UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

PRESENCIA PERMANENTE DE HEMBRAS EN CELO E INICIO DE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA EN MACHOS CAPRINOS

por

Lourdes Rosalía MORALES GONZÁLEZ

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD TRABAJO EXPERIMENTAL

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

PÁGINA DE APROVACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa: _____
Dr. Danilo Fila

Segundo miembro (Tutor): _____
Dra. Lorena Lacuesta

Tercer miembro: _____
Dra. Daniela Crespi

Fecha: 27/11/2014

Autores:

_____
Lourdes Rosalía Morales González

DEDICATORIA

“Las personas más bellas con las que me he encontrado son aquellas que han conocido la derrota, conocido el sufrimiento, conocido la lucha, conocido la pérdida, y han encontrado su forma de salir de las profundidades. Estas personas tienen una apreciación, una sensibilidad y una comprensión de la vida que los llena de compasión, humildad y una profunda inquietud amorosa. La gente bella no surge de la nada”…

Elisabeth Kubler Ross

A mi madre, una guerrera y luchadora incansable,

por el apoyo y las enseñanzas…

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora la Dra. Lorena Lacuesta por su apoyo, orientación y disposición.

A mi co-tutora la Lic. Julia Giriboni por su apoyo en todo momento, por el tiempo, la paciencia, por su constante predisposición y dedicación, y sobre todo por el apoyo incondicional.

A mi co-tutor, Rodolfo Ungerfeld por las sugerencias, correcciones brindadas y tiempo dedicado.

A todos los integrantes del laboratorio en especial a Florencia Beracochea y Matías Villagrán, por hacerme sentir una más desde el momento que ingresé al laboratorio, gracias por todo lo que me enseñaron.

A Laura, una gran persona que conocí durante el trabajo experimental, gracias por la buena onda y las risas durante los muestreos.

A Milton por la ayuda y el cuidado de los animales.

A CIDEC por la financiación del proyecto.

A todas aquellas personas que forman parte de mi vida y han estado para acompañarme y alentarme a seguir adelante:

A mi madre, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional, que con su demostración de una madre ejemplar me ha enseñado a no rendirme ante nada y siempre perseverar… Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y de triunfo en la vida.

A mis hermanos, mis primos/as, tíos/as y abuela.

A mis amigas de toda la vida y los amigos que tuve la suerte de conocer, que siempre han estado a mi lado.

A mis compañeros del orientado Producción Animal 2013, que fue sin duda “el mejor año”…

A Facultad de Veterinaria que no solo me permitió formarme como profesional sino como persona, una mejor persona…

Finalmente, a todas aquellas personas que de una u otra forma han colocado un granito de arena para el logro de este trabajo, agradezco de forma sincera su valiosa colaboración.

A todos muchas gracias!

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN…….……..... 2

DEDICATORIA……..… 3

AGRADECIMIENTOS…….……..…..... 4

LISTA DE FIGURAS…….…….…… 7

RESUMEN…….. 8

SUMMARY…….. 9

1. INTRODUCCIÓN..... 10

1.1. Regulación neuroendócrina de la reproducción…….. 10

1.2. Estacionalidad reproductiva y fotoperiodo……... 11

1.3. Estacionalidad reproductiva en caprinos…….…… 12

1.4. Control de la estacionalidad reproductiva…… 13

1.4.1 Bioestimulación sexual...…….……..…… 14

1.4.1.1 Efecto macho…….…… 15

1.4.1.2 Efecto hembra……... 16

2. HIPÓTESIS…… 19

3. OBJETIVOS…… 19

3.1. Objetivo general……... 19

3.2. Objetivos particulares……... 19

4. MATERIALES Y MÉTODOS…… 20

4.1. Animales y su manejo…….…. 20

4.2. Muestreos realizados……...… 20

4.2.1 Peso corporal, circunferencia escrotal y ecografía testicular...… 20

4.2.2 Características seminales……..……..…. 21

4.2.3 Muestras sanguíneas y determinación de testosterona…..…... 21

4.3. Análisis estadístico……... 22

5. RESULTADOS……... 23

5.1. Peso corporal, circunferencia escrotal y testosterona……..... 23

5.2. Características seminales……... 25

5.3. Ecografías testiculares……..… 27

6. DISCUSIÓN…… 29

7. CONCLUSIONES……...… 31

8. BIBLIOGRAFÍA…….. 32

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Peso corporal (A), circunferencia escrotal (B) y concentración de testosterona (C) de chivos Gabón adultos en contacto permanente (visual, auditivo y químico) o no con hembras en celo……. 24

Figura 2. Motilidad masal (A), total de espermatozoides en el eyaculado (B), total de espermatozoides motiles en el eyaculado (C) y porcentaje de espermatozoides anormales (D) de chivos Gabón adultos en contacto permanente (visual, auditivo y químico) o no con hembras en celo……. 26

Figura 3. Intensidad de pixeles de ecografías testiculares de chivos Gabón adultos en contacto permanente (visual, auditivo y químico) o no con hembras en celo…….. 27

RESUMEN

Los estímulos sociales influyen sobre el proceso de reproducción de los individuos, tal es así que la presencia de hembras en celo estimula la actividad reproductiva de los machos. Los objetivos de la presente tesis fueron determinar si el contacto permanente visual, auditivo y químico con hembras en celo ocasiona que las características seminales, testiculares y la concentración de testosterona aumenten más tempranamente en la estación reproductiva de machos caprinos Gabón. El experimento se realizó con 16 chivos Gabón que se mantuvieron en dos grupos separados. Un grupo totalmente aislado de hembras (grupo GA, n=9) y el otro grupo (grupo GH, n=7) se encontraba en un corral adyacente a otro corral con cabras, no permitiendo el contacto físico entre ambos. Cada semana se indujo el celo de una de las hembras, de forma que hubiera al menos una de ellas en celo. Semanalmente se midió peso corporal, circunferencia escrotal y se obtuvieron muestras sanguíneas para determinar concentración de testosterona. Quincenalmente, se obtuvo semen por electroeyaculación y se evaluaron sus características; y se determinó la cantidad de fluido testicular (estimado por la intensidad de color de los pixeles de las ultrasonografías testiculares). El peso corporal así como la circunferencia escrotal variaron a lo largo del tiempo pero no hubo diferencias entre ambos grupos. La concentración de testosterona fue mayor y la intensidad del color de los pixeles fue menor en los chivos que permanecieron en contacto con hembras en celo. El semen de los chivos en contacto con hembras presentó una mayor motilidad masal y menor porcentaje de espermatozoides anormales. Se concluyó que si bien el contacto permanente con hembras en celo no adelantó la estación reproductiva de los machos, sí existió un estímulo por parte estas que determinó mayor concentración de testosterona, mayor cantidad de fluido testicular y mejores características seminales en los chivos en contacto con hembras en celo.

SUMMARY

Social cues influences reproductive function and the presence of estrous females stimulate male's reproductive activity. The objective of this thesis was to determinate if the permanent contact with estrous females (visual, auditory, and chemical) increases the testosterone concentration, and the testicular and seminal characteristics earlier in breeding season in Gabon bucks. The experiment was performed with 16 adult Gabon bucks, allocated to two separated groups. One group remained totally isolated from females (group GA, n=9), and the other was located separated with a fence line from a pen in which 3 does were housed (group GH, n=7). Estrus was hormonally induced each to one female, and maintained at least during 3 days. Body weight and scrotal circumference were measured weekly, and blood samples were collected to measure testosterone concentration. Semen was collected by electroejaculation and testicular fluid content (estimated by ultrasound pixel color) were measured every two weeks. Body weight and scrotal circumference varied over time but were not affected by the treatment. Testosterone concentration was greater and pixel color intensity was lower in GH than GA bucks. Semen from GH bucks had greater mass motility and less percentage of abnormal spermatozoa. It was concluded that although permanent contact with estrous females did not advance the buck's breeding season, it stimulated greater testosterone concentration, testicular fluid content and semen quality.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Regulación neuroendócrina de la reproducción

En los mamíferos la reproducción es consecuencia de mecanismos internos (regulación neuroendocrina) y de su interacción con factores externos, resultando de la suma de múltiples variables fisiológicas (regulación hormonal y nerviosa), psicológicas (estímulos sociales) y ambientales (Ungerfeld, 2007). Los factores ambientales como el fotoperiodo, la temperatura, y la disponibilidad de alimentos complementan el sistema de control de la reproducción. Además, los factores sociales, como la presencia o ausencia de otros individuos, ya sea del mismo sexo o el sexo opuesto actúan en conjunto con las señales ambientales y pueden inhibir o estimular la actividad reproductiva.

