



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

“Estímulo con hembras en celo y estacionalidad reproductiva de chivos adultos de Gabón”

Julia Giriboni

TESIS DE MAESTRÍA

Director de Tesis: Rodolfo Ungerfeld

PEDECIBA - BIOLOGÍA

Opción Ciencias Fisiológicas

Universidad de la República

2014

Montevideo, Uruguay

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE TESIS

Daniella Agrati, PhD

Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Montevideo, Uruguay

Presidente

María José Hötzel, PhD

Departamento de Zootecnia, Centro de Ciencias Agrarias, Universidad Federal de Santa
Catarina

Santa Catarina, Brasil

Alejandro Bielli, PhD

Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Universidad de la
República

Montevideo, Uruguay

AGRADECIMIENTOS

A mi director de Tesis *Unge*, por guiarme con paciencia en este camino que tanto disfruto. Pero, sobre todo, por darme la libertad de equivocarme, volver a hacer y aprender.

A la Facultad de Veterinaria, que he aprendido a querer y a sentir como propia. Porque me ha dado la oportunidad de formarme como investigadora y como docente.

A mis compañeros de todos los días Lorena Lacuesta, Florencia Beracochea, Matías Villagrán y Juan Pablo Damián. Porque todos ellos aportaron su granito de arena en este trabajo y fueron fundamentales. Porque además de trabajar juntos, nos divertimos juntos.

A Lorena Lacuesta, que me ha apoyado desde que comencé este camino y ha sido un ejemplo a seguir. A Laura Morena y Rosalía Morales por participar en este trabajo con tanta responsabilidad y entusiasmo. A las tres, gracias por su ayuda y sus consejos que hicieron este trabajo más rico y me dieron el aliento para continuar. Gracias por la amistad y las alegrías.

A Federico de León y Damián Sosa por el cuidado de los animales. Muy especialmente a Milton Pintos y Fernando Fumagalli, por su dedicación para el bienestar de los animales. También a Ignacio Almitrán, Bruno Espinosa y Rossana Martínez que participaron del trabajo de campo.

A los zoológicos de Villa Dolores y de Durazno, que donaron los animales para realizar el trabajo. A la ANII por otorgarme una beca y a la CIDEDEC por financiar el proyecto.

A mis padres Sergio y Alicia, que desde siempre fomentaron en mí la curiosidad, las ganas de saber. Porque me dieron todas las herramientas y todo su apoyo. A mis hermanos Juan y Sara, porque me acompañan y me dan motivos para seguir adelante.

A Maxi, mi compañero incondicional. Gracias por compartir tu vida con la mía. Gracias por no soltarme la mano.

A mis amigas incansables, porque han sabido comprender mis ausencias y porque siempre están, para festejar en las buenas y acompañar en las malas.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Integración del tribunal de Tesis	1
Agradecimientos	2
Índice de contenidos	3
Tabla de abreviaturas	5
Lista de Figuras	6
Resumen	7
Summary	9
1. Introducción	11
1.1. Control endócrino de la reproducción en el macho	11
1.2. Estacionalidad reproductiva	13
1.2.1. Factores intrínsecos y extrínsecos que inciden sobre la estacionalidad reproductiva	15
1.2.1.1. El fotoperiodo y la melatonina como reguladores de la estacionalidad reproductiva	16
1.3. Estacionalidad reproductiva en los pequeños rumiantes	18
1.3.1. Estacionalidad reproductiva en las cabras	20
1.3.2. Factores que afectan la estacionalidad reproductiva en las cabras: nutrición	23
1.4. Influencias sociales en la regulación de la actividad reproductiva	25
1.4.1. Efecto macho	25
1.4.1.1. Respuesta endócrina de las hembras al efecto macho	26
1.4.1.2. Determinantes de la respuesta de las hembras al efecto macho	27
1.4.1.3. Señales que intervienen en el efecto macho	27
1.4.2. Efecto hembra	28
1.4.2.1. Efectos agudos del contacto con hembras sobre la actividad reproductiva de los machos	29
1.4.2.2. Efectos crónicos del contacto con hembras sobre la actividad reproductiva de los machos	30
2. Hipótesis	31
3. Objetivos	32
4. Estrategia experimental	33
5. Materiales y métodos	34

5.1. Animales y su manejo	34
5.2. Variables de respuesta	35
5.2.1. Peso corporal y características testiculares	36
5.2.2. Obtención de muestras sanguíneas y determinación hormonal de testosterona	36
5.2.3. Extracción de semen y características seminales	37
5.3. Análisis estadístico	38
6. Resultados	39
6.1. Peso corporal y características testiculares	39
6.2. Concentración de testosterona	42
6.3. Características seminales	44
7. Discusión	48
7.1. Patrón reproductivo estacional de los chivos de Gabón	48
7.2. Efectos crónicos de la estimulación de hembras en celo sobre la actividad reproductiva de los machos	49
8. Conclusiones	55
9. Bibliografía	56

TABLA DE ABREVIATURAS

CE	Circunferencia escrotal
FSH	Hormona folículo estimulante
GA	Grupo de chivos adultos de Gabón aislados de hembras
GH	Grupo de chivos adultos de Gabón estimulados continuamente por hembras en celo
GnRH	Hormona liberadora de gonadotrofinas
LH	Hormona luteinizante
MI	Motilidad espermática individual
MM	Motilidad espermática de masa
NSQ	Núcleo supra-quiasmático
Spz	Espermatozoides

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Patrón anual de partos y de celos fértiles estimados en la población de cabras de Gabón del Parque Lecocq, Montevideo, Uruguay (35° S)	23
Figura 2. Cantidad de horas luz por día a lo largo de un año en Uruguay, calculadas a partir de la hora de salida y puesta del sol	34
Figura 3. Chivos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo	35
Figura 4. Ultrasonografías testiculares de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo y de chivos aislados de éstas	40
Figura 5. Cantidad de horas luz por día, peso corporal, circunferencia escrotal e intensidad del color de pixeles de ultrasonografías testiculares de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo y de chivos aislados de éstas	41
Figura 6. Cantidad de horas luz por día, concentración de testosterona a lo largo del año y de agosto a enero de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo y de chivos aislados de éstas	43
Figura 7. Cantidad de horas luz por día, concentración espermática, total de espermatozoides en el eyaculado y espermatozoides anormales de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo y de chivos aislados de éstas	45
Figura 8. Cantidad de horas luz por día, motilidad espermática de masa y total de espermatozoides motiles en el eyaculado de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo y de chivos aislados de éstas	47

RESUMEN

El fotoperiodo y la presencia o ausencia de otros individuos, ya sea del mismo sexo o del sexo opuesto son señales claves en el proceso de reproducción de los mamíferos. Considerando lo anterior y teniendo en cuenta que el patrón reproductivo estacional de los chivos de Gabón aún no ha sido estudiado en nuestras condiciones, los objetivos generales de esta Tesis fueron *i)* describir el patrón reproductivo estacional de chivos adultos de Gabón en Uruguay (35° S) y *ii)* determinar si el estímulo con señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo adelanta el patrón reproductivo estacional de los chivos adultos de Gabón, si induce aumentos en la concentración de testosterona, la circunferencia escrotal (CE) y la cantidad de fluido testicular (estimado a partir de la ecogenicidad testicular), y si mejora la calidad del semen de los chivos. Se utilizaron dos grupos de chivos adultos de Gabón: uno de los grupos se mantuvo totalmente aislado de hembras (grupo aislado, GA, n = 9) y el otro fue estimulado por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo (grupo con hembras, GH, n = 7), aunque se minimizó el contacto físico (las hembras permanecieron separadas de los machos por un tejido de alambre). Para determinar si el estímulo con señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo mejora algunos parámetros reproductivos se analizó la concentración de testosterona, la CE, la cantidad de fluido testicular, y algunos indicadores de calidad seminal. Todas las variables se compararon mediante ANOVA para medidas repetidas. Todas las variables consideradas variaron de acuerdo a los meses del año ($P < 0,0001$ para todas). El peso corporal y la CE no fueron diferentes entre grupos. Globalmente, la concentración de testosterona fue mayor en los chivos GA que en los GH ($P = 0,04$), pero en varios momentos esta relación se invirtió y fue mayor en los chivos GH que en los GA ($P = 0,004$). En general, la calidad seminal fue mejor en los chivos GH que en los GA: los chivos GH presentaron mayor concentración espermática ($P = 0,05$) y motilidad espermática de masa ($P = 0,01$), tendieron a tener una mayor cantidad total de espermatozoides motiles progresivos en el eyaculado ($P = 0,1$) y en varios momentos presentaron menor porcentaje de espermatozoides anormales ($P = 0,0001$). La cantidad de fluido testicular fue mayor en los chivos GH que en los GA ($P < 0,0001$). A partir de los resultados obtenidos se concluyó que *i)* los chivos adultos de Gabón presentaron un patrón reproductivo estacional leve o poco marcado, con la mayor actividad reproductiva desde el mes de noviembre hasta el mes de abril (desde el

final de la primavera hasta mediados de otoño); tanto en los chivos estimulados continuamente por hembras en celo como en los aislados de éstas; *ii*) los chivos de Gabón son receptivos al estímulo de las hembras en celo pese a no estar en contacto directo con las mismas y a ser estimulados durante un período prolongado; *iii*) el estímulo con señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo en forma fue suficiente para generar efectos positivos sobre las características seminales evaluadas y la cantidad de fluido testicular en los chivos adultos de Gabón; y *iv*) los chivos adultos de Gabón estimulados continuamente por hembras en celo presentaron mejor calidad seminal y mayor cantidad de fluido testicular a pesar de presentar menor concentración de testosterona que los chivos aislados de hembras.

SUMMARY

Photoperiod and the presence or absence of other individuals, from the same or the other gender, are key signs in the process of reproduction in mammals. With this in mind, and considering that the seasonal reproductive pattern of Gabon bucks has not been studied in our conditions, the objectives of this thesis were to *i)* describe the seasonal reproductive pattern of adult Gabon bucks in Uruguay (35° S), *ii)* determine if chemical, auditory and visual contact with estrous females advances the onset of the breeding season of Gabon bucks, and/or induces increases in testosterone concentration, scrotal circumference (SC), testicular fluid content, and if improves bucks' seminal quality. Two groups of adult Gabon bucks were housed: totally isolated from females (isolated group, GA, n = 9), or stimulated by the contact with estrous females (female group, GH, n = 7), although physical contact was minimized and females remained separated from males by a wire fence. To determine if stimulation with chemical, auditory and visual cues of estrous females improves some reproductive parameters testosterone concentration, SC, the amount of testicular fluid, and some indicators of semen quality were compared with an ANOVA for repeated measures. All the considered variables varied according to months ($P < 0.0001$ for all). Body weight and SC were not different between groups. Testosterone concentration was greater in GA than GH bucks ($P = 0.04$), but in several points it was greater in GH than GA bucks ($P = 0.004$). In general, semen quality from GH was better than that of GA bucks: GH bucks had greater sperm concentration ($P = 0.05$) and sperm motility mass ($P = 0.01$), total motile spermatozooids in the ejaculate tended to be greater ($P = 0.1$) and in several moments had lower percentage of abnormal spermatozooids ($P = 0.0001$). Fluid content was greater in GH than GA bucks ($P < 0.0001$). It was concluded that: *i)* adult Gabon bucks had a slight seasonal reproductive pattern, with their greater reproductive activity from November to April (from late spring to mid-autumn); similar in bucks in contact with estrous females and in bucks isolated from them; *ii)* adult Gabon bucks are receptive to the estrous female stimulus, despite not being in direct contact with them and can be stimulated during a prolonged period; *iii)* partial contact (chemical, auditory and visual) of adult Gabon bucks with estrous females was enough to elicit positive effects on seminal characteristics and testicular fluid content; and *iv)* adult Gabon bucks continuously stimulated by estrous females had better seminal quality and greater

testicular fluid content despite having lower testosterone concentration than bucks isolated from females.

1. INTRODUCCIÓN

La reproducción en los mamíferos es regulada constantemente en forma muy precisa, regulación que depende tanto de factores internos (neuro-endócrinos) como ambientales, así como de la interacción entre éstos (Bronson, 1989). Las señales ambientales más importantes en este proceso de regulación son aquellas provenientes del ambiente físico y del ambiente social (ver revisiones: Malpaux, 2001; Ungerfeld, 2007). En los rumiantes, la disponibilidad de alimentos, el fotoperiodo y la temperatura ambiental (ver revisión: Delgado et al., 2004) son las principales señales del ambiente físico que regulan la actividad reproductiva, aunque en algunas especies también deben considerarse la humedad ambiental y la pluviosidad (Bronson, 1985). Las señales socio-sexuales, como la presencia o ausencia de otros individuos, tanto del mismo sexo como del sexo opuesto, interactúan con las demás señales en la regulación de la reproducción (ver revisión: Ungerfeld, 2007).

