B. Ferrero, y H. H. Morello. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in creole goats of argentina. *Small Rumin Res* 48: 109-117.
- Rosa, H. J. D., y M. J. Bryant. 2002. The "Ram effect" As a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small Rumin Res* 45: 1-16.
- Ruiz-Cervantes, J. G. 2004. Efecto de la aplicación de clorhidrato de nolaxona sobre la función testicular del macho cabrío. Tesis doctoral, Universidad de Colima, Colima.
- Ruiz-Cervantes, J. G. 2004. Efecto de la aplicación del clorhidrato de naloxona sobre la función testicular del macho cabrio. Doctorado, Universidad de Colima, Colima.

- Veliz, F. G., P. Poindron, B. Malpoux, y J. A. Delgadillo. 2006. Positive correlation between the body weight of anestrus goats and their response to the male effect with sexually active bucks. *Reprod Nutr Dev* 46: 657-661.
- Walkden-Brown, S. W., B. J. Restall, y W. A. Taylor. 1994. Testicular and epididymal sperm content in grazing cashmere bucks: Seasonal variation and prediction from measurements in vivo. *Reprod Fertil Dev* 6: 727-736.
- Zamiri, M. J., B. Khalili, M. Jafaroghli, y A. Farshad. 2010. Seasonal variation in seminal parameters testicular size, and plasma testosterone concentration in iranian moghani rams. *Small Rumin Res* 94: 132-136.
- Zarazaga, L. A., M. C. Gatica, I. Celi, J. L. Guzman, y B. Malpoux. 2011. Artificial long days in addition to exogenous melatonin and daily contact with bucks stimulate the ovarian and oestrous activity in mediterranean goat females. *Animal : an international journal of animal bioscience* 5: 1414-1419.
- Zarazaga, L. A., B. Malpoux, y P. Chemineau. 2003. Amplitude of the plasma melatonin nycthemeral rhythms is not associated with the dates of onset and offset of the seasonal ovulatory activity in the ile-de-france ewe. *Reprod Nutr Dev* 43: 167-177.