La reproducción es regulada a través del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal. En el hipotálamo se secreta la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) que es transportada mediante el sistema porta hipotálamo-hipofisario hacia la adenohipófisis. La liberación de GnRH es controlada por factores tanto internos como externos, entre los que destacan el metabolismo, la sensibilidad a los esteroides gonadales, la melatonina, la nutrición y el fotoperiodo (Thiery y col., 2002). Como respuesta a la GnRH, en la adenohipófisis se produce la liberación hacia la circulación general de las gonadotrofinas hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). Ambas actúan sobre las gónadas estimulando la secreción de esteroides sexuales (progesterona y estrógeno en las hembras y testosterona en los machos) y la gametogénesis (Couse y Korach, 1999). La FSH está implicada principalmente en el inicio de la gametogénesis y la regulación del crecimiento gonadal, mientras que LH regula la maduración gonadal y la ovulación/espermiación (Tilbrook y Clarke, 2001).

En los machos el testículo es el órgano encargado de la espermatogénesis y la producción de testosterona. Esta última juega un papel muy importante en la organización cerebral necesaria para la manifestación de la conducta sexual, y es la responsable de numerosos cambios ocurridos en las características morfológicas de

los machos. Además, la testosterona junto a otros andrógenos, es responsable del inicio, mantenimiento y restablecimiento de la espermatogénesis (O'Donnell y col., 2006), y se sugiere que pequeños cambios en la concentración de testosterona producen grandes cambios en la cantidad de semen que se produce (Sun y col., 1990).

1.2. Estacionalidad reproductiva y fotoperiodo

La estacionalidad reproductiva es un mecanismo de adaptación desarrollado por algunas especies como estrategia para minimizar el impacto negativo del ambiente (temperatura, humedad y disponibilidad de alimento) en la supervivencia de las crías (Lincoln y Short, 1980; Malpaux y col., 1996). Las especies estacionales adaptan su período de actividad reproductiva en función de la duración de su gestación, y por tanto la época de partos ocurre cuando los factores ambientales son propicios para ello (Bronson, 1985). En las zonas templadas las crías que nacen en la época más favorable del año tienen mayores posibilidades de supervivencia, lo que lleva a que en muchas especies el período de nacimientos ocurra desde el final del invierno al inicio del verano, cuando el clima es menos rígido y la disponibilidad de alimentos abundante (Ortavant y col., 1988).

El fotoperiodo es la variación estacional de la duración del periodo de iluminación diario y constituye la señal más importante en la determinación del patrón estacional reproductivo en rumiantes (Malpaux, 2006; Goldman, 1999). La glándula pineal juega un rol importante como sincronizadora de la actividad reproductiva con el fotoperiodo y es considerada como el nexo de unión entre el fotoperiodo y el eje hipotálamo-hipofiso-gonadal (Reiter, 1991). La glándula pineal es la responsable de transportar el mensaje fotoperiódico al sistema reproductivo a través de la secreción de melatonina. La melatonina sigue un patrón circadiano de secreción, con concentraciones elevadas durante la noche y basales durante el día (Bartness y Goldman, 1989).

1.3. Estacionalidad reproductiva en caprinos

Los caprinos son poliéstricos estacionales (Menchaca y Ungerfeld, 2010), siendo el fotoperiodo el principal factor regulador (Chemineau y Delgadillo, 1993). Las señales ambientales modulan tanto el inicio como el fin de la actividad reproductiva (Lincoln y Short, 1980). Las hembras presentan ciclos estrales en los días con menor cantidad de horas luz (días cortos) cuando aumenta la duración de la secreción de melatonina, y anestro en los días en los que se incrementan la cantidad de horas luz (días largos) (Squires, 2006). En nuestro país, la estación reproductiva de las cabras comprende algunos meses de verano y todo el otoño-invierno, permaneciendo las hembras en anestro estacional durante el final de la primavera e inicios del verano (Menchaca y Ungerfeld, 2010). En la raza Gabón, de acuerdo a datos obtenidos en base a fechas de partos durante 8 años (2005-2013) en el Parque Lecocq de Montevideo, se sugiere que existen dos periodos de actividad reproductiva de las hembras: se observan dos períodos de celo a lo largo del año, uno en abril y otro en diciembre (C. Leizagoyen, comunicación personal, agosto 2014).

Los machos caprinos también presentan variación estacional en la actividad reproductiva; los días cortos estimulan la actividad sexual mientras que días largos la inhiben (Hammoudi y col., 2010). Si bien la estacionalidad no es tan marcada como en las hembras, durante la época no reproductiva, hay una importante reducción de su libido (Ahmad y Noakes, 1995). Durante la estación no reproductiva los machos continúan produciendo semen, pero su calidad es inferior respecto al de la estación reproductiva: menor volumen, concentración espermática, motilidad de los espermatozoides y porcentaje de espermatozoides vivos y normales (Cupps y col., 1960; Brown y col., 1991; Canedo y col., 1995). Además, la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH, así como las concentraciones de FSH y testosterona son menores que durante la estación reproductiva (Lincoln y Peet, 1977; D'ochio, 1984). En cambio, durante la época reproductiva de los machos caprinos, aumenta la secreción de LH, y como consecuencia la concentración de testosterona (Canedo y col., 1997; Delgadillo y col., 2004; Todini y col., 2007), el tamaño y volumen de los testículos (Smith y col., 1985; Brown y col., 1991), y el semen es de buena calidad (Hafez y col., 1955; Brown y col., 1991). El aumento de la secreción de

gonadotrofinas y andrógenos está asociado con un mayor comportamiento de cortejo (Borg y col., 1992). En síntesis, la estacionalidad reproductiva lleva a que se registre un pico de nacimientos y lactación durante algunos periodos del año, pero gran escasez durante otros. Esto lleva a que exista baja oferta de productos (cabritos y leche) y los precios sean altos.

1.4. Control de la estacionalidad reproductiva

Diversos estudios en ovinos (Eldon, 1993; Malpaux y col., 1996; Egerszegi y col., 2014) y caprinos (Gómez-Brunet y col., 2008; Duarte y col., 2010; Delgadillo, 2011) han demostrado que se puede controlar la estacionalidad reproductiva a través de la manipulación artificial del fotoperiodo natural, o mediante estímulos sociales. En machos caprinos expuestos artificialmente a períodos alternados de días largos y días cortos, se logra una actividad reproductiva y calidad seminal constantes durante todo el año (ver revisión: Chemineau y col., 1992). Estos tratamientos inducen una intensa actividad sexual en los machos (incremento del peso testicular, de la frecuencia de pulsos de LH y concentraciones plasmáticas de testosterona) fuera de la estación reproductiva (Delgadillo y col., 2001). Por otra parte, mediante manipulación del fotoperiodo se puede inducir el ciclo estral en ovejas y cabras con una fertilidad aceptable y extender el período reproductivo más allá de la estación reproductiva, logrando así una oferta constante de productos a lo largo del año.

El tratamiento de días cortos puede ser sustituido por la colocación de implantes de melatonina exógena que mantienen constantes niveles altos de melatonina en sangre, mimetizando el efecto de los días cortos (O'Callaghan y col., 1991). En hembras caprinas, se demostró que la utilización de implantes de melatonina es capaz de estimular la actividad reproductiva (Zarazaga y col., 2008); y en ovejas, se ha demostrado que el uso de implantes de melatonina aumenta los índices de fertilidad, fecundidad y prolificidad de las hembras (Abecia y col., 2002). En carneros, el uso de implantes de melatonina mejora el crecimiento testicular, las características seminales y aumenta las concentraciones de testosterona sérica fuera de la estación reproductiva (Abecia y col., 2012). Entonces, el tratamiento

fotoperiódico y el uso de implantes de melatonina, tanto en machos como en hembras, podría ser un método eficaz para estimular la actividad reproductiva fuera de la estación reproductiva.