1.1. Control endócrino de la reproducción en el macho

El proceso de reproducción está regulado fundamentalmente por la acción del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. A nivel del hipotálamo se produce y secreta la hormona liberadora de gonadotrofinas (*Gonadotropin-Releasing Hormone*, GnRH), un neuropéptido que actúa sobre la hipófisis. La GnRH se secreta en forma pulsátil, y a través del sistema porta hipofisario llega a la adenohipófisis, donde se une a sus receptores en las células gonadotropas, y desencadena la liberación, también pulsátil, de la hormona luteinizante (*Luteinizing Hormone*, LH) (ver revisión: Tilbrook y Clarke, 2001). La LH llega a través del torrente sanguíneo a las células intersticiales del testículo, las células de Leydig, donde estimulan la esteroidogénesis, en particular la producción de andrógenos, de los que el principal es la testosterona (ver revisión: Stocco y McPhaul, 2006). La GnRH también estimula la secreción de la hormona folículo estimulante (*Follicle Stimulating Hormone*, FSH) por parte de la adenohipófisis. La FSH es el principal factor endócrino que regula la función y la proliferación de las células de Sertoli (ver revisión: Griswold y McLean, 2006). Estas células se encuentran dentro de los túbulos seminíferos, proveen el soporte físico a las células germinativas en proliferación y

contribuyen con su avance dentro del epitelio germinativo (Barth y Oko, 1989). La FSH es fundamental para el inicio de la espermatogénesis, ya que determina la cantidad, el tamaño y la actividad de las células de Sertoli, lo que limitará la cantidad de espermatozoides producidos en la vida adulta (ver revisión: Griswold y McLean, 2006). Aunque la FSH resulta fundamental en el inicio de la espermatogénesis, ésta puede mantenerse en ausencia de la misma si la concentración de testosterona es adecuada (ver revisión: Hedger y Hales, 2006).

En los últimos años diversos estudios han demostrado que la secreción de GnRH está regulada por la kisspeptina, un neuropéptido hipotalámico (ver revisión: Smith et al., 2014). La mayoría de las neuronas secretoras de GnRH presentan receptores de kisspeptina (roedores: Irwing et al., 2005; ovinos: Smith et al., 2009; caprinos: Matsuyama et al., 2011) y ésta estimula tanto la secreción de GnRH (Smith et al., 2011), como indirectamente de LH, FSH (Ezzat-Ahmed et al., 2009) y testosterona (Saito et al., 2012).

En los machos, la testosterona es la hormona sexual más importante, siendo fundamental para el mantenimiento de su función sexual. Por un lado, es necesaria para la espermatogénesis, y por otro, porque la maduración, el transporte y la eyaculación de los espermatozoides dependen de tejidos y glándulas dependientes de andrógenos. Los determinantes del fenotipo característico de los machos, es decir la masa muscular, la distribución del tejido graso, la actividad metabólica y el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, también dependen de los andrógenos (ver revisiones: Griswold y McLean, 2006; Hedger y Hales, 2006).

El papel de la testosterona sobre la gametogénesis es dependiente de su concentración: para que el proceso de espermatogénesis se inicie, se requiere de una concentración basal, pero para que se mantenga, es suficiente con una concentración bastante menor (Walker, 2003). Además, en machos adultos, la testosterona por sí sola es capaz de mantener y reiniciar la espermatogénesis, al menos cualitativamente (ver revisión: O'Donnell et al., 2006), pero pequeños cambios en su concentración tienen como consecuencia cambios cuantitativamente importantes en la producción espermática (Sun et al., 1990).

Además, la testosterona juega un rol fundamental en la modulación del comportamiento sexual de los machos. Aunque una concentración mínima es imprescindible para su establecimiento (Holmes, 1986), una vez que el comportamiento sexual se ha desencadenado, la testosterona funciona como facilitadora del mismo (Lincoln et al., 1972; D'Occhio y Brooks, 1982). Para el mantenimiento del comportamiento sexual se requiere de una concentración umbral de testosterona (Grunt y Young, 1952), pero una vez alcanzado este umbral, no existe una relación directa entre el comportamiento sexual y la concentración de esta hormona (Schanbacher y Lunstra, 1976).

Por último, la liberación de GnRH y de las gonadotrofinas LH y FSH se encuentran bajo retrocontrol negativo de la propia testosterona y de la inhibina (ver revisiones: Tilbrook y Clarke, 2001; Jeong y Kaiser, 2006). La testosterona ejerce un retrocontrol negativo sobre la secreción de LH y FSH: esta acción se demuestra porque la secreción de ambas gonadotrofinas aumenta rápidamente luego de la castración (Schanbacher y Ford, 1977). La inhibina es una hormona proteica secretada por los testículos, principalmente por las células de Sertoli (ver revisión: De Kretser y McFarlane, 1996). Su acción es selectiva sobre la secreción de FSH, incluso en ausencia de testosterona: en carneros castrados la administración de inhibina indujo la disminución en la secreción de FSH sin que se observaran cambios en la secreción de LH (Tilbrook et al., 1993).

1.2. Estacionalidad reproductiva

En gran parte de los hábitats ocurren cambios estacionales en las condiciones climáticas y en la disponibilidad de alimentos. En las zonas templadas estas variaciones son más marcadas que en las tropicales, y los animales que habitan allí se adaptan a estas condiciones mostrando cambios en su fisiología, morfología y comportamiento (Bronson, 1989; ver revisiones: Thiéry et al., 2002; Malpoux, 2006).

Muchas especies de mamíferos adoptaron la estrategia de la estacionalidad reproductiva como un mecanismo adaptativo de la especie (Bronson, 1989). En las zonas templadas la reproducción se ve restringida solamente a un período del año, de forma que se maximizan los recursos destinados a la reproducción. Así, el nacimiento de las crías tiene lugar mayoritariamente en las épocas del año donde la disponibilidad de

alimentos es máxima, y las condiciones climáticas son óptimas (Bronson, 1985; ver revisión: Malpaux, 2006). Dado que los cambios en el fotoperiodo son mucho más leves que en las zonas templadas, en los trópicos y en las zonas áridas las variaciones estacionales responden sobre todo a cambios marcados en la pluviosidad. En última instancia, la pluviosidad determina un aumento en la disponibilidad de alimentos (Bronson, 1989), por lo que influye también en la determinación de la época donde ocurren la mayor parte de los nacimientos (ver revisión: Malpaux, 2006).

El período del año donde los machos presentan actividad reproductiva intensa y las hembras presentan ciclos estrales se denomina comúnmente como estación reproductiva, y varía de acuerdo a las especies. En general se considera que la duración de la gestación es un factor determinante de la estacionalidad reproductiva, ya que es la que determina en qué momento tienen lugar los nacimientos (Lincoln y Short, 1980; Karsch et al., 1984). Cuando el período de gestación es muy breve o muy extenso, es decir desde unos pocos meses o alrededor de un año, como en roedores domésticos y equinos, respectivamente, la estación reproductiva se observa en la primavera e inicios del verano (ver revisión: Malpaux, 2006). Sin embargo, cuando el período de gestación es de 5-6 meses, como ocurre en los caprinos, la estación reproductiva tiene lugar durante el otoño y en general, el período de nacimientos tiene lugar desde el final del invierno hasta el inicio del verano, cuando los alimentos son abundantes y el clima es menos rígido (Ortavant et al., 1985).

En las especies poligámicas, como los ovinos y caprinos, los machos se aparean con más de una hembra, y su éxito reproductivo depende de la cantidad de hembras a las que accedan (Clutton-Brock, 1989). Por otro lado, los ovinos y caprinos ferales mantienen una estructura poblacional de segregación sexual durante la mayor parte del año. Los machos y hembras se encuentran en grupos separados hasta que los machos más jóvenes maduran y se vuelven física y socialmente dominantes sobre las hembras. (ver revisiones: Geist, 1974; Shackleton y Shank, 1984). Luego, cuando se acerca la estación reproductiva, los machos se desplazan hacia lugares donde se encuentran grupos de hembras y luego de algunas semanas comienzan a ocurrir los apareamientos (Grubb y Jewell, 1973).

Para que los machos de estas especies logren reproducirse con la mayor cantidad de hembras, éstos deben estar aptos para la reproducción antes que ellas. De esta forma

los machos podrían cubrir a todas las hembras, desde las que comienzan a ciclar tempranamente en la estación reproductiva, hasta las que lo hacen tardíamente (ver revisión: Ungerfeld, 2007). Por lo tanto, generalmente, la estación reproductiva de los machos comienza antes que la de las hembras. Los machos comienzan a desplegar su comportamiento sexual y agresivo cuando las hembras aún no comenzaron a ciclar, y se ha sugerido que esto ocurre como consecuencia de una activación más temprana de su sistema reproductivo. También en este momento se determinan las relaciones de dominancia entre los machos (ver revisión: Ungerfeld, 2007). El retraso entre que machos y hembras se encuentran y que tienen lugar los apareamientos, se debe a que en ese momento las hembras aún no se encuentran ciclando (Bronson, 1989), y a que el proceso completo de la espermatogénesis requiere más tiempo que la maduración folicular y la ovulación.

1.2.1. Factores intrínsecos y extrínsecos que inciden sobre la estacionalidad reproductiva

La estacionalidad reproductiva es modulada por factores intrínsecos y extrínsecos. Los factores intrínsecos son inherentes a los individuos y dependen de su genotipo, mientras que los extrínsecos dependen del ambiente donde éstos se encuentran (Bronson, 1989).

Uno de los factores intrínsecos que determinan la estacionalidad reproductiva es la expectativa de vida en relación a las variaciones ambientales anuales. Si la expectativa de vida es menor a un año, el individuo adoptará una estrategia reproductiva oportunista, por lo que la reproducción no se verá restringida sólo a algunos momentos del año y la estacionalidad reproductiva será muy poco marcada. En cambio, si la expectativa de vida es de varios años, el individuo podrá adoptar una estrategia de reproducción estacional, concentrando los nacimientos en la estación del año más favorable para las crías (Bronson, 1989). El sexo de los individuos es otro de los factores intrínsecos fundamentales en la determinación de la estacionalidad reproductiva (ver sección 1.2).

Los factores extrínsecos son aquellos provenientes del ambiente, y pueden clasificarse como “últimos” o como “proximales”. Los factores últimos resultan

importantes en el control de la reproducción a largo plazo, es decir, durante toda la vida del animal, mientras que los proximales proveen de información ambiental inmediata (Bronson, 1989). Los factores últimos incluyen aquellas presiones selectivas que durante el transcurso de la evolución dieron lugar a que la reproducción ocurra en períodos restringidos del año, cuando se supone será más exitosa. Los factores últimos más importantes para los mamíferos son el clima, particularmente la temperatura y las precipitaciones, la disponibilidad calórica, y la calidad y cantidad de los alimentos disponibles. Las presiones predatorias y de competencia entre las especies también se pueden considerar como factores últimos (Bronson, 1985; ver revisión: Malpaux, 2006).

Los factores proximales funcionan como predictores de los cambios estacionales del ambiente y regulan en forma directa los procesos fisiológicos, por lo que deben ser estables y consistentes de año en año. Uno de los factores proximales más importantes en la regulación de la actividad reproductiva es el ciclo fotoperiódico anual (variación de la relación horas de luz:horas de oscuridad a lo largo del día) (Karsch et al 1984; Bronson, 1985). En los ambientes de clima cambiante (zonas templadas), el uso de predictores representa una ventaja adaptativa ya que permite que los individuos se preparen metabólicamente para los períodos en los que la disponibilidad de alimentos y el clima maximizan el éxito reproductivo (Bronson, 1985).

1.2.1.1. El fotoperiodo y la melatonina como reguladores de la estacionalidad reproductiva

En las zonas templadas del planeta, las cuatro estaciones del año están bien determinadas y se caracterizan por la cantidad de horas luz a lo largo de un día y por sus condiciones meteorológicas específicas. El fotoperiodo es altamente repetible de año en año, por lo que es una señal confiable que informa sobre la época del año. El ciclo de luz-oscuridad se transforma en una señal endócrina que da lugar a la liberación circadiana de melatonina por parte de la glándula pineal. Este patrón de secreción de melatonina es decodificado y es el que regula la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal que determinará o no la liberación de GnRH, y por tanto de LH y FSH (ver revisiones: Thiéry et al., 2002; Malpaux, 2006). La luz es recibida por fotorreceptores localizados en la retina, principalmente por los bastones y los conos. Algunas células ganglionares de la

retina expresan melanopsina, un pigmento fotosensible, y se proyectan hacia el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo. El NSQ recibe la información lumínica y la traduce en una señal endócrina regulando la secreción de melatonina por parte de la glándula pineal (ver revisión: Malpaux, 2006). La melatonina se secreta en pulsos circadianos: se libera solamente durante la fase oscura del día, alcanzando su concentración máxima durante la noche, mientras que durante las horas de luz se encuentra en niveles basales, brindando información fiable del fotoperiodo (ver revisión: Bartness et al, 1993). En los mamíferos, la melatonina actúa principalmente sobre la *pars tuberalis* de la hipófisis y en menor medida sobre el NSQ y el área pre-óptica del hipotálamo (Stankov et al., 1991). En ovinos se ha demostrado que el sitio más importante de acción de la melatonina es el hipotálamo (ver revisión: Malpaux et al., 2001), especialmente el área pre-mamilar (Malpaux et al., 1998).