Las señales sociales también pueden ser utilizadas como herramientas para el control de la estacionalidad reproductiva, ya que juegan un rol importante en la estimulación de la actividad sexual. Tal es así que el momento de inicio y la duración de la estación reproductiva pueden ser modificados por la presencia de individuos del otro sexo. Además, la actividad reproductiva tanto de machos como hembras puede ser sincronizada mediante estímulos sociales. La introducción repentina de machos a un rebaño de hembras desencadena la ovulación (ver revisión: Martin y col., 1986; Walkden-Brown y col., 1993a) y sincronización de los celos (Restall, 1988). Por otra parte, la presencia de hembras estimula la secreción de LH, testosterona (Yarney y Sanford, 1983; Howland y col., 1985) y el comportamiento sexual en los machos (Price y col., 1991).

1.4.1.Bioestimulación sexual

El término "bioestimulación sexual" se refiere a la estimulación de la actividad reproductiva y del comportamiento sexual de un animal por parte de otro individuo de la misma especie, ya sea a través del contacto físico, visual o químico (Álvarez y Zarco, 2001; Rekwot y col., 2001). El ejemplo más claro de esto es el "efecto macho" en el ganado ovino (ver revisión: Martin y col., 1986) y caprino (ver revisión: Chemineau, 1987), en el que la ovulación es inducida por la introducción súbita de machos sexualmente activos a un rebaño de hembras en anestro estacional (Ott y col., 1980; Amoah y Bryant, 1984; Walkden-Brown y col., 1993a).

El “efecto hembra” es un mecanismo análogo al efecto macho (Walkden-Brown y col., 1994), en el que la presencia de hembras estimula la actividad reproductiva de los machos. Sin embargo, estos efectos han sido mucho menos estudiados, y es por ello que se toma al efecto macho como referencia para explicar los mecanismos implicados.

Por otra parte, se ha demostrado que existe un «efecto hembra-hembra» (Restall y col., 1995; Álvarez y col., 1999), mediante el cual la presencia de hembras

en estro induce la actividad ovárica en algunas de sus compañeras de rebaño que se encuentran en anestro. Se ha propuesto que los efectos macho y hembra son fenómenos complementarios que se refuerzan mutuamente y en consecuencia logran una reproducción sincronizada en la mayoría de las hembras de un rebaño (Walkden-Brown y col., 1993a; Zarco y col., 1995). Por lo tanto, la bioestimulación es una alternativa eficaz y de bajo costo para inducir la ovulación en ovejas y cabras adultas (Álvarez y Andrade, 2008) con la ventaja que no utiliza hormonas (Ungerfeld, 2007).

1.4.1.1. Efecto macho

El efecto macho fue reportado por primera vez en ovinos de la raza Merino por Underwood y col. (1944), y ha sido extensamente estudiado en caprinos (Walkden-Brown y col., 1993a, b, c; Chemineau y col., 2006; Delgadillo y col., 2009) y ovinos (Martin y col., 1986). La introducción repentina de machos en un rebaño de hembras en anestro previamente aisladas (sin contacto visual ni olfatorio) de machos induce un aumento en la secreción pulsátil de LH en cabras (Chemineau, 1987) y en ovejas (Martin y col., 1980), lo que resulta en la ovulación dentro de los siguientes 3-5 días (Martin y col., 1986; Chemineau, 1987), facilitando que muchas hembras puedan quedar preñadas en un período de tiempo reducido (Ungerfeld y Rubianes, 1999; Ungerfeld, 2007).

Por otra parte, el efecto macho adelanta la pubertad en las hembras (Oldham y Gray, 1984), y produce el reinicio de la actividad cíclica posparto en hembras adultas (Wright y col., 1989). En ovinos, además de la introducción repentina de los machos, se ha considerado que después de su introducción éstos deben permanecer de manera continua con las hembras por lo menos 5 días para que presenten actividad estral y ovulatoria (Martín y col., 1986). En la cabra, el aumento en la secreción pulsátil de LH culmina en la ovulación de más del 95% de las hembras dentro de los primeros tres días posteriores a la introducción del macho (Walkden Brown y col., 1999).

La respuesta al efecto macho depende de múltiples factores como son el estado nutricional y la condición corporal de las hembras y del macho (Flores y col.,

2000), la libido y la proporción macho-hembras en el rebaño (Chemineau, 1987). En cabras, la condición reproductiva de los machos parece ser el factor limitante que determina la respuesta de las hembras al efecto macho (Flores y col., 2000). Chemineau (1987) reportó que el incremento en el número de machos en contacto con hembras aumenta la tasa de ovulación al favorecer la mayor cantidad de interacciones que una hembra puede experimentar con los machos. En ovejas se ha reportado que no es necesario el contacto directo con el macho para que éstas respondan al efecto macho. El olor de la lana de un carnero intacto puede ser suficiente para obtener una respuesta ovulatoria en las ovejas (Knight, 1983), aunque muchas veces la respuesta es parcial (Shelton, 1980) y el número de hembras que ovulan es menor (Pearce y Oldhman, 1988). En cabras, las vocalizaciones del macho pueden ser suficientes para estimular el comportamiento estral y la secreción de LH de las hembras (Delgadillo y col., 2012). Sin embargo, cuando se permite contacto físico total entre cabras y chivos el estímulo es más efectivo (Chemineau, 1987).

Además de los efectos de la introducción aguda, la presencia crónica de los machos también influye sobre el ciclo reproductivo de las cabras, retrasando la finalización de la época reproductiva (Restall, 1992). En ovejas, la presencia crónica de carneros adelanta el inicio de la estación reproductiva y alarga su duración, es decir que las hembras ciclan hasta más tarde (Eldon, 1993; O´Callaghan y col., 1994).

1.4.1.2. Efecto hembra

El estímulo de hembras a machos ha sido más estudiado en ovinos que en caprinos. En ovinos se ha reportado que la presencia de las ovejas induce un incremento en las concentraciones de LH y testosterona en los carneros (González y col., 1988a, 1988b; Ungerfeld y Silva, 2004) durante las primeras 4 a 8 horas (Yarney y Sanford, 1983; González y col., 1991a). El aumento de pulsos de LH puede continuar durante al menos 4 días si las ovejas continúan en celo (Ungerfeld y Silva, 2004). La respuesta endócrina de los carneros expuestos a ovejas en celo,

es máxima fuera de la estación reproductiva y reducida durante la época reproductiva (González y col., 1988a, b).

En carneros, se observó que el contacto con hembras en celo determina un aumento en la concentración de testosterona y cantidad de fluido testicular (Ungerfeld y Fila, 2012). Ovejas que no están en celo también son capaces de inducir un aumento en las concentraciones de LH y testosterona en carneros, aunque en menor grado que las ovejas en celo (González y col., 1991a). Asimismo, el cambio de hembras luego de una exposición continua de machos a hembras en celo, representa una novedad y por ende mejora el estímulo y aumenta la cantidad de espermatozoides en el eyaculado (Prado y col., 2003). Por otra parte, carneros (Knight, 1985) o machos caprinos (Walkden-Brown y col., 1994) estimulados por hembras en celo previamente a ser usados como reproductores, presentan mayor intensidad de comportamiento sexual (Price y col., 1991), y logran un mayor porcentaje de hembras en celo y de preñez (Carrillo y col., 2011).

Además de los efectos de la presencia directa de hembras sobre la actividad reproductiva de los machos, se han reportado efectos de la estimulación indirecta de éstas. Por ejemplo, los carneros que fueron estimulados con mucus vaginal de ovejas en celo previo a la obtención de semen, aumentaron el volumen de semen en el eyaculado (Aguirre y col., 2011). En el mismo sentido, corderos expuestos a caretas conteniendo mucus vaginal de ovejas en celo presentaron mayor concentración de testosterona que aquellos expuestos a caretas con orina o agua destilada (Vázquez y Orihuela, 2001). Además, los carneros a los que se les colocaron caretas con lana, orina o secreción vaginal de ovejas en celo aumentaron su concentración sérica de LH (González y col., 1991b).

A diferencia de los estudios realizados sobre el efecto macho, existe escasa información sobre el efecto de la presencia crónica de hembras en la actividad reproductiva de los machos caprinos. Sin embargo, existen trabajos en ovinos que observaron que los corderos criados en contacto con hembras, presentan mayor volumen testicular y desempeñan una mejor performance sexual que aquellos criados en ausencia de hembras (Illius y col., 1976; Katz y col., 1988; Kridli y Said, 1999). Durante la estación reproductiva, los carneros que permanecen con hembras

poseen testículos más grandes, mayores concentraciones de testosterona, y despliegan mayor comportamiento sexual y agresividad que aquellos aislados de hembras (Illius y col., 1976). Además, la presencia continua de ovejas en celo fuera de la estación reproductiva aumenta la firmeza y elasticidad testicular en los carneros (Ungerfeld y Silva, 2004).

2. HIPÓTESIS

El contacto permanente (visual, auditivo y químico) con hembras en celo adelanta la estación reproductiva en chivos Gabón adultos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Determinar si el contacto permanente (visual, auditivo y químico) con hembras en celo adelanta la estación reproductiva de chivos Gabón adultos.

3.2. Objetivos particulares

Determinar si el contacto permanente (visual, auditivo y químico) con hembras en celo produce un aumento precoz y mayor de:

- La concentración sérica de testosterona
- La calidad seminal
- La circunferencia escrotal
- Cantidad de fluido testicular

en chivos Gabón adultos

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Animales y su manejo

El experimento se realizó desde octubre de 2012 a marzo de 2013. Se utilizaron 16 chivos Gabón de entre 2 y 5 años de edad (peso 30,1 ± 1,2 kg) que se mantuvieron en dos grupos separados, alojados en corrales similares (35º S). Los animales fueron alimentados de acuerdo a sus requerimientos nutricionales con fardos de alfalfa, y dispusieron de agua *ad libitum*.

Uno de los grupos se mantuvo totalmente aislado de hembras (GA, n=9), en las instalaciones de la Facultad de Veterinaria, Montevideo. El otro grupo (GH, n=7) permaneció en el Campo Experimental Nº 2 de la Facultad de Veterinaria, Libertad, San José. Este grupo estaba en un corral adyacente a otro en el que se encontraban 3 hembras adultas separado solamente por un tejido de alambre, de modo que lo único que no se permitió fue el contacto físico total, pero sí existió un contacto auditivo, químico y visual. Durante todo el experimento se indujo el celo de una de las hembras, de modo que hubiera al menos una hembra en celo por semana. Para ello se colocaron dispositivos intravaginales impregnados en acetato de medroxiprogesterona durante 5-6 días. Una vez retirados los dispositivos intravaginales se realizaron inyecciones de 0,1 mg/kg de benzoato de estradiol cada 12 horas durante 3 días.

4.2. Muestreos realizados

4.2.1. Peso corporal, circunferencia escrotal y ecografía testicular

Semanalmente se midió peso corporal con una balanza digital y circunferencia escrotal con un escrotímetro. Quincenalmente se realizaron ecografías testiculares con un equipo B-mode (Wed9618V, Welld, Guangdong, China) con un transductor lineal de 7,5 MHz, conectado a un dispositivo para

obtención de las imágenes en formato digital (Ungerfeld y Fila, 2011). Cada testículo fue escaneado separadamente en un plano longitudinal al mediastino, y luego se analizó la composición de píxeles de las imágenes (en una escala de grises de imagen que varía entre 0 y 255, donde el 0 estuvo representado por negro y el 255 representado por blanco).

4.2.2. Características seminales

El semen se extrajo quincenalmente utilizando un electroeyaculador (Fuhijira Industry, Tokyo, Japón; equipado con un vástago de 30 x 1,5 cm con 4 electrodos circulares de 1 cm de ancho), aplicando un estímulo cada 3 s (intensidad de 5 V) separados por períodos de tiempo de descanso de igual duración.

Se evaluó el semen fresco determinándose: volumen (mL), motilidad de masa (0-5) y motilidad individual (%). Las muestras fueron fijadas en formol citrato y refrigeradas para luego determinar la concentración espermática (espermatozoides/mL), cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (volumen X concentración espermática), y porcentaje de espermatozoides con morfología anormal.

4.2.3. Muestras sanguíneas y determinación de testosterona

Las extracciones de muestras sanguíneas se realizaron en forma semanal, mediante venopunción yugular. La sangre se colocó en un tubo seco y se centrifugó para la obtención del suero. Los sueros fueron colocados en tubos eppendorf debidamente rotulados y congelados a -20°C hasta el momento de realizar la medición de testosterona.

La concentración sérica de testosterona se determinó mediante radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial de fase sólida (TKTT5, Coat-A-Count, Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, CA, EEUU), que se realizó en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria (Montevideo, Uruguay).

4.3. Análisis estadístico

El peso corporal, la circunferencia escrotal, todas las características seminales, la cantidad de fluido testicular y la concentración de testosterona sérica fueron comparadas mediante ANOVA para mediciones repetidas, considerando como efectos principales el grupo, el tiempo, y la interacción entre grupo y tiempo. En todos los casos las variables son presentadas como media ± EE.

Los datos de peso corporal, circunferencia escrotal y testosterona se analizaron como el promedio quincenal de los datos obtenidos.

5. RESULTADOS

5.1 Peso corporal, circunferencia escrotal y testosterona

El peso corporal no fue diferente entre grupos y fue mayor al final (marzo) del experimento que al inicio (octubre) (P< 0,0001), mostrando variaciones en el resto de los meses (P< 0,0001). Se observó interacción entre grupo y tiempo (P< 0,0001): aunque para un mismo tiempo no se encontraron diferencias significativas entre grupos, sí hubieron diferencias en el cambio del peso corporal entre tiempos (Figura 1A).

La circunferencia escrotal no fue diferente entre grupos por lo cual los datos se presentan agrupados. Sí varió a lo largo del tiempo (P< 0,0001), aumentando a partir de noviembre para luego estabilizarse hasta el final del experimento (Figura 1B).

La concentración de testosterona no fue diferente entre grupos, aunque se observó una variación a lo largo del tiempo, manteniéndose concentraciones constantes hasta febrero donde aumentó hasta el final del periodo experimental (P< 0,0001). Hubo interacción entre grupo y tiempo (P= < 0,0001): la concentración de testosterona fue mayor en el grupo GH que en el grupo GA en la segunda quincena de los meses de octubre, noviembre y enero (P= 0,01; P= 0,04 y P= 0,05 respectivamente). El grupo GA presentó mayor concentración de testosterona que el grupo GH a finales de febrero (P< 0,0001) (Figura 1C). Cuando se analizaron solamente los datos desde octubre hasta la primer quincena de diciembre (fuera de estación reproductiva), el grupo GH presentó mayor concentración de testosterona que el grupo GA (P= 0,04).