La pinealectomía o la denervación de la glándula pineal en mamíferos tiene como consecuencia la incapacidad de responder a los cambios del fotoperiodo con variaciones estacionales de la función reproductiva. Específicamente en ovinos, la pinealectomía conduce a la desincronización de los ciclos reproductivos estacionales, sugiriendo que la glándula pineal es esencial para la sincronización endógena de la reproducción (ver revisión: Arendt, 1998).

La duración de la secreción de melatonina es procesada a nivel del sistema nervioso central y es la señal que controla la secreción de GnRH, aunque su acción no es directamente sobre las neuronas secretoras de GnRH (ver revisión: Malpaux et al., 2001) sino que regula en última instancia la secreción de kisspeptina (Chalivoix et al., 2010), que es el factor que estimula la secreción de GnRH (Smith et al., 2011) (ver sección 1.1). El uso de implantes auriculares de melatonina en ovejas estimula tanto la liberación de GnRH como de LH (Viguie et al., 1995). Además, la colocación de microimplantes de melatonina en diferentes partes del hipotálamo induce la liberación de FSH y testosterona y el aumento del tamaño testicular en machos (Lincoln y Maeda, 1992), mientras que en hembras estimula la secreción de LH (Malpaux et al., 1993; Malpaux et al., 1998). Por último, la administración vía sanguínea de melatonina, simulando el patrón de secreción durante los días cortos o largos, estimula o inhibe respectivamente, la secreción de LH en ovejas (Bittman y Karsch, 1984).

En rumiantes originarios o adaptados a las zonas templadas, el fotoperiodo es la señal ambiental que determina que la reproducción ocurra de manera estacional (ver revisiones: Malpaux et al., 1999; Chemineau et al., 1988). Las especies estacionales se pueden agrupar en reproductores “de días cortos” y “de días largos” dependiendo de la época del año en que los individuos se encuentran sexualmente activos (ver revisión: Malpaux et al., 2001). Los ovinos y los caprinos son reproductores “de días cortos”, dado que la estación reproductiva tiene lugar cuando el fotoperiodo es decreciente, es decir, a medida que comienza a acercarse el otoño y la cantidad de horas luz disminuye. En este momento, la melatonina se secreta durante más horas, lo que funciona como una señal estimuladora para la liberación de gonadotrofinas y testosterona, y por tanto del comportamiento sexual. Por el contrario, cuando comienza a acercarse el verano, la cantidad de horas de luz es mayor y por lo tanto la melatonina se secreta durante menos horas. En este momento se observa quiescencia reproductiva, caracterizada por regresión gonadal y una disminución en la concentración de gonadotrofinas y testosterona (ver revisión: Chemineau et al., 1992; Delgadillo et al., 2004).

A diferencia de lo que ocurre en las hembras, que se vuelven anéstricas, los cambios estacionales en la actividad reproductiva de los machos no son del todo o nada, sino que son más bien cualitativos. Por ejemplo, la producción diaria de espermatozoides disminuye durante la estación no reproductiva, pero la espermatogénesis no se detiene completamente (Dacheux et al., 1981). Esto además hace que sea difícil definir en forma precisa tanto el inicio como el fin de la estación reproductiva en los machos. Como se explicó anteriormente, los machos comienzan a intensificar su actividad reproductiva algunos meses antes que las hembras comiencen a ciclar, y la activación de su eje hipotálamo-hipófiso-gonadal ocurre antes (Bronson, 1989), mientras la duración de horas luz todavía está aumentando.

1.3. Estacionalidad reproductiva en los pequeños rumiantes

Los ovinos y caprinos presentan una variación estacional en la actividad del hipotálamo y la hipófisis (variaciones en la secreción de gonadotrofinas), y de las gónadas (variaciones en la secreción de hormonas gonadales) en respuesta a los cambios en el fotoperiodo (Lincoln y Davidson, 1977; Langford et al., 1999).

En los caprinos, la estación reproductiva de las hembras se caracteriza por la sucesión de ciclos estrales, que generalmente comienzan en el verano o el otoño temprano, en respuesta a la disminución de la cantidad diaria de horas de luz. El período de anestro o estación no reproductiva es determinado por una secreción pulsátil de LH muy baja comparada con la observada durante la estación reproductiva, sin que se produzcan ovulaciones, lo que se debe a la inexistencia de los picos pre-ovulatorios de LH y FSH. La disminución considerable de la liberación de LH durante este período es consecuencia de una retroalimentación negativa por parte del estradiol sobre el hipotálamo y la hipófisis, consecuencia de la acción de la melatonina sobre el eje hipotálamo-hipofisario (ver revisión: Ungerfeld, 2007).

En los machos, durante la estación reproductiva aumenta la secreción de LH, FSH (D'Occhio et al., 1984; Langford et al., 1999), y testosterona (Lincoln y Short, 1980; Todini et al., 2007), así como el peso corporal y el tamaño testicular (Ahmad y Noakes, 1995; Langford et al., 1999; Kafi et al., 2004). El aumento en la secreción de testosterona promueve cambios comportamentales (ver revisión: O'Donnell et al., 2006). Durante la estación reproductiva los machos realizan mayor cantidad de comportamientos sexuales involucrados en el cortejo, como los acercamientos laterales, olfateos ano-genitales y montas (Lincoln y Davidson, 1977; Hammoudi et al., 2010). Específicamente en chivos, la producción de semen aumenta en calidad y cantidad durante el otoño (Karagiannidis et al., 2000): el volumen del eyaculado, la cantidad de espermatozoides producidos, la motilidad espermática (Kafi et al., 2004) y la fertilidad son máximas (Dacheux et al., 1981), mientras que el porcentaje de espermatozoides muertos y el porcentaje de espermatozoides anormales son mínimos (Rahman y Kandil, 1984; Ahmad y Noakes, 1996). El olor característico de los machos se vuelve más intenso durante la época reproductiva (McEwan-Jenkinson et al., 1967, citado por Claus et al., 1990), lo que resulta importante porque forma parte del repertorio de señales sexuales que utilizan los machos. Durante la estación no reproductiva, estos efectos positivos sobre los parámetros reproductivos desaparecen y los machos comienzan un período de quiescencia reproductiva (Delgadillo et al., 2004).

Se ha sugerido que los metabolitos de la testosterona y algunos análogos sintéticos, como el estradiol y el propionato de testosterona, respectivamente, bajo condiciones experimentales son más importantes que la propia testosterona en el

mantenimiento del patrón circanual de secreción de gonadotrofinas (Walkden-Brown et al., 1997). En chivos castrados, el patrón circanual de secreción de LH y FSH desaparece, pero cuando los mismos son tratados con estradiol o testosterona o, el mismo se reestablece (Walkden-Brown et al., 1997).

1.3.1. Estacionalidad reproductiva en las cabras

Al igual que los ovinos, los caprinos son una especie con reproducción estacional: presentan un ritmo de actividad reproductiva endógeno sincronizado por el fotoperiodo, que determina el ritmo anual de actividad del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, y por tanto el inicio y el fin de la estación reproductiva (Delgadillo et al., 1999; ver revisión: Malpaux, 2006).

El patrón reproductivo estacional de los caprinos varía en función de la latitud. Es así que cabras criollas de diferentes regiones -probablemente feralizadas a partir de poblaciones domésticas- varían su patrón reproductivo según el lugar donde se encuentren. En los caprinos criollos originarios de zonas tropicales, los machos y las hembras mantenidos bajo condiciones de alimentación adecuadas y criados en el subtrópico mexicano presentan una estacionalidad reproductiva muy poco marcada. Las hembras adultas pueden ciclar y presentar actividad sexual durante todo el año (Chemineau, 1986a), mientras que los machos mantienen el tamaño testicular, el volumen del eyaculado y la concentración espermática, así como el comportamiento sexual constante durante todo el año (Chemineau, 1986b). En cambio, las cabras criollas criadas en Argentina (zona templada) presentan un patrón reproductivo estacional. Rivera et al. (2003) observaron que bajo condiciones de fotoperiodo natural y alimentación adecuada, la estación reproductiva tiene lugar durante los meses de otoño e invierno. En este trabajo, las hembras se encontraban en presencia continua de machos, por lo que los autores sugieren que la estación reproductiva podría haberse extendido debido a la estimulación de la actividad reproductiva que los machos ejercen sobre las hembras. En concordancia con lo anterior, cabras criollas mantenidas bajo condiciones de fotoperiodo tropical en Europa no muestran variación estacional de su actividad reproductiva. Por el contrario, las mantenidas bajo condiciones de fotoperiodo templado muestran un período de anestro durante la primavera y el verano y un

período de actividad reproductiva (en el que se observan ovulaciones) durante el otoño y el invierno (Chemineau et al., 2004).

Por otro lado, las cabras de la raza Alpina, originarias de zonas templadas, presentan una variación estacional en el comportamiento estral y en la frecuencia de ovulaciones, con una máxima actividad durante el otoño y un período de anestro en invierno (Chemineau et al., 1992). Resulta interesante que, cuando estas hembras Alpinas se someten a un régimen tropical de fotoperiodo, las variaciones estacionales en la actividad reproductiva se mantienen, aunque con algunas diferencias (el comportamiento estral y las ovulaciones comenzaron antes y su duración fue mucho más variable que hembras que se sometieron a régimen de fotoperiodo templado) (Chemineau et al., 1992). De forma similar, los chivos Alpinos en zonas templadas presentan variación estacional de su actividad reproductiva. Durante el otoño y el invierno el porcentaje de espermatozoides motiles es máximo y el porcentaje de espermatozoides anormales es mínimo, mientras que durante la primavera y el verano el porcentaje de espermatozoides motiles es mínimo y el porcentaje de espermatozoides anormales es máximo (Delgadillo et al., 1992). Además, la concentración de LH y testosterona es mayor durante el otoño y el invierno que durante la primavera y el verano (Delgadillo y Chemineau, 1992) y el comportamiento sexual es más intenso ya que se observa un aumento en el porcentaje de montas con eyaculación (Delgadillo et al., 1991). Cuando se elimina artificialmente el fotoperiodo, los machos Alpinos, a diferencia de las hembras, no mantienen la variación estacional de su actividad reproductiva, si no que se observan diferencias leves en la calidad del semen (Delgadillo et al., 1992), en la concentración de LH y testosterona (Delgadillo y Chemineau, 1992) y en el comportamiento sexual (Delgadillo et al., 1991) según la estación del año.

En Uruguay, aunque no hay estudios que la caractericen en detalle, se sugiere la estación reproductiva de las cabras tiene lugar durante algunos meses de verano y todo el otoño-invierno, y que la época de anestro estacional se extiende desde el final de la primavera hasta inicios del verano (ver revisión: Menchaca y Ungerfeld, 2010). Las razas de origen alpino (40 - 50° LN; Pardo Alpina, Saanen y Toggenburg) presentan la estación reproductiva desde febrero-marzo hasta setiembre, y las de origen africano y asiático (0-15° LN; Anglo Nubian) comienzan un poco más temprano, desde diciembre-enero hasta setiembre.

Las cabras enanas son originarias del oeste de África ecuatorial y en la mayoría de sus países de origen son utilizadas para la producción de carne y leche, pero actualmente su uso se ha extendido a todo el mundo como animales de compañía o de exhibición debido a su gran docilidad (Dairy Goat Journal, 2014). Existen dos tipos de enanismo en las cabras. Uno da origen a la raza Gabón -citada generalmente en la bibliografía como cabras enanas del oeste africano (*West African Dwarf goats – WAD goats*) o como cabras nigerianas- y el otro a la raza pigmea (Dairy Goat Journal, 2014; Farm Animal Biology, 2014; The Pygmy Goat Club of Ireland, 2014). Existe cierta confusión en la bibliografía científica, ya que suele utilizarse el término de cabras enanas como un indicador de tamaño pero sin distinción de raza (Dairy Goat Journal, 2014). Uno de los tipos de enanismo es consecuencia de la acondroplasia: los animales presentan patas desproporcionalmente cortas, cuerpo voluminoso y cabeza chica. El otro tipo de enanismo es resultado de la hipoplasia pituitaria, lo que lleva a que los animales presenten cuerpo pequeño pero proporcionado. Éstos dos fenotipos representan los extremos, pero existen gran variedad de formas intermedias (Dairy Goat Journal, 2014; Farm Animal Biology, 2014; The Pygmy Goat Club of Ireland, 2014). A partir de la bibliografía en la que se utilizan cabras enanas, es posible identificar que posiblemente la raza Gabón es la que presenta hipoplasia pituitaria. El pelaje es mayoritariamente negro y blanco, su altura es de 40-50 cm y su peso corporal 20-30 kg (Farm Animal Biology, 2014). La raza que presenta acondroplasia probablemente es la pigmea. El color del pelaje es más variado, incluye el blanco y el marrón. Su altura ronda los 18-22 cm y su peso corporal los 18-25 kg (Wilson, 1991; Khanum et al 2006), aunque se reportan machos adultos con un peso corporal de entre 6 y 9 kg (Muduuli, 1979; Daramola et al., 2006).

Aunque el patrón reproductivo estacional de la raza Gabón no ha sido estudiado en detalle, se ha sugerido que esta raza no es estacional (Oppong y Yebuah, 1981; Khanum et al 2006). En el “Parque Lecocq” de Montevideo se encuentra una población de cabras de Gabón, de donde provienen los machos utilizados en la presente Tesis. A partir de los registros de nacimientos ocurridos allí a lo largo de 8 años (2005-2013) se determinó el patrón anual de partos (Figura 1A). Se observó que los partos ocurren durante casi todo el año, pero casi el 70% se concentran en dos meses: el 28% en mayo (fin del otoño) y el 41% en setiembre (inicio de la primavera). Durante el resto de los meses del año se observó un muy bajo porcentaje de partos y durante diciembre-enero y

junio-julio no se registraron partos. A partir del patrón anual de partos observados se estimaron los momentos de celos fértiles de las hembras, restándole 5 meses a las fechas de partos (Figura 1B).

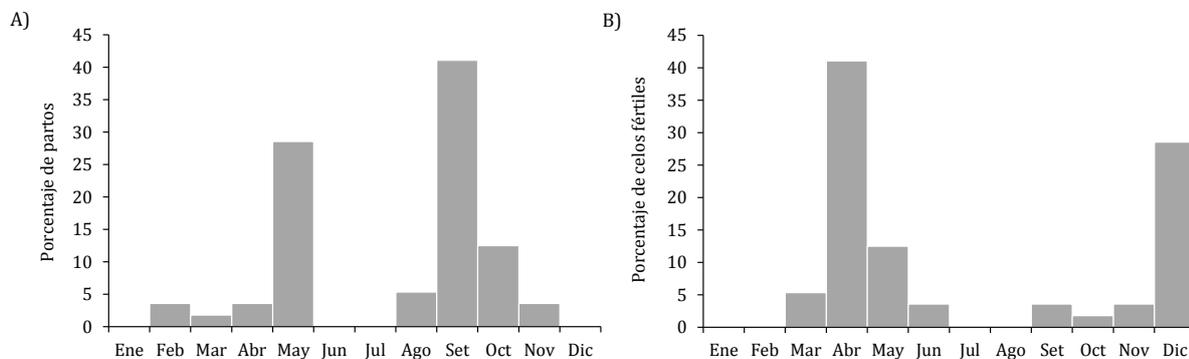


Figura 1. Patrón anual de partos registrados (A) y de celos fértiles estimados (B) en la población de cabras de Gabón del Parque Lecocq, Montevideo, Uruguay (35° S), lugar de donde provienen los machos utilizados en este trabajo (Datos obtenidos desde 2008 a 2014, porcentajes calculados a partir de 86 partos observados).

Este patrón de partos es similar al observado en la misma raza en otras regiones. En Dummerstorf (Alemania, 54° N, 12° E) los partos ocurren durante todo el año pero existen dos picos en los meses de febrero (invierno) y agosto (verano) (Farm Animal Biology, 2014), y en Legon (Ghana, 5° N, 0° O) los picos se observan en marzo-abril (primavera) y julio (verano) (Oppong y Yebuah, 1981). En cambio, en Ibadán (Nigeria, 7° N, 3° E) se observa un solo período de partos durante agosto y setiembre (verano) (Sumberg y Mack, 1985).

1.3.2. Factores que afectan la estacionalidad reproductiva en las cabras: nutrición

Para que los animales expresen el máximo potencial reproductivo su nutrición debe ser óptima, ya que ésta es un factor clave en la producción de gametos (ver revisiones: Walkden-Brown y Bocquier, 2000; Martin et al., 2004). La producción espermática y el tamaño testicular disminuyen en los machos en condiciones de sub nutrición (Hiroe y Tomizuka, 1965). Sin embargo, cuando fuera de la estación reproductiva se administró una dieta mejorada, tanto el tamaño testicular como la producción espermática aumentaron, y este aumento se mantuvo por varios meses

(Walkden-Brown et al., 1994a). La calidad del semen también se ve negativamente afectada bajo condiciones de subnutrición: el porcentaje de espermatozoides vivos y la motilidad espermática disminuyen, mientras que el porcentaje de espermatozoides anormales aumenta (Hiroe y Tomizuka, 1965). Asimismo, el comportamiento sexual se ve afectados por la sub nutrición, ya que chivos alimentados con dietas de baja calidad despliegan menos cantidad de montas totales y de montas con eyaculación que los tratados con dietas de alta calidad (Hiroe y Tomizuka, 1965; Walkden-Brown et al., 1993b).

La nutrición es un fuerte modulador de la estacionalidad reproductiva, y actúa directamente sobre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. En chivos alimentados con dietas de alta calidad, los cambios hormonales debidos a la estación de año ocurren antes y se mantienen por más tiempo que los alimentados con dieta de baja calidad. Además, la magnitud de los cambios es mayor en los chivos alimentados con dieta de alta calidad que en los alimentados con dietas de baja calidad, ya que su masa corporal y testicular aumentan en mayor medida (Walkden-Brown et al., 1994a).

Sin embargo, en carneros se ha demostrado que el efecto de la nutrición sobre la estacionalidad reproductiva depende de la raza de los individuos. Los carneros de la raza Merino presentan una estacionalidad reproductiva poco marcada, y cuando son alimentados con una dieta suplementada, aumentan la pulsatilidad de LH y su circunferencia escrotal (CE) tanto en la estación reproductiva como fuera de ésta. En cambio, los carneros de la raza Suffolk, que presentan una estacionalidad reproductiva muy marcada, responden a la suplementación aumentando su CE y la pulsatilidad de LH solamente durante la estación reproductiva (Hötzel et al., 2003). Se ha propuesto que estas diferencias estacionales en la respuesta a la nutrición en los carneros con estacionalidad reproductiva marcada se debe a que el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal sólo es capaz de responder cuando no está inhibido por el fotoperiodo, como sucede fuera de la estación reproductiva (Hötzel et al., 2003). Además, en los carneros de la raza Merino, la nutrición tiene una fuerte influencia en los cambios estacionales en el crecimiento testicular, mientras que en los de la raza Suffolk estos cambios están gobernados en mayor medida por el fotoperiodo. Esto pone de manifiesto que la los mecanismos que median la respuesta a la nutrición son dependientes de la raza (Martin et al., 2002). Los cambios en el crecimiento testicular inducidos por cambios en la

nutrición son en parte independientes de los cambios en la secreción de GnRH, ya que no se asocian con cambios en la secreción de gonadotropinas ni testosterona (Hötzel et al., 1997).

1.4. Influencias sociales en la regulación de la actividad reproductiva

Las señales sociales modulan y producen cambios sobre la actividad reproductiva de otros individuos, pudiendo tanto estimularla como inhibirla (ver revisión: Ungerfeld 2007). Las especies gregarias, como los caprinos, utilizan señales para monitorear el ambiente, la individualidad y las intenciones inmediatas de los otros integrantes de su grupo de forma continua (Bronson, 1989).

Un individuo puede estimular la actividad reproductiva de otro individuo, ya sea de su mismo sexo o del sexo opuesto. Este proceso se denomina “bioestimulación” e incluye tanto al “efecto macho” como al “efecto hembra” (ver revisiones: Walkden-Brown et al., 1999; Martin et al., 2004). El fenómeno de la bioestimulación se ha observado en muchas especies (roedores: Whitten, 1959; suinos: Hughes y Thorogood, 1999; bovinos: Fiol y Ungerfeld, 2010; ovinos: Martin et al., 1983, y caprinos: Lacuesta et al., 2014), y puede influir sobre la actividad reproductiva de diferentes maneras: adelantando la pubertad (Oldham y Gray, 1984), induciendo la ovulación (Chemineau, 1983) o reduciendo el anestro posparto de las hembras (Geytenbeek et al., 1984).

El efecto macho ha sido bastante más estudiado que el efecto hembra, por lo que se toma como referencia para explicar el mismo y es por ello se desarrolla en primer lugar.

1.4.1. Efecto macho

El efecto macho fue observado por primera vez en ovejas por Underwood et al. (1944). En su trabajo, reportaron que existió una sincronización en la fecha de partos de las hembras en anestro luego de la introducción de machos al rebaño. En cabras, Shelton (1960) observó que las hembras que fueron alojadas junto con machos presentaron mayor tasa de ovulación y folículos más grandes que las hembras alojadas aisladas de machos. La definición clásica del efecto macho consiste en la introducción de un macho en un rebaño de hembras previamente aisladas de machos, de modo que el mismo

representa una novedad y estimula la actividad reproductiva de las hembras (ver revisiones: Martin et al., 1986; Ungerfeld, 2007; Delgadillo et al., 2009). Las hembras pueden encontrarse en anestro ya sea debido a la estación del año (anestro estacional), a la inmadurez sexual (hembras prepúberes), o a la lactancia (anestro posparto y lactacional). En general, la introducción de machos a un rebaño de hembras en anestro es utilizada como una técnica para estimular la actividad reproductiva las mismas (ver revisión: Martin et al., 2004) Sin embargo, ha sido demostrado que también induce cambios en hembras cíclicas, tanto en ovejas (Ungerfeld y Rubianes, 1999; Hawken et al., 2007) como en cabras (Hawken et al., 2009a).

1.4.1.1. Respuesta endócrina de las hembras al efecto macho

En las hembras, la pulsatilidad de LH es menor fuera de estación reproductiva que durante la misma. Durante este periodo el hipotálamo está inhibido porque es altamente sensible a la retroalimentación negativa que ejerce el estradiol (Legan y Karsh, 1980). El estímulo de la introducción del macho a hembras en anestro hace que la retroalimentación que ejerce el estradiol sobre el hipotálamo se vuelva positiva (Martin et al., 1983). Por lo tanto, luego de la introducción de los machos, la secreción pulsátil de LH aumente hasta un pico pre-ovulatorio que induce la ovulación (ovejas: Poindron et al., 1980; cabras: Chemineau, 1983). En cabras (Hamada et al., 1996; Ichimaru et al., 1999), el aumento en la secreción de LH como respuesta al efecto macho es mediado en parte por la activación de las neuronas generadoras de pulsos de GnRH, aunque en ovejas se ha demostrado recientemente que esto es consecuencia de un aumento de kisspeptina (Smith et al., 2011).

En ovejas ovariectomizadas, el estímulo de los machos también induce un aumento en la secreción de LH, aunque sin alcanzar el pico pre-ovulatorio. Es posible que el estímulo de los machos actúe directamente sobre el hipotálamo, controlando la secreción de LH. Por otro lado, cuando ovejas ovariectomizadas son tratadas con estradiol, la secreción de LH es mayor que cuando no lo son, por lo que se ha sugerido que la pulsatilidad de LH depende de la respuesta ovárica en la secreción de estrógenos a estos pulsos (Martin et al., 1983). En ovejas cíclicas expuestas a machos, también se observa un aumento en la frecuencia de los pulsos de LH, independientemente de la

etapa del ciclo estral en que se encuentren (Hawken et al., 2007). Sin embargo, en cabras cíclicas la magnitud del aumento en la frecuencia de pulsos de LH luego de la exposición a machos depende de la etapa del ciclo estral en la que se encuentren (Hawken et al., 2009a).

1.4.1.2. Determinantes de la respuesta de las hembras al efecto macho: duración del contacto y aislamiento previo

Se ha sugerido que la cantidad de hembras que ovulan en respuesta a la estimulación con machos es mayor cuanto mayor es la duración del contacto (ovejas: Signoret et al., 1982; cabras: Walkden-Brown et al., 1993a). Sin embargo, Bedos et al. (2010) demostraron en cabras que basta con que los machos y las hembras permanezcan en contacto sólo 4 h/día para lograr la misma respuesta que cuando permanecen en forma continua.

El aislamiento total de machos no es siempre necesario para inducir la actividad reproductiva de las hembras: ovejas que se encuentran en contacto con machos ovulan luego de exponerlas a machos desconocidos (Pearce y Oldham, 1988; Cushwa et al., 1992), por lo que se podría deducir que al menos en algunas condiciones es suficiente con que los machos representen una novedad. Además, Jorre de St Jorre et al. (2012) concluyeron que el aislamiento previo de las ovejas es necesario solamente si los machos son conocidos por las hembras, pero no es necesario si éstos representan una novedad.