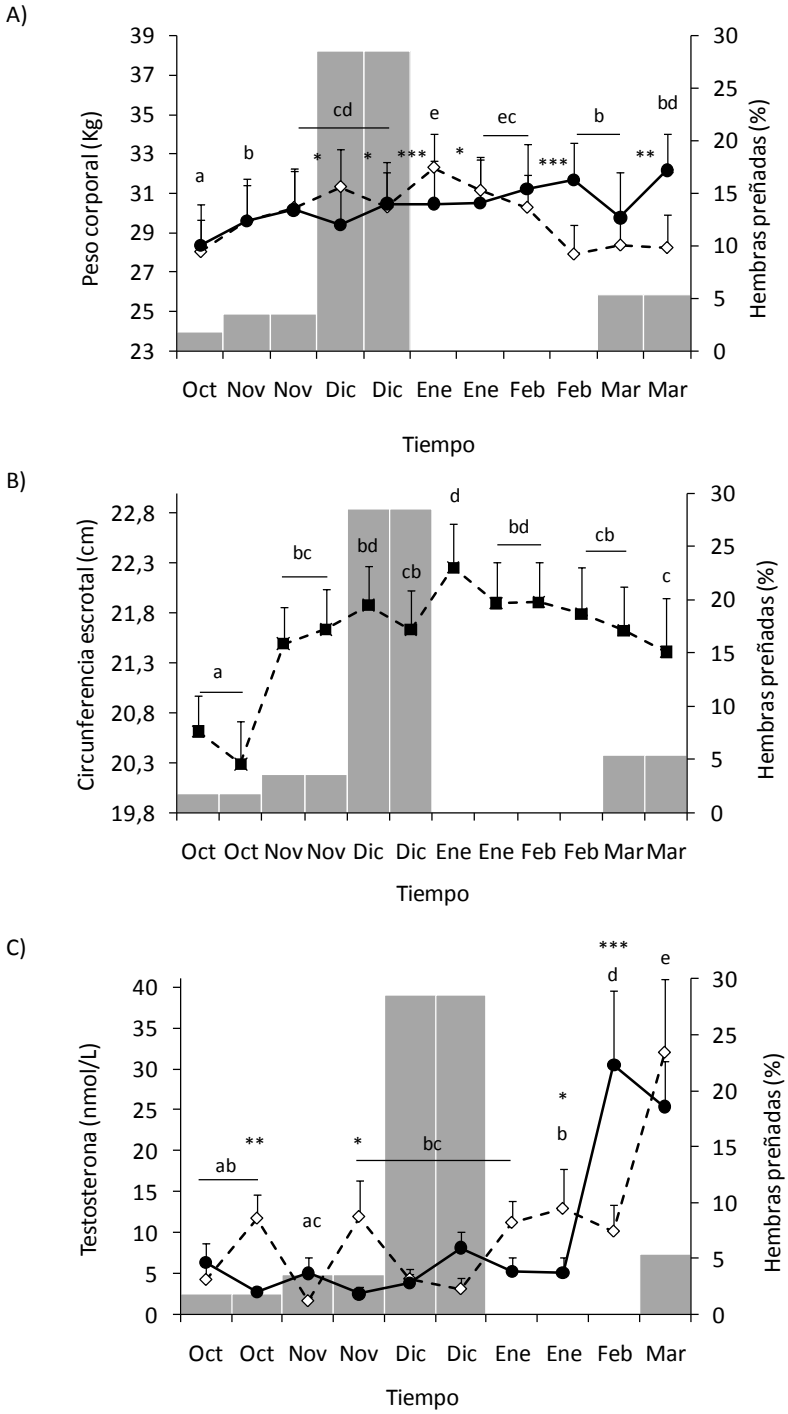

Figura 1. Peso corporal (A), circunferencia escrotal (B), concentración de testosterona (C) (gráfico de líneas) de chivos Gabón adultos aislados de hembras (n=9, –●–) o en contacto permanente con hembras en celo (n=7, –◊–) y porcentaje de hembras preñadas (gráfico de barras) desde octubre a marzo. El contacto entre machos y hembras sólo fue visual, auditivo y químico. Los datos de circunferencia

escrotal se presentan agrupados (n=16, –■–). Letras diferentes expresan diferencias significativas (P< 0,05) entre los tiempos para ambos grupos.

* P< 0,05; ** P< 0,01; *** P< 0,0001

5.2 Características seminales

La motilidad masal fue mayor en el grupo GH que en el GA (2,8 ± 0,2 vs 1,6 ± 0,1, respectivamente, P= 0,005) durante todo el periodo experimental. Esta no varió a lo largo del tiempo y no se observó interacción entre grupo y tiempo (Figura 2A).

El total de espermatozoides en el eyaculado no fue diferente entre grupos, varió a lo largo del tiempo (P= 0,001), y no se observó interacción entre grupo y tiempo. Los datos se presentan agrupados y los valores máximos de total de espermatozoides se observaron en la segunda quincena de enero (P< 0,0001) (Figura 2B).

El total de espermatozoides motiles en el eyaculado no fue afectado por el grupo, varió a lo largo del tiempo (P= 0,005), y no se observó interacción entre grupo y tiempo. Los datos se presentan agrupados y los valores máximos de total de espermatozoides motiles se obtuvieron en la segunda quincena de enero (P= 0,0001) (Figura 2C).

El porcentaje de espermatozoides anormales no fue diferente entre grupos, varió en función del tiempo (P< 0,0001), y se observó interacción entre grupo y tiempo (P= 0,0004). El grupo GA presentó mayor porcentaje de anormalidades que el grupo GH en la segunda quincena de noviembre y diciembre (P= 0,02, P= 0,0005, respectivamente) (Figura 2D).

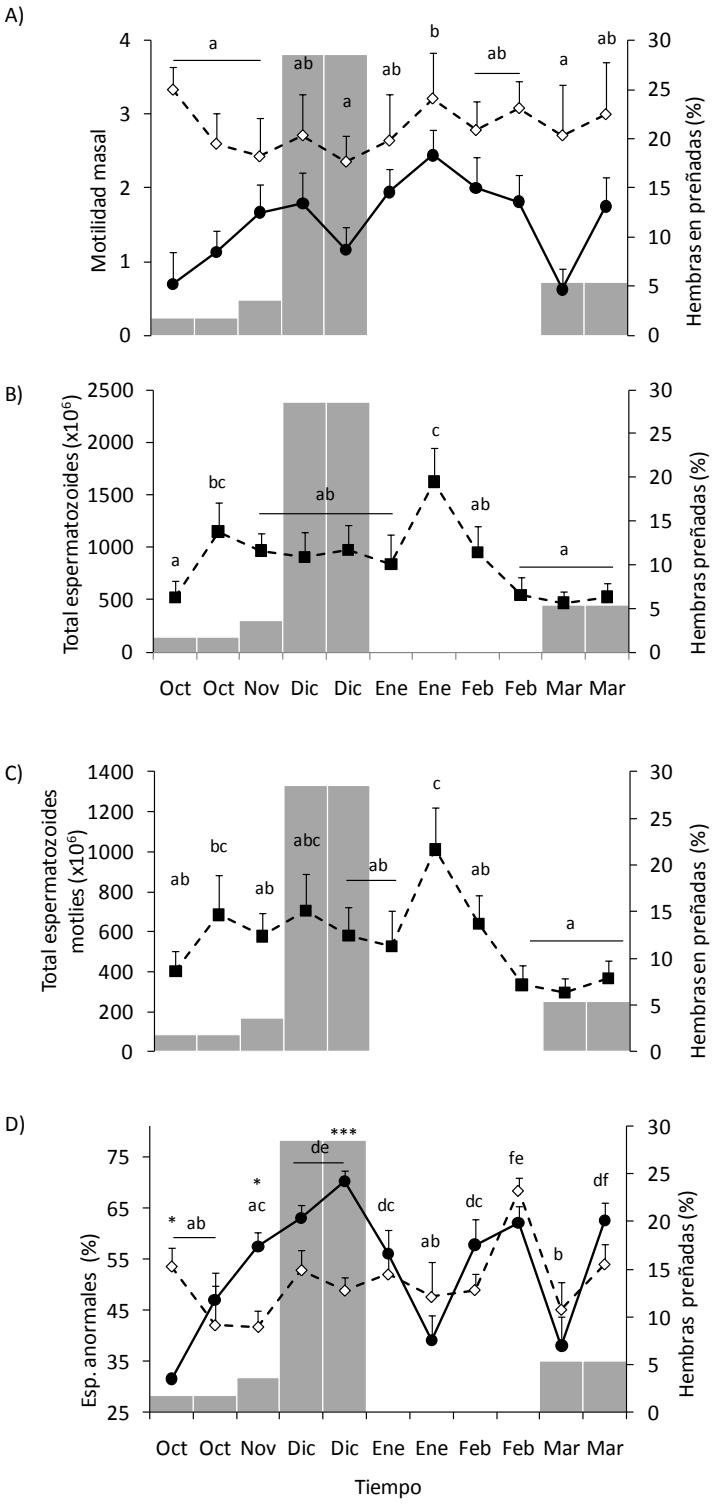

Figura 2. Gráfico de líneas: Motilidad masal (A), total de espermatozoides en el eyaculado (B), total de espermatozoides motiles en el eyaculado (C), porcentaje de espermatozoides anormales (D) (gráfico de líneas) en chivos Gabón adultos aislados de hembras (n=9, –●–) o en contacto permanente con hembras en celo

(n=7, –◊–) y porcentaje de hembras preñadas (gráfico de barras) desde octubre a marzo. El contacto entre machos y hembras sólo fue visual, auditivo y químico. Los datos de total de espermatozoides en el eyaculado y total de espermatozoides motiles se presentan agrupados (n=16, –■–). Letras diferentes expresan diferencias significativas (P< 0,05) entre los tiempos para ambos grupos.