1.4.1.3. Señales que intervienen en el efecto macho

En el efecto macho las señales que estimulan la actividad reproductiva son de diferentes tipos: químicas, auditivas y visuales (ver revisiones: Walkden-Brown et al., 1999; Delgadillo et al., 2006). El contacto físico entre machos y hembras también es un factor importante en la respuesta de las hembras al estímulo de los machos. Cuando se permite el contacto total entre machos y hembras, se observa un mayor porcentaje de hembras que ovulan, en relación a hembras a las que solo se les permite contacto químico y auditivo (Pearce y Oldham, 1988).

Dentro de las señales químicas, las sustancias presentes en la lana o el pelo y la cera producida por las glándulas sebáceas de los machos estimulan la actividad

reproductiva de hembras en anestro. La exposición de cabras al olor de los chivos produce un aumento en la actividad del generador de pulsos de GnRH (Hamada et al., 1996). Los olores de los machos son capaces de desencadenar el pico pre-ovulatorio de LH y la ovulación, tanto en ovejas (Knight y Lynch, 1980) como en cabras (Claus et al., 1990; Walkden-Brown et al., 1993a). En cabras también se demostró que la destrucción del epitelio olfativo principal disminuye la secreción de LH y en el porcentaje de hembras que ovulan en respuesta al efecto macho, sugiriendo que este mecanismo es en parte dependiente de señales químicas (Chemineau et al., 1986). En la bibliografía se suele referir a las sustancias químicas que estimulan la actividad reproductiva de los individuos como feromonas (Iwata et al., 2000; Rekwot et al., 2001; Okamura et al., 2010). Sin embargo, se ha demostrado que la vía principal de acción de estas moléculas es a través del sistema olfativo principal y no del secundario u accesorio (Gelez y Fabre-Nys, 2006). Incluso se demostró que la destrucción del sistema olfativo accesorio no impide la respuesta endócrina de las hembras al olor de machos, aunque sí participa en la detección de estas sustancias químicas (Cohen-Tannoudji et al., 1989). Por todo lo anterior es más correcto referirse a estas moléculas como señales químicas que como feromonas.

Aunque se ha sugerido que las señales químicas son las de mayor importancia en la respuesta al efecto macho (ver revisión: Signoret, 1991), las señales auditivas y visuales también juegan un rol fundamental. Por ejemplo, las vocalizaciones realizadas por machos durante el cortejo desencadenan un aumento en la pulsatilidad de LH y en la frecuencia del comportamiento estral de cabras en anestro (Delgadillo et al., 2012). Por otra parte, las ovejas responden a las imágenes de carneros con un aumento en la frecuencia de pulsos de LH (Hawken et al., 2009b). De todas formas, la respuesta a la estimulación visual es menor que la que con carneros, sugiriendo que esta vía de estimulación aislada es menos efectiva que la combinación del contacto físico con las señales químicas, auditivas y visuales (Hawken et al., 2009b).

1.4.2. Efecto hembra

El efecto hembra es análogo al efecto macho: la exposición de machos a hembras en celo desencadena un aumento en la secreción de LH y como consecuencia de

testosterona (Gonzalez et al., 1988a; Walkden-Brown et al., 1994b). El efecto hembra ha sido mucho menos estudiado y en especies productivas la información que se ha generado concierne sobre todo a ovinos.

Uno de los primeros estudios sobre el efecto hembra fue realizado en roedores por Bronson y Desjardins (1982). Estos autores observaron que la concentración de LH aumentó drásticamente en machos sexualmente saciados y machos sexualmente motivados al exponerlos a hembras en celo. En otro trabajo similar, Coquelin y Desjardins (1982) observaron que una señal química específica, probablemente liberada con la orina de las hembras, indujo un aumento en la concentración de GnRH y por tanto de LH en los machos.

1.4.2.1. Efectos agudos sobre la actividad reproductiva de los machos luego del contacto con hembras

En chivos la exposición a hembras en celo induce un aumento rápido en la pulsatilidad de LH y por tanto de la secreción de testosterona (Muduuli et al., 1979; Howland et al., 1985; Walkden-Brown et al., 1994b). La magnitud de esta respuesta depende tanto de la estación del año como del estado nutricional de los machos (Walkden-Brown et al., 1994a): fuera de la estación reproductiva la respuesta es mucho más intensa que durante la estación reproductiva (Schanbacher et al., 1987; Gonzalez et al. 1988b), cuando la concentración de estas hormonas ya es máxima (Lincoln y Short, 1980). Por otro lado, cuando los machos se encuentran en un régimen de alimentación basado en una dieta de alta calidad, el aumento de la secreción de LH se adelanta y la testosterona permanece elevada durante más tiempo (Walkden-Brown et al., 1994a).

En carneros también se observó un aumento casi inmediato de la concentración de LH y testosterona a partir de alojarlos con hembras en celo, respuesta que se mantuvo mientras duró el contacto con las mismas (Ungerfeld y Silva, 2004). Inmediatamente después de la exposición de carneros a ovejas en celo la concentración de LH y testosterona aumentan, aunque no así la de FSH (Yarney y Sanford, 1983; Gonzalez et al., 1988a; Ungerfeld y Silva, 2004). Complementariamente, la exposición aguda de carneros a hembras en celo tiene como resultado inmediato el aumento del fluido testicular (Ungerfeld y Fila, 2012). Este aumento depende del grado de actividad

sexual de los machos: en carneros de alto desempeño sexual, la concentración de estas hormonas aumentó luego de la exposición a hembras en celo, pero no así en carneros de bajo desempeño sexual (Perkins et al., 1992). Por otro lado, los machos modificarían su comportamiento y mejorarían su desempeño en los apareamientos como consecuencia del aumento en la concentración de testosterona (Mattner et al., 1976, citado por Wodzicka-Tomaszewszewska et al., 1981).

1.4.2.2. Efectos crónicos sobre la actividad reproductiva de los machos luego del contacto con hembras

Cuando el contacto de carneros con hembras en celo es continuo, el tamaño (Illius et al., 1976) y la firmeza y elasticidad testicular (Ungerfeld y Silva, 2004) aumentan, al igual que la actividad sexual y el comportamiento agresivo (Illius et al., 1976). En el venado de campo la presencia crónica de hembras tiene efectos positivos sobre las características reproductivas de los machos: los machos que fueron alojados en forma permanente con hembras presentaron astas más grandes y pesadas (Ungerfeld et al., 2009), con mayor proporción de tejido compacto (Ungerfeld y Canabal, 2014), mayor concentración fecal de testosterona, y semen de mejor calidad que machos alojados aislados de hembras (Villagrán y Ungerfeld, 2013). En chivos pre-púberes, el contacto permanente con hembras induce un aumento más temprano de la CE y la concentración de testosterona (Lacuesta et al., 2014).

En síntesis, la estacionalidad reproductiva de los pequeños rumiantes puede ser modificada mediante interacciones de origen socio-sexual, adelantando y sincronizando la actividad reproductiva de las hembras. Pero, a diferencia de los estudios realizados en base al efecto macho, la información relacionada a los efectos crónicos de la presencia de hembras sobre la estacionalidad reproductiva de los machos es escasa.

2. HIPÓTESIS

- Los chivos de Gabón presentan un patrón reproductivo estacional moderado.
- El estímulo con señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo adelanta el patrón reproductivo estacional y aumenta los indicadores reproductivos durante la estación reproductiva de los chivos adultos de Gabón.

3. OBJETIVOS

- Describir el patrón reproductivo estacional de chivos adultos de Gabón en Uruguay (35° S).
- Determinar si el estímulo con señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo, en ausencia de contacto físico, adelanta el patrón reproductivo estacional de los chivos adultos de Gabón y si induce aumentos en la concentración de testosterona, la CE y la cantidad de fluido testicular, y si mejora la calidad del semen de los chivos.

4. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Para describir el patrón reproductivo estacional de los chivos de Gabón, así como para determinar los efectos de la presencia continua de hembras en celo sobre la actividad reproductiva de los machos, se utilizaron dos grupos de chivos adultos de Gabón, una raza que puede ser utilizada como un modelo de especie con reproducción estacional, dado que presenta patrones reproductivos típicos de los rumiantes. Uno de los grupos se mantuvo totalmente aislado de hembras. El otro grupo de chivos se mantuvo en presencia permanente de hembras, ya que las mismas se encontraban separadas de los machos mediante un tejido de alambre, de forma de minimizar el contacto físico. Por tanto, este grupo de chivos fue estimulado por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo. La decisión de minimizar el contacto físico tuvo varios fundamentos. En primer lugar, desde el punto de vista práctico, de permitir el contacto físico, las hembras hubieran quedado preñadas, por lo que el efecto estimulador sobre los machos habría desaparecido, ya que el comportamiento estral de las hembras resulta fundamental para desencadenar y mantener la respuesta en la actividad reproductiva de los machos (Ungerfeld y Silva, 2004; Lacuesta et al., 2014). Por otro lado, algunas de las variables de respuesta utilizadas (concentración de testosterona, calidad seminal, cantidad de fluido testicular) varían fuertemente según si existe o no interacción entre los sexos, por lo que contacto físico entre machos y hembras hubiera afectado a las propias variables de respuesta. Además, esto hubiera afectado en forma diferencial a distintos machos, ya que las relaciones de dominancia-subordinación determinan el acceso de los mismos a las hembras. Por tanto, mientras que estas variables se hubieran afectado mucho en algunos individuos, probablemente hubieran sido poco afectadas en otros.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Animales y su manejo

El experimento se realizó entre abril de 2012 y mayo de 2013. Se utilizaron 16 chivos de Gabón (*Capra hircus*) adultos, de 3 a 5 años de edad y con un peso corporal de $29,2 \pm 1,5$ kg (media \pm EE). Los animales se separaron en dos grupos homogéneos en edad y peso corporal, y se alojaron en dos corrales de 17 m x 10 m y con características de luz/sombra similares. Ambos corrales se ubicaron a 35° S y la cantidad de horas luz a lo largo del año varió de 9 h 51 min a 14 h 29 min (Figura 2) (The weather channel, 2014). Los animales fueron alimentados con fardos de alfalfa ($0,5$ kg.día⁻¹.animal⁻¹) y dispusieron de agua *ad libitum*. Todos los procedimientos fueron aprobados por la Comisión de Experimentación en el Uso de Animales (CEUA) de la Facultad de Veterinaria.

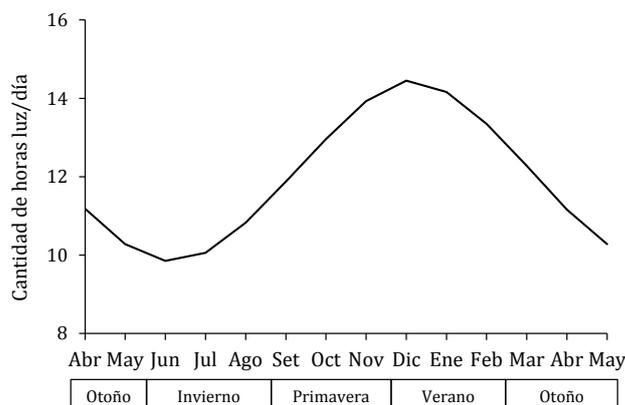


Figura 2. Cantidad de horas luz por día a lo largo de un año en Uruguay (35° S), calculadas a partir de la hora de salida y puesta del sol (The weather channel, 2014).

Antes de comenzar el experimento, todos los machos se encontraban en un corral muy cercano a otro en el que se alojaban las hembras (que no estaban bajo tratamiento hormonal para la inducción del celo). Se mantuvieron en estas condiciones durante 3 meses, y fueron separados en sus respectivos grupos 3 semanas antes del primer muestreo.

A partir de ese momento, un grupo de 9 chivos se alojó en completo aislamiento de hembras, en las instalaciones del Departamento de Fisiología de la Facultad de

Veterinaria, Montevideo, por lo que no existió ningún tipo de contacto (químico, auditivo y visual) con ellas (distancia mínima = 1000 m) (grupo GA). Los 7 chivos restantes se alojaron en un corral adyacente a otro en el que se encontraban 3 hembras adultas, en el campo experimental N°2 de la Facultad de Veterinaria, Libertad, San José (grupo GH) (Figura 3). Cada semana, mediante tratamiento farmacológico, se indujo el celo de una de las hembras, de forma de asegurar que al menos una de ellas estuviera en celo durante al menos 3 días a la semana. El celo se indujo a través de la colocación de dispositivos intravaginales impregnados con acetato de medroxiprogesterona durante 5 a 7 días seguido de inyecciones intramusculares de benzoato de estradiol (1,5 mg, Benzadiol 100, Laboratorio Universal, Montevideo, Uruguay) cada 12 h, durante 3 días.