* P< 0,05; ** P< 0,01; *** P< 0,0001

5.3 Ecografías testiculares

La intensidad de pixeles fue mayor en el grupo GA que en GH (151,9 ± 1,6 vs 94,8 ± 2,1, respectivamente, P< 0,0001), el grupo GA varió a lo largo del tiempo (P< 0,0001) mientras que GH se mantuvo estable. Hubo interacción entre grupo y tiempo (P< 0,0001): para todos los tiempo la intensidad de pixeles fue mayor en el grupo GA que en el grupo GH (Figura 3).

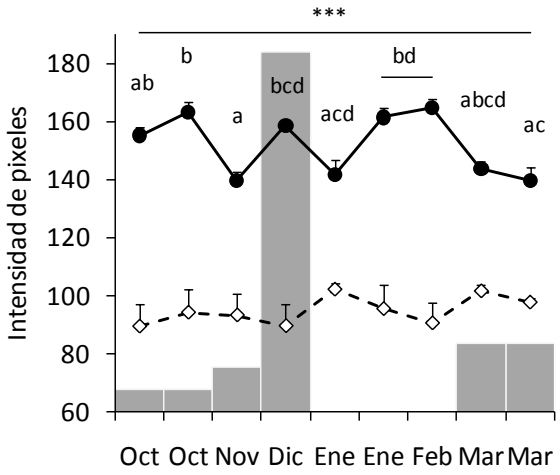

Figura 3. Intensidad de pixeles de ecografías testiculares (gráfico de líneas) de chivos Gabón adultos aislados de hembras (n=9, –●–) o en contacto permanente con hembras preñadas (n=7, –◊–) y porcentaje de hembras en celo (gráfico de barras) desde octubre a marzo. El contacto entre machos y hembras sólo fue visual, auditivo y químico. Letras diferentes expresan diferencias significativas (P< 0,05) entre los tiempos para ambos grupos.

* P< 0,05; ** P< 0,01; *** P< 0,0001

6. DISCUSIÓN

El contacto indirecto permanente con hembras en celo no adelantó la estación reproductiva de chivos Gabón pero sí estimuló la actividad reproductiva de los mismos, lo que se vio reflejado en muchas de las variables reproductivas evaluadas. Los machos que estuvieron en contacto con hembras aumentaron antes la concentración de testosterona, y tuvieron mayor concentración de testosterona fuera de la estación reproductiva que aquellos machos aislados de hembras. Durante todo el periodo experimental, se observó una mejor calidad seminal y menor ecogenicidad testicular en los machos en contacto con hembras.

Los chivos en contacto con hembras tuvieron mejor calidad seminal, lo que se vio reflejado por una mayor motilidad masal y un menor porcentaje de espermatozoides anormales en el eyaculado. La calidad seminal está asociada directamente con la concentración de testosterona, y pequeños cambios en la concentración de esta hormona implican grandes cambios en la producción espermática (Sun y col., 1990). La estimulación producida por la presencia de hembras indujo una mayor concentración de testosterona en el período previo a la estación reproductiva (octubre a noviembre), adelantándose así al momento en que ocurre la mayor proporción de celos en las hembras. Esta mayor concentración de testosterona fuera de la estación reproductiva podría explicar que la calidad del semen fue mayor en los chivos en contacto con hembras que en los aislados de éstas. Según Blottner y col. (1996), la mayor concentración de testosterona de los machos en contacto con hembras favorece un mayor desarrollo del parénquima testicular y de la espermatogénesis.

Aunque no fue posible medirlo, las diferencias observadas en la concentración de testosterona entre ambos grupos probablemente se vinculen con un aumento en la frecuencia y concentración de LH que inducen las hembras (González y col., 1988a; 1989). La mayor concentración de testosterona en los chivos en contacto con hembras, podría explicar la menor ecogenicidad del parénquima testicular (Ungerfeld y Fila, 2012), que refleja mayor contenido de fluido testicular (Ungerfeld y Fila, 2011). En síntesis, el contacto indirecto con hembras en

celo indujo un aumento de la concentración sérica de testosterona y mayor cantidad de fluido testicular, conjuntamente con una mejor calidad seminal.

En los meses de abril y diciembre es cuando se registra la mayor cantidad de celos en las hembras, lo que concuerda con el aumento previo observado en la circunferencia escrotal y la concentración de testosterona en los machos. Además, la calidad del semen mejoró poco después, siendo mayor en los machos que permanecieron en contacto con hembras. Este aumento previo en la concentración de testosterona por parte de los machos posibilitaría que estuvieran aptos para poder servir la mayor cantidad de hembras en celo.

Aunque en este trabajo no hubo un contacto físico de los machos con las hembras, si existió contacto indirecto a través de un tejido de alambre. De hecho, en varias ocasiones se observaron acercamientos a través del tejido, olfateos y vocalizaciones entre las hembras en celo y los machos. Esto coincide con lo reportado por Schanbacher y col. (1987) que sugirieron que la presencia visual, química o física de la hembra en celo es suficiente para estimular la actividad endocrina-hipofisario-testicular de los carneros. Además, aunque no se registraron, en este trabajo existieron vocalizaciones de parte de las hembras que podrían haber sido un estímulo más hacia los machos. En este sentido, se ha reportado que estímulos auditivos emitidos por machos sexualmente activos estimulan el comportamiento estral y la pulsatilidad de LH en cabras en anestro (Delgadillo y col., 2012). En síntesis, este conjunto de señales emitidas por las hembras causaron en los machos una respuesta en la actividad reproductiva.

Desde el punto de vista de la aplicación, estos resultados son interesantes porque demuestran que se podría inducir una mayor actividad reproductiva de los machos caprinos con un método de bajo costo y libre de hormonas: el efecto hembra (Ungerfeld, 2007). Asimismo, sería interesante identificar claramente los estímulos a los que los machos están respondiendo cuando se presenta el estímulo de hembras en celo y determinar la importancia de cada uno de ellos.

7. CONCLUSIONES

- El contacto permanente (visual, auditivo y químico) con hembras en celo no adelantó la estación reproductiva de chivos Gabón adultos.
- El estímulo permanente de hembras en celo produjo una mejor calidad seminal, y aunque no se observó mayor circunferencia escrotal, sí hubo un aumento de la cantidad de fluido testicular en chivos Gabón adultos.
- Los chivos en contacto con hembras en celo presentaron un aumento precoz y mayor en la concentración de testosterona.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍCAS

1) Abecia JA, Forcada F, Zuñiga O (2002). The effect of melatonin on the secretion of progesterone in sheep and on the development of ovine embryos in vitro. Vet Res Commun 26: 151-158.

2) Abecia JA, Forcada F, Gonzalez-Bulnes A (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. Anim Reprod Sci 130: 173-179.

3) Aguirre V, Orihuela A, Vázquez R (2011). Effects of vaginal mucus from ewes in estrus on the sexual drive and semen characteristics of hair rams (*Ovis aries*). J Vet Behav 6: 239-242.

4) Álvarez L, Andrade S (2008). El efecto macho reduce la edad al primer estro y ovulación en corderas Pelibuey Arch Zootec 57: 91-94.

5) Álvarez L, Ducoing AE, Zarco LA, Trujillo AM (1999). Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. Vet Méx 30: 25-31.

6) Álvarez L, Zarco LA (2001). Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. Vet Méx 32: 117-129.

7) Ahmad N, Noakes DE (1995). Seasonal variations in testis size, libido and plasma testosterone concentrations in British goats. Anim Reprod Sci 61(03): 553-559.

8) Amoah EA, Bryant MJ (1984). A note on the effect of contact with male goats on occurrence of puberty in female goat kids. Anim Prod 38: 141-144.

9) Bartness TM, Goldman BD (1989). Mammalian pineal melatonin: a clock for all seasons. Experimentia, 45: 939–945.

10) Blottner S, Hingst O, Meyer, HHD (1996). Seasonal spermatogenesis and testosterone production in roe deer (*Capreolus capreolus*). J Reprod Fert 108: 299-305.

11) Borg KE, Esbenshade KL, Johnson BH, Lunstra DD, Ford JJ (1992). Effects of sexual experience, season, and mating stimuli on endocrine concentrations in the adult ram. Horm Behav 26: 87-109.

12) Bronson FH (1985). Mammalian reproduction an ecological perspective. Biol Reprod 32: 1-26.

13) Brown JL, Wildt DE, Raath JR, de Vos V, Janssen DL, Citino SB, Howard JG, Bush M (1991). Seasonal variation in pituitary-gonadal function in free-ranging impala (*Aepyceros melampus*). J Reprod Fert 93: 497-505.

14) Canedo F, Delgadillo JA, Malpaux B (1997). Concentración plasmática anual de la testosterona y la libido en el macho cabrío de la Comarca Lagunera. XII Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Torreón Coahuila, p. 87-89.

15) Canedo G, Morán J, Malpaux B, Delgadillo JA (1995). Variaciones estacionales de la producción espermática en machos cabríos criollos de la comarca lagunera. Memorias de la X Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Zacatecas, Zacatecas, México, p. 30-33.

16) Carrillo E, Tejada LM, Meza-Herrera CA, Arellano-Rodríguez G, García JE, De Santiago-Miramontes MA, Mellado M, Véliz FG (2011). Response of sexual inactive French Alpine bucks to the stimulus of goats in oestrus. Livest Sci 141: 202-206.

17) Chemineau P (1987). Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrus cycles in anovulatory goats – a review. Livest Prod Sci 17: 135-147.

18) Chemineau P, Malpaux B, Delgadillo JA, Guerin Y, Ravault JP, Thimonier J, Pelletier J (1992). Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. Anim Reprod Sci 30: 157-184.

19) Chemineau P, Delgadillo JA (1993). Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. Rev Cient 3: 113-121.

20) Chemineau P, Pellicer-Rubio MT, Lassoued N, Khaldi G, Monniaux D (2006). Male induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. Reprod Nutr Dev 46: 417–29.

21) Couse JF, Korach KS (1999). Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? Endocr Rev 20: 358-417.

22) Cupps PT, McGowan B, Rahlman DF, Reddon AR, Weir WC (1960). Seasonal changes in the semen of rams. J Anim Sci 19: 208-213.

23) Delgadillo JA, Carillo E, Moran J, Duarte G, Chemineau P, Malpaux B (2001). Induction of sexual activity of male Creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. J Anim Sci 79: 2245–2252.

24) Delgadillo JA, Cortez ME, Duarte G, Chemineau P, Malpaux B (2004). Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. Reprod Nutr Dev 44: 183-193.

25) Delgadillo JA, Gelez H, Ungerfeld R, Hawken PAR, Martin GB (2009). The “male effect” in sheep and goats-Revisiting the dogmas. Behav Brain Res 200: 304-314.

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

27) Delgadillo JA, Vielma J, Hernandez H, Flores JA, Duarte G, Fernández IG, Keller M, Gelez H (2012). Male goat vocalizations stimulate the estrous behavior and LH secretion in anestrous goats that have been previously exposed to bucks. Horm Behav 62: 525–530.

28) D'Occhio MJ, Schanbacher BD, Kinder JE (1984). Profiles of luteinizing hormone, folliclestimulating hormone, testosterone and prolactin in rams of diverse breeds: Effects of contrasting short (8 L: 16 D) and long (16 L: 8 D) photoperiods. BioI Reprod 30: 1039-54.

29) Duarte G, Nava-Hernández MP, Malpaux B, Delgadillo JA (2010). Ovulatory activity of female goats adapted to the subtropics is responsive to photoperiod. Anim Reprod Sci 120: 65–70.

30) Egerszegi I, Sarlósa P, Rátkya J, Soltib L, Faiglb V, Kulcsárb M, Cseh S (2014). Effect of melatonin treatment on semen parameters and endocrine function in Black Racka rams out of the breeding season. Small Ruminant Res 116: 192– 198.

31) Eldon J (1993). Effect of exogenous melatonin and exposure to a ram on the time of onset and duration of the breeding season in Icelandic sheep. J Reprod Fert 99: 1-6.

32) Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P, Malpaux B, Delgadillo JA (2000). Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrous in female goats. Biol Reprod 62: 1409–1414.

33) Goldman BD (1999). The circadian timing system and reproduction in mammals. Steroids. 64: 679–685.

34) Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, del Campo A, Malpaux B, Chemineau P, Tortonese DJ, Gonzalez-Bulnes A, López-Sebastian A (2008). Endogenous circannual cycles of ovarian activity and changes in prolactin and melatonin secretion in wild and domestic female sheep maintained under a long-day photoperiod. Biol Reprod 78: 552–562.

35) González R, Piondron P, Signoret JP (1988a). Temporal variation in LH and testosterone responses of rams after the introduction of oestrous females during the breeding season. J Anim Sci 83: 201-208.

36) González R, Oregur P, Signoret JP (1988b). Luteinizing hormone, testosterone and cortisol responses in rams upon presentation of estrous females in the nonbreeding season. Theriogenology. 30: 1075-1086.

37) Gonzalez, R, Orgeur P, Poindron P, Signoret, JP (1989). Seasonal variation in LH and testosterone responses of rams following the introduction of oestrous ewes. Anim Reprod Sci 21: 249-259.

38) González R, Oregur P, Signoret JP (1991a). Female effect in sheep. I. The effects of sexual receptivity of females and the sexual experience of rams. Reprod Nutr Dev 31: 91-102.

39) González R, Levy F, Orgeur P, Poindron P, Signoret JP (1991b). Female effect in sheep. II. Role of volatile substances from the sexually receptive female; implication of the sense of smell. Reprod Nutr Dev 31: 103-109.

40) Hafez ESE, Badreldin AL, Darwich YH (1955). Seasonal variations in the semen characteristics of sheep in subtropics. J Agr Sci 45: 283.

41) Hammoudi SM, Aït-Amrane A, Belhamiti TB, Khiati B, Niar A, Guetarni D (2010). Seasonal variations of sexual activity of local bucks in western Algeria. African J Biotechnol 9: 362-368.

42) Howland BE, Sanford LM, Palmert WM (1985). Changes in serum levels of LH, FSH, prolactin, testosterone, and cortisol associated with season and mating in male pygmy goats. J Androl 6:89-96.

43) Illius AW, Haynes NB, Lamming GE (1976). Effects of ewe proximity on peripheral plasma testosterone levels and behaviour in the ram. J Reprod Fert 48: 25-32.

44) Katz LS, Price EO, Wallach SJR, Zenchak JJ (1988). Sexual performance of rams reared with or without females after weaning. J Anim Sci 66: 1166-1173.

45) Knight TW (1983). Ram induced stimulation of ovarian and oestrous activity in anoestrous ewes - a review. Proc New Zeal Soc Anim Prod 43: 7-11.

46) Knight TW (1985). Are rams necessary for the stimulation of anoestrus ewes with oestrus ewes. Proc New Zeal Soc Anim Prod 45: 49-50.

47) Kridli RT, Said SI (1999). Libido testing and effect of exposing sexually naive Awassi rams to oestrous ewes on sexual performance. Small Ruminal Res 32: 149-152.