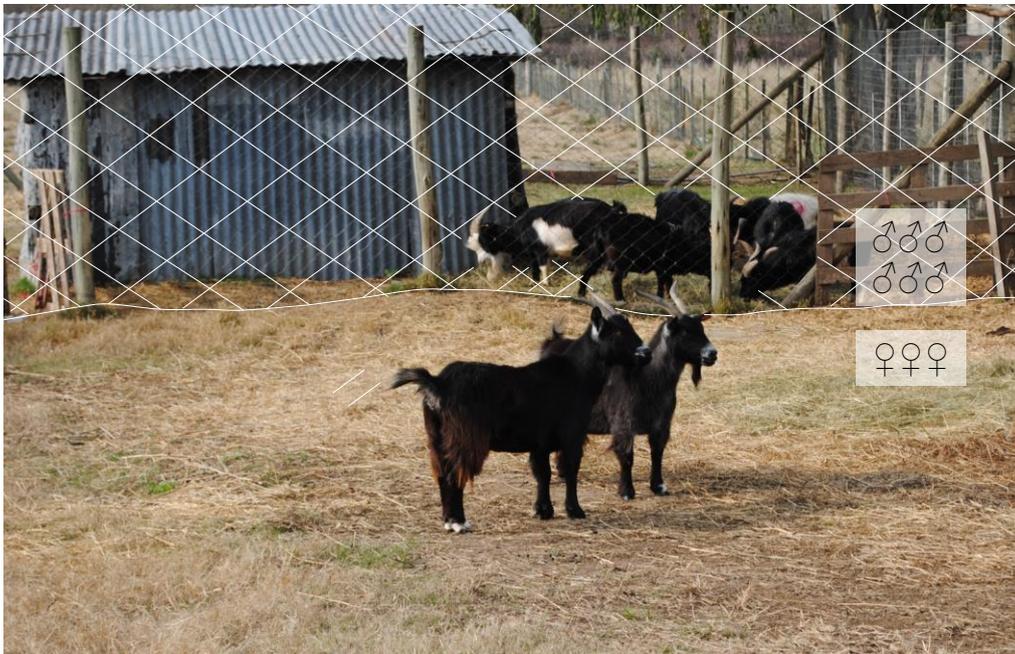


Figura 3. Alojamiento de los chivos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo. En un corral se alojaron 7 machos y en el corral adyacente, separado por un tejido de alambre, 3 hembras (1 vez por semana se indujo el celo farmacológico durante 3 días a una de las hembras).

5.2. Variables de respuesta

Se midió el peso corporal y la CE en forma semanal, al tiempo que se obtuvieron muestras sanguíneas para la medición de la concentración sérica de testosterona. De

forma quincenal se obtuvieron muestras de semen fresco, se evaluaron sus características, y se realizaron ecografías testiculares.

5.2.1 Peso corporal y características testiculares

Los animales se pesaron una vez por semana utilizando una balanza digital. La CE se midió semanalmente utilizando un escrotómetro y se realizaron ecografías testiculares cada dos semanas. Las ecografías testiculares se realizaron 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 de acuerdo a Ungerfeld y Fila (2011). Los ajustes del ecógrafo (ganancia, brillo, contraste) se estandarizaron y se mantuvieron para todas las imágenes. Se escaneó cada testículo en plano longitudinal al mediastino. Se analizó la intensidad del color de los píxeles de las imágenes en una escala de grises que varía entre 0 y 255 (0 = negro; 255 = blanco) utilizando un software apropiado (Image Proplus 3.01, Media Cybernetics, Los Ángeles, EEUU). En cada imagen se analizaron 4 círculos de 1 cm de diámetro, dos por encima y dos por debajo del mediastino testicular, de forma de cubrir un área representativa de la superficie total de la imagen. Para cada imagen se obtuvo un valor promedio de la intensidad del color de los píxeles de los cuatro círculos, es decir de su ecogenicidad. Cuanto menor es la ecogenicidad más oscuras son las imágenes. Esto permite estimar la cantidad de fluido testicular (imágenes más oscuras indican más cantidad de fluido testicular) (Ungerfeld y Fila, 2011). En el mes de agosto no se pudieron realizar las ultrasonografías testiculares por problemas técnicos.

5.2.2. Obtención de muestras sanguíneas y determinación hormonal de testosterona

Las muestras sanguíneas se obtuvieron mediante venopunción yugular en forma semanal y en el mismo horario (10:00 am). Luego de obtenidas, las muestras de sangre se mantuvieron a temperatura ambiente durante 1 h y se centrifugaron durante 30 min a 4000 rpm para separar el suero. Éste se almacenó en tubos eppendorfs a -20 ° C hasta que se determinó la concentración de testosterona.

La concentración de testosterona se determinó mediante radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial de fase sólida (TKTT5; Count-A-Count, Siemens, Los Angeles, CA, EEUU). El límite de detección del ensayo fue 0,1 nmol/L. Los coeficientes de variación intra-ensayo para los controles bajo y alto fueron 8,7% y 5,2% respectivamente, y los coeficientes de variación inter-ensayo para los controles bajo y alto fueron 14,7% y 8,3 respectivamente.

5.2.3. Extracción de semen y características seminales

Se colectó semen en forma quincenal 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. Para colectar el semen, se sostuvo el pene dentro de una copa de vidrio mantenida a 37° C en baño maría. Los estímulos eléctricos se aplicaron en dos etapas: una primera serie de 2 pulsos de 3 V cada 6 s, alternando con períodos de igual duración, seguida de una segunda serie de pulsos de 5 V cada 3 s, alternado con períodos de igual duración, hasta que se colectó todo el semen.

En las muestras de semen fresco se evaluó: volumen del eyaculado utilizando micropipetas, motilidad espermática de masa (MM), y motilidad espermática individual (MI, porcentaje de espermatozoides motiles progresivos) de acuerdo a Evans y Maxwell (1987).

Para la MM se utilizó una escala de 0 a 5 de acuerdo a la cantidad de remolinos y la velocidad del movimiento de los mismos sobre los límites de una gota de semen a 37°C en el microscopio de luz, a bajo aumento (40x). La MI se determinó en una preparación de semen diluido con leche descremada UHT a 37° C. En el microscopio de luz a gran aumento (400x) se determinó la proporción de espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo en varios campos de visión.

Las muestras de semen fresco se diluyeron y fijaron con formol citrato para luego determinar la concentración espermática (espermatozoides/mL) y el porcentaje de

espermatozoides con morfología anormal. La concentración espermática se calculó utilizando una cámara de Neubauer, contando los espermatozoides ubicados sobre los límites izquierdo e inferior de 5 zonas de la cámara, y aplicando la siguiente fórmula: factor de dilución x 10.000 x cantidad de espermatozoides contados en la cámara de Neubauer/5. El porcentaje de espermatozoides con morfología anormal se determinó en una muestra de 100 espermatozoides. Las muestras obtenidas durante el mes de octubre se aglutinaron, por lo que no pudieron ser evaluadas para determinar el porcentaje de espermatozoides anormales y no se incluyeron en el análisis. Además se calculó el total de espermatozoides en el eyaculado (concentración espermática x volumen del eyaculado), y a partir de este valor se calculó el total de espermatozoides motiles progresivos en el eyaculado.

5.3. *Análisis estadístico*

Todas las variables se compararon mediante ANOVA para medidas repetidas, considerando como factores principales el tratamiento (GH y GA), el tiempo (quincenas o meses según la variable) y la interacción entre ambos (programa estadístico SAS Visual Statistics, Carolina del Norte, EEUU). Los datos semanales de peso corporal, CE y concentración de testosterona se agruparon como medias quincenales, de forma que cada mes cuenta con dos valores para cada una de estas variables. Los datos quincenales de la intensidad del color de los pixeles de las ultrasonografías testiculares se agruparon en forma mensual. Los datos se expresan como media \pm error estándar (EE). Se consideró significancia estadística cuando $P \leq 0,05$, y tendencia estadística cuando $0,1 \leq P < 0,05$.

6. RESULTADOS

Los efectos principales para cada una de las variables analizadas se presentan en la Tabla 1. Todas las variables consideradas variaron de acuerdo a los meses del año ($P < 0,0001$ para todas). Como se describe detalladamente más adelante, el peso corporal y la CE no fueron diferentes entre grupos. Globalmente, la concentración de testosterona fue mayor en los chivos GA que en los GH, pero en varios momentos esta relación se invirtió y fue mayor en los chivos GH que en los GA. En general, la calidad seminal fue mejor en los chivos GH que en los GA: los chivos GH presentaron globalmente mayor MM y concentración espermática, el total de espermatozoides motiles progresivos en el eyaculado tendió a ser mayor y en varios momentos presentaron menor porcentaje de espermatozoides anormales. Por su parte, la ecogenicidad testicular fue mayor en los chivos GH que en los GA.

Tabla 1. Efectos principales del tratamiento y el tiempo, y su interacción, en chivos adultos de Gabón aislados o estimulados con señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo.

	Grupo	Tiempo	Grupo*Tiempo
Peso corporal (kg)	ns	< 0,0001	0,0001
CE (cm)	ns	< 0,0001	0,1
Ecogenicidad testicular	0,0001	< 0,0001	0,0001
Concentración de testosterona (nmol/L)	0,04	< 0,0001	< 0,0001
Semen			
Concentración espermática (spz/mL)	0,05	< 0,0001	ns
Total de spz en el eyaculado	ns	< 0,0001	ns
Spz anormales (%)	ns	< 0,0001	0,0001
MM	0,01	< 0,0001	0,01
Total de spz motiles progresivos en el eyaculado	0,1	< 0,0001	0,06

spz: espermatozoides; ns= diferencias no significativas

6.1. Peso corporal y características testiculares

El peso corporal no fue diferente entre grupos, varió de acuerdo a los meses del año ($P < 0,0001$), y hubo una interacción entre grupo y tiempo ($P < 0,0001$) (Figura 4B). Los valores más altos de peso corporal se observaron desde la segunda quincena de

octubre y hasta la segunda de abril. Las interacciones observadas se debieron a diferencias en el cambio del peso corporal entre tiempos: desde la segunda quincena de diciembre y hasta la segunda de enero, el peso corporal disminuyó en los chivos GH ($P \leq 0,05$), pero en los GA no hubo cambios significativos. Luego, en febrero, el peso corporal aumentó en los chivos GH ($P = 0,03$), pero no en los GA.

La CE no fue afectada por el grupo, varió a lo largo de los meses del año ($P < 0,0001$) y se observó una tendencia a la interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,1$) (Figura 4C). La CE presentó un patrón estacional muy similar al del peso corporal: los valores mayores se observaron desde la primera quincena de noviembre hasta finales de abril.

La ecogenicidad testicular fue menor en los chivos GH que en los GA (imágenes más oscuras en GH que en GA, Figura 4) ($118,5 \pm 5$ vs $138,1 \pm 5,5$, respectivamente, $P < 0,0001$). Además, la ecogenicidad testicular varió de acuerdo a los meses del año ($P < 0,0001$), y hubo interacción entre grupo y tiempo ($P < 0,0001$) (Figura 5D). La menor intensidad de los píxeles se observó durante junio y julio, y luego en abril y mayo del segundo año. La mayor intensidad de los píxeles se observó en setiembre y octubre. A excepción del mes de noviembre, la intensidad de los píxeles siempre fue menor en los chivos GH que en los GA.

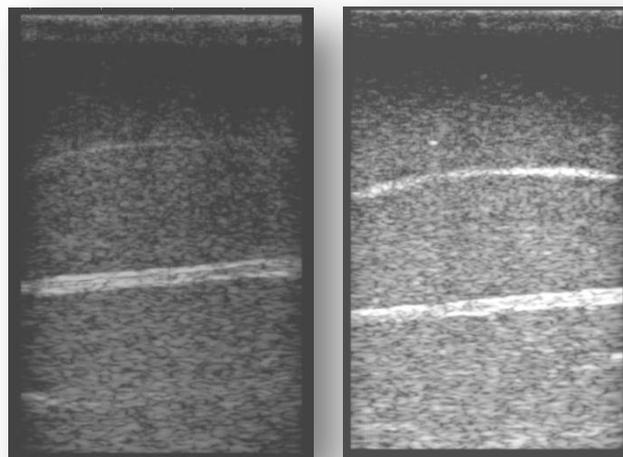


Figura 4. Ultrasonografías testiculares de chivos adultos de Gabón. La imagen de la izquierda corresponde al grupo de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo, menos ecogénica o más oscura que la imagen de la derecha, que corresponde al grupo de chivos aislados de hembras.