48) Lincoln GA, Peet MJ (1977). Photoperiodic control of gonadotrophin secretion in the ram: a detailed study of the temporal changes in plasma levels of FSH, LH and Testosterone following an abrupt switch from long to short days. Endocrinology. 74: 355-367.

49) Lincoln GA, Short RV (1980). Seasonal breeding: nature’s contraceptive. Recent Prog Horm Res 36: 1-43.

50) Malpaux B (2006). Seasonal regulation of reproduction in mammals. En: Neill JD (ed.), Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 3a ed. Amsterdam, Elsevier. p. 2231–2281.

51) Malpaux B, Vigui C, Skinner DC, Thiéry JC, Pelletier J, Chemineau J (1996). Seasonal breeding in sheep: mechanism of action of melatonin. Anim Reprod Sci 42: 109- 117.

52) Martin GB, Oldham CM, Cognie Y, Pearce D (1986). The physiological response of anovulatory ewes to the introduction of rams -a review. Livest Prod Sci 15: 219-247.

53) Martin GB, Oldham CM, Lyndsay DR (1980). Increased plasma LH levels in seasonally anovular Merino ewes following the introduction of rams. Anim Reprod Sci 3: 125-132.

54) Menchaca A, Ungerfeld R (2010). Fisiología reproductiva de la hembra ovina y caprina. La revista del borrego. 66.

55) O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, McLachlan RI (2006). Endocrine regulation of spermatogenesis. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. 3a ed. Neill JD (Ed). Elsevier Academic Press. Missouri, EEUU. p. 1017-1069.

56) O'Callaghan D, Karsch FJ, Boland MP, Roche JF (1991). What photoperiodic signal is provided by a continuous-release melatonin implant?. Biol Reprod 45: 927-933.

57) O'Callaghan D, Donovan A, Sunderland SJ, Boland MP, Roche JF (1994). Effect of the presence of male and female flock mates on reproductive activity in ewes. J Reprod Fert 100: 497-503.

58) Oldham CM, Gray SJ (1984). The 'ram effect' will advance puberty in 9-10 month old Merino ewes independent of their season of birth. Proc Aust Soc Anim Prod 15: 727.

59) Ortavant R, Bocquier F, Pelletier J, Ravault JP, Thimonier J, Volland-Nail P (1988). Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. J BioI Sci 41: 69-85.

60) Ott RS, Nelson DR, Hixon JE (1980). Effect of presence of the male on initiation of estrous cycle activity of goats. Theriogenology. 13: 183-190.

61) Pearce GP, Oldham CM (1988). "Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe." J Reprod Fert 84 (1): 333-339.

62) Prado V, Orihuela A, Lozano S, Pérez-León I (2003). Effect on ejaculatory performance and semen parameters of sexually-satiated male goats (*Capra hircus*) after changing the stimulus female. Theriogenology. 60: 261–267.

63) Price OE, Estep DQ, Wallach SJR, Dally MR (1991). Sexual performance of rams as determined by maturation and sexual experience. J Anim Sci 69: 1047-1052.

64) Reiter RJ (1991). Pineal gland interface between the photoperiodic environment and the endocrine system. Trends Endocrinol Metab 2: 13-19.

65) Rekwot PI, Ogwub D, Oyedipe EO, Sekoni VO (2001). The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. Anim Reprod Sci 65: 157–170.

66) Restall BJ (1992). Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. Anim Reprod Sci 27: 305—318.

67) Restall BJ, Restall H, Walkden-Brown SW (1995). The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. Anim Reprod Sci 40: 299-303.

68) Restall BJ (1988). Artificial insemination of Australian goats stimulated by the "buck effect". Proc Aust Soc Anim Prod 17: 302-305.

69) Schanbacher BD, Orgeur P, Pelletier J, Signoret JP (1987). Behavioural and hormonal responses of sexually-experienced Ile-de-France rams to oestrous females. Anim Reprod Sci 14: 293-300.

70) Smith AJ, Mondain-Monval M, Møller OM, Scholler R, Hansson V (1985). Seasonal variations of LH, prolactin, androstenedione, testosterone and testicular FSH binding in the male blue fox (*Alopex lagopus*). J Reprod Fert 74: 449-458.

71) Squires EJ (2006). Manipulación Endócrina de la Reproducción. En: Endocrinología Animal Aplicada. Zaragoza. Acribia. p. 169-179.

72) Shelton M (1980). Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of estrus and ovulation. Int. Goat Sheep Res 1: 156-162.

73) Sun YT, Wreford NG, Robertson DM, Kretser DMD (1990). Quantitative Cytological Studies of Spermatogenesis in Intact and Hypophysectomized Rats: Identification of Androgen-Dependent Stages*.Endocrinology. 127: 1215-1223.

74) Thiery JC, Chemineau P, Hernandez X, Migaud M, Malpaux B (2002). Neuroendocrine interactions and seasonality. Domest Anim Endocrinol 23: 87-100.

75) Tilbrook AJ, Clarke IJ (2001). Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotropin-releasing hormone in males. Biol Reprod 64: 735-742.

76) Todini L, Malfatti A, Terzano GM, Borghese A, Pizzillo M, Debenedetti A (2007). Seasonality of plasma testosterone in males of four mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. Theriogenology. 67: 627–631.

77) Underwood EJ, Shier FL, Davenport N (1944). Studies in sheep husbandry in Western Australia. V. The breeding season of Merino crossbred and British breed ewes in the agricultural districts. J Dep Agric West Austr 11: 135-143.

78) Ungerfeld R (2007). Social factors affecting ovarian function. En: González-Bulnes A (Ed.), Novel concepts in ovarian endocrinology. India, Kerala, p. 169-221.

79) Ungerfeld R, Fila D (2011). Testicular fluid content evaluated by ultrasound image computer assisted analysis increases with small-dose multiple GnRH injections in rams. Reprod Dom Anim 46: 720–723.

80) Ungerfeld R, Fila D (2012). Testicular fluid content and scrotal surface temperature increase with rams sexual activity. Reprod Dom Anim 47: e56-e58.

81) Ungerfeld R, Rubianes E (1999). Estrus response to the ram effect in Corriedale ewes primed with medroxyprogesterone during the breeding season. Small Ruminal Res 32: 89-91.

82) Ungerfeld R, Silva L (2004). Ewe effect: endocrine and testicular changes in experienced adult and inexperienced young Corriedale rams used for the ram effect. Anim Reprod Sci 80: 251–259.

83) Vázquez R, Orihuela A (2001). Effect of vaginal mucus and urine from ewes in estrus on plasma testosterone levels and weight gain of feedlot rams. Small Ruminant Res 42: 173-177.

84) Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati (1993a). The male effect in the Australian Cashmere goat. 1. Ovarian and behavioural response of seasonally anovulatory does following the introduction of bucks. Anim Reprod Sci 32: 41-53.

85) Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati (1993b). The male effect in the Australian Cashmere goat. 2. Role of olfactory cues from the male. Anim Reprod Sci 32: 55-67.

86) Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati (1993c). The male effect in the Australian Cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. Anim Reprod Sci 32: 69-84.

87) Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ (1994). The 'female effect' in Australian cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrous does. J Reprod Fert 100: 521-531.

88) Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ (1999). Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. J Reprod Fert-Supl 243-257.

89) Wright PJ, Geytenbeeck PE, Clarke IJ, Hoskinson RM (1989). The efficacy of ram introduction, GnRH administration, and inmunisation against androstenedione and oestrone for the induction of oestrus and ovulation in anoestrus post-partum ewes. Anim Reprod Sci 21:237-247.

90) Yarney TA, Sanford LM (1983). The reproductive-endocrine response of adult rams to sexual encounters with estrual ewes is season dependent. Horm Behav 17: 169-182.

91) Zarazaga LA, Gatica MC, Guzmán JL (2008). Reactivation of sexual activity in Mediterranean goat females is not modified by previous treatment with artificial long days and exogenous melatonin used during the seasonal anoestrus. Reprod Domest Anim 43 (Suppl. 4), 59.

92) Zarco LA, Rodriguez EF, Angulo MRB, Valencia J (1995). Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. Anim Reprod Sci 39: 251-258.