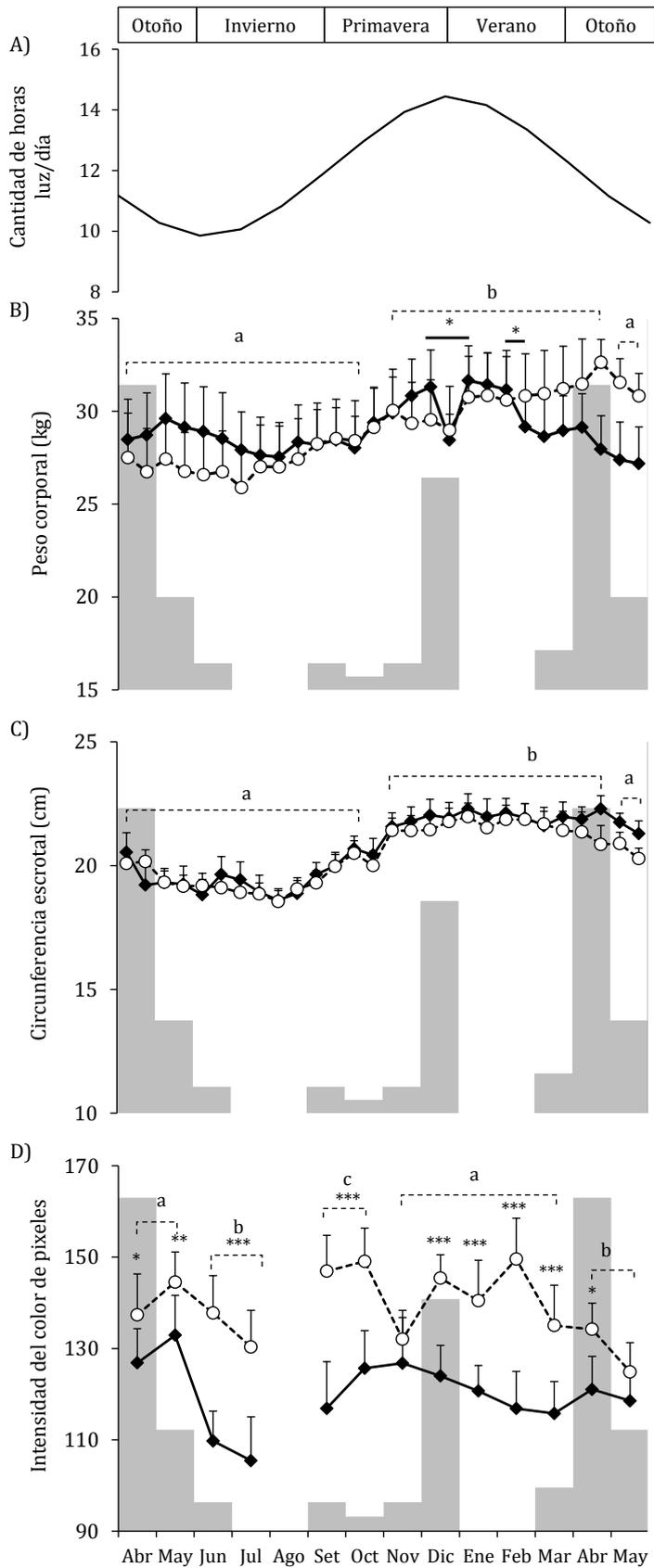


Figura 5. Cantidad de horas luz por día (A), peso corporal (B), circunferencia escrotal (C) e intensidad del color de píxeles de ultrasonografías testiculares (D) de chivos adultos de Gabón

estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo (\blacklozenge , n= 7) y de chivos aislados de éstas (\circ , n= 9). Las barras grises indican los períodos de celos fértiles estimados de hembras de Gabón de la población de origen a lo largo del año. Diferencias significativas entre tiempos se indican con letras diferentes. Diferencias significativas para un mismo tiempo y diferencias significativas en el cambio entre tiempos se indican como * (P< 0,05), ** (P< 0,01) y *** (P< 0,0001).

6.2. *Concentración de testosterona*

La concentración de testosterona fue mayor en los chivos GA que en los GH ($13,9 \pm 1,0$ nmol/L vs $9,6 \pm 0,9$ nmol/L, respectivamente, P= 0,04). A su vez, varió de acuerdo a los meses del año (P< 0,0001), y hubo interacción entre grupo y tiempo (P< 0,0001) (Figura 5B). Los valores más altos de concentración de testosterona se registraron desde enero hasta abril del segundo año. En abril (P= 0,02) y mayo (P= 0,02) del primer año, junio (P= 0,03), febrero (P< 0,0001) y abril (P= 0,002) y mayo (P= 0,04) del segundo año la concentración de testosterona fue mayor en GA que en GH.

Cuando se analizó la concentración de testosterona considerando solamente los meses de agosto a enero, período en que presentó valores basales, las concentraciones fueron mayores en GH que en GA ($6,4 \pm 2,2$ nmol/L vs $3,6 \pm 0,8$ nmol/L, respectivamente, P= 0,004) (Figura 5C).

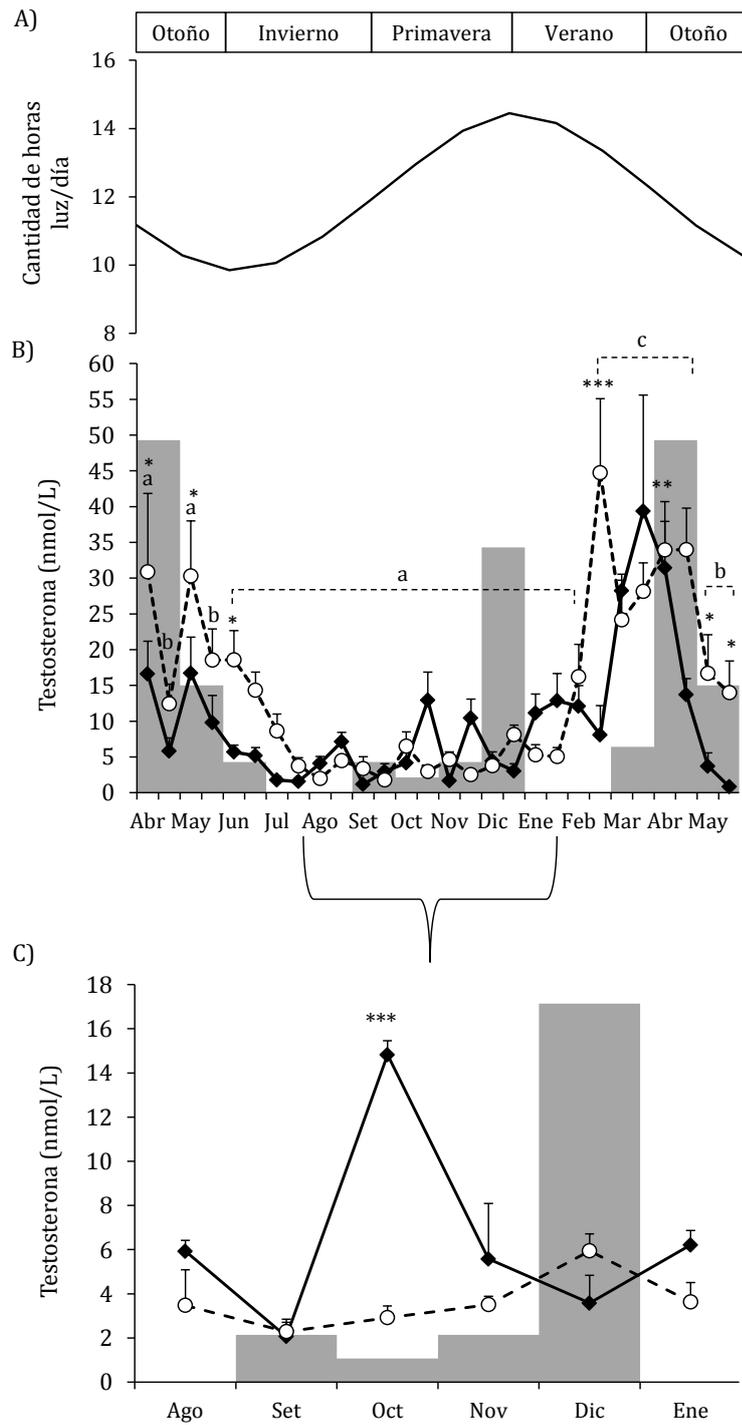


Figura 6. Cantidad de horas luz por día (A), concentración de testosterona a lo largo del año (B) y de agosto a setiembre (C) de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo (\blacklozenge , $n = 7$) y de chivos aislados de éstas ($--\circ--$, $n = 9$). Las barras grises indican los períodos de celos fértiles de hembras de Gabón de la misma población a lo largo del año. Diferencias significativas entre tiempos se indican con letras diferentes. Diferencias significativas para un mismo tiempo se indican como * ($P < 0,05$), ** ($P < 0,01$) y *** ($P < 0,0001$).

6.3. Características seminales

La concentración espermática fue mayor en los chivos GH que en los GA ($1118,2 \pm 377,6 \times 10^6$ espermatozoides/mL vs $828,3 \pm 295,9 \times 10^6$ espermatozoides/mL, respectivamente, $P= 0,05$), varió de acuerdo a los meses del año ($P < 0,0001$), y no hubo interacción entre grupo y tiempo. Los valores más altos de concentración espermática se encontraron en octubre, y desde noviembre hasta la primera quincena de enero (Figura 5B).

El total de espermatozoides en el eyaculado no fue diferente entre grupos, varió a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$), y no se observó interacción entre grupo y tiempo. Los valores más altos del total de espermatozoides en el eyaculado se encontraron desde la primera quincena de noviembre hasta la primera quincena de febrero, con el valor máximo en la segunda quincena de enero (Figura 5C).

El porcentaje de espermatozoides anormales no fue diferente entre grupos, varió de acuerdo a los meses del año ($P < 0,0001$), y se observó una interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,0001$) (Figura 5D). El porcentaje más bajo de espermatozoides anormales se observó en la primera quincena de setiembre, en la segunda quincena de enero y en la segunda quincena de abril del segundo año. En la primera quincena de setiembre ($P = 0,01$), segunda quincena de noviembre ($P = 0,02$) y diciembre ($P = 0,0004$), y durante mayo del segundo año (primera quincena $P = 0,02$, segunda quincena $P = 0,007$), el porcentaje de espermatozoides fue mayor en los chivos GA que en los GH.

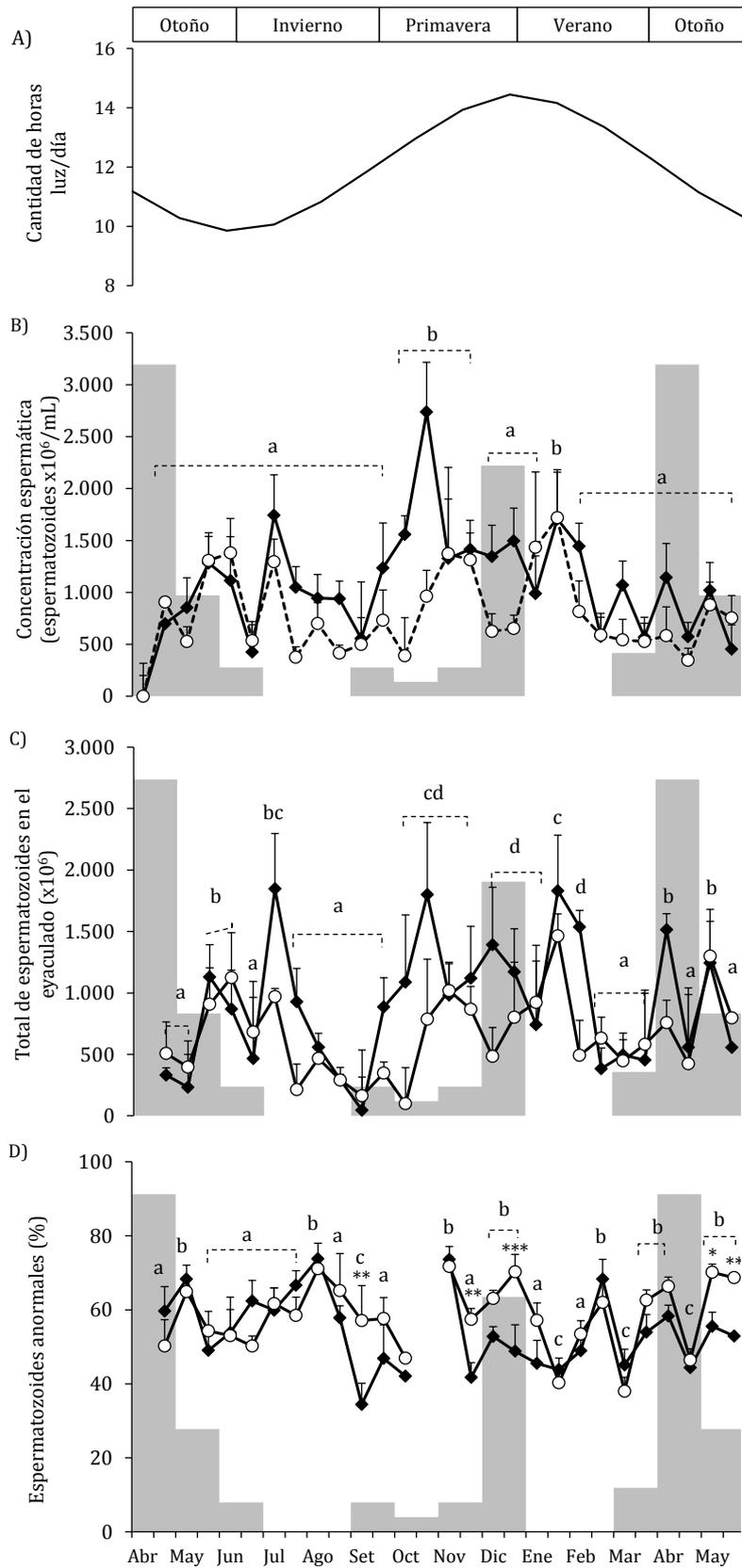


Figura 7. Cantidad de horas luz por día (A), concentración espermiática (B), total de espermatozoides en el eyaculado (C) y espermatozoides anormales (%) (D) de chivos adultos de

Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo (-♦-, n= 7) y de chivos aislados de éstas (--○--, n= 9). Las barras grises indican los períodos de celos fértiles de hembras de la misma población a lo largo del año. Diferencias significativas entre tiempos se indican con letras diferentes. Diferencias significativas para un mismo tiempo se indican como * (P< 0,05), ** (P< 0,01) y *** (P< 0,0001).

La MM fue mayor en GH que en GA ($2,5 \pm 0,6$ vs $1,6 \pm 0,4$, respectivamente, P= 0,01), varió de acuerdo a los meses del año (P< 0,0001), y se observó una interacción entre grupo y tiempo (P= 0,01) (Figura 6B). Los valores más altos de MM se observaron en julio, y desde la segunda quincena de enero hasta la segunda quincena de abril del segundo año. Los valores más bajos se registraron en la primera quincena de setiembre y a finales de mayo del segundo año. La MM fue mayor en los chivos GH que en los GA en la primera quincena de agosto (P= 0,02), durante octubre (primera quincena P= 0,0001, segunda quincena P= 0,05), en la segunda quincena de diciembre (P= 0,05) y febrero (P= 0,03), durante marzo (primera quincena P= 0,001, segunda quincena P= 0,03), en abril del segundo año (primera quincena P= 0,003, segunda quincena P= 0,02), y durante la primera quincena de mayo del segundo año (P=0,01).

El total de espermatozoides motiles progresivos en el eyaculado tendió a ser mayor en GH que en GA ($595 \pm 246 \times 10^6$ vs $368,9 \pm 163,7 \times 10^6$, respectivamente, P= 0,1), varió de acuerdo a los meses del año (P< 0,0001) (Figura 6C). El total de espermatozoides fue mayor en la segunda quincena de mayo y hasta la primera quincena de julio y desde la segunda quincena de octubre hasta la primera quincena de abril del segundo año. Los valores máximos se observaron en la segunda quincena de octubre, en la segunda quincena de enero y en la primera quincena de abril del segundo año.

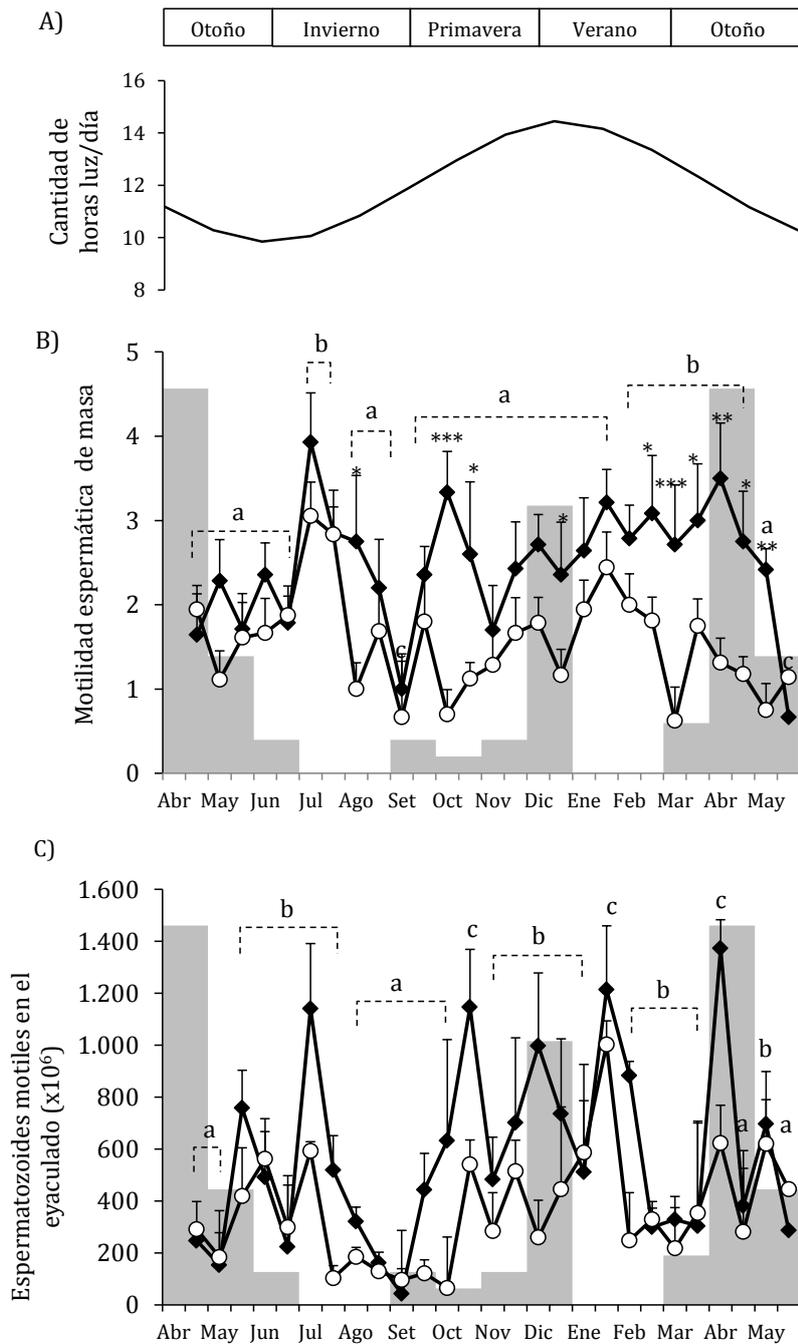


Figura 8. Cantidad de horas luz por día (A), motilidad espermiática de masa (B) y total de espermatozoides motiles en el eyaculado (C) de chivos adultos de Gabón estimulados por señales químicas, auditivas y visuales de hembras en celo (—♦—, n= 7) y de chivos aislados de éstas (---○---, n= 9). Las barras grises indican los períodos de celos fértiles de hembras de Gabón de la misma población a lo largo del año. Diferencias significativas entre tiempos se indican con letras diferentes. Diferencias significativas para un mismo tiempo se indican como * (P< 0,05), ** (P< 0,01) y *** (P< 0,0001).

7. DISCUSIÓN

A partir de los resultados se describe por primera la estacionalidad reproductiva de chivos adultos de Gabón en las condiciones climáticas del Uruguay. En nuestras condiciones los chivos adultos de Gabón presentaron un patrón reproductivo estacional poco marcado, con variaciones moderadas en la mayoría de las características reproductivas de acuerdo a los meses del año. En general, el patrón reproductivo estacional fue similar entre los chivos estimulados por hembras y los chivos aislados de éstas. Sin embargo, globalmente, la mayoría de las características reproductivas analizadas fueron mejores en los chivos estimulados por hembras: éstos tuvieron mayor concentración sérica de testosterona fuera de la estación reproductiva y durante todo el año presentaron semen de mejor calidad, y mayor cantidad de fluido testicular.

7.1. Patrón reproductivo estacional de los chivos de Gabón

El patrón reproductivo estacional moderado de los chivos de Gabón posibilita que sean capaces de reproducirse a lo largo de todo el año, aunque las características reproductivas evaluadas en general fueron mejores desde el mes de noviembre hasta el mes de abril (desde el final de la primavera hasta mediados de otoño). Dado que los chivos de Gabón son originarios de zonas tropicales es de esperar que las variaciones estacionales en las características reproductivas evaluadas sean moderadas aún cuando sean mantenidos en un ambiente con mayor variación estacional del fotoperiodo. Considerando que los partos ocurren con mayor frecuencia en los meses de setiembre y mayo, y que la duración de la gestación de los caprinos es de 5 meses, las hembras manifestaron los celos fértiles principalmente en abril (otoño) y diciembre (verano). Los machos adelantan su período de mayor actividad reproductiva respecto al momento en que las hembras comienzan a ciclar, y teniendo en cuenta que la duración de la espermatogénesis en chivos es de aproximadamente 47 días (França et al., 1999), es coherente que el período de mayor actividad de los machos se observe entre los meses de marzo-abril (otoño) y octubre-noviembre (primavera).

A pesar de que los machos podrían reproducirse a lo largo de todo el año, solamente se observan dos períodos de partos en las hembras provenientes de la

población de origen. Esto parece ser una característica inherente a la raza de Gabón, ya que el patrón anual de partos es similar al observado en otras condiciones (Oppong y Yebuah, 1981; Farm Animal Biology, 2014). La existencia de dos períodos en los que ocurren los partos indica que las hembras presentan comportamiento estral acompañado de ovulaciones fértiles en dos períodos, ya que los machos no parecen tener limitaciones para reproducirse en diferentes momentos del año. La separación entre estos períodos es muy breve, de unos dos meses en los que no se registró ningún parto, por lo que no puede ser consecuencia de la duración de la gestación, ya que si así fuera, debería ser de como mínimo 5 meses. De lo anterior se podría inferir que en la población existen dos grupos de hembras, y que uno de ellos se reproduce antes que el otro.

7.2. Efectos crónicos de la estimulación de hembras en celo sobre la actividad reproductiva de los machos

El estímulo con hembras en celo tuvo efectos positivos sobre la actividad reproductiva de los machos pese a que se minimizó el contacto físico. En carneros se ha demostrado que el hecho de que las hembras se encuentren en celo es un factor importante para desencadenar una respuesta en la actividad reproductiva de los machos, ya que las hembras en celo inducen una respuesta mayor que las que no lo están (Gonzalez et al., 1991). Además, el comportamiento estral es fundamental para desencadenar y mantener la respuesta en la actividad reproductiva de los machos también en carneros (Ungerfeld y Silva, 2004). Por otro lado, al igual que en el efecto macho, la respuesta a la presencia de hembras involucra varios tipos de señales emitidas por las hembras. Cuando se permite el contacto físico, además de las señales químicas, auditivas y visuales, intervienen las táctiles. En carneros se ha propuesto que la respuesta aguda de los machos es mayor cuando se permite el contacto físico entre machos y hembras que cuando no se lo permite (Gonzalez et al., 1988b). Pese a que en este trabajo se minimizó el contacto directo hubo una respuesta clara. Entonces, aunque el contacto físico entre machos y hembras podría maximizar la respuesta de los machos, no es necesaria para inducir cambios en los parámetros reproductivos evaluados.

Durante la estación no reproductiva, los chivos estimulados con hembras en celo presentaron mayor concentración sérica de testosterona; sin embargo, el semen fue de mejor calidad, y los chivos estimulados tuvieron mayor cantidad de fluido testicular durante todo el año. Esto se reflejó en una mayor concentración espermática, una mayor motilidad espermática de masa y un menor porcentaje de espermatozoides anormales en varios momentos y una tendencia a una mayor cantidad de espermatozoides motiles en los chivos estimulados con hembras que en los aislados de éstas, además de presentar menor ecogenicidad testicular. La testosterona es imprescindible para el establecimiento y el mantenimiento de la espermatogénesis (ver revisión: Hedger y Hales, 2006), y su concentración está relacionada positivamente con la cantidad y calidad de semen que se produce (Sun et al., 1990; Malo et al., 2009). Por lo tanto, es de esperar que cuanto mayor sea la concentración de testosterona, mayor sea la calidad del semen. Probablemente la mayor concentración de testosterona de los chivos estimulados por hembras en celo durante la estación no reproductiva fue suficiente para lograr una mejor calidad del semen durante todo el año.

Por otro lado, la mayor cantidad de fluido testicular de los chivos estimulados por hembras en celo podría asociarse a un aumento en la secreción de GnRH. En este sentido, en carneros se ha demostrado que la administración de múltiples dosis de GnRH induce un aumento de la cantidad de flujo testicular, lo que sería consecuencia de la estimulación por parte de la LH del flujo sanguíneo testicular y la permeabilidad de los capilares testiculares (Ungerfeld y Fila, 2011). Además se observó que la ecogenicidad testicular de carneros expuestos a hembras en celo también disminuye, al mismo tiempo que aumenta la concentración de testosterona (Ungerfeld y Fila, 2012). Aunque se ha observado que la ecogenicidad testicular se relaciona positivamente con la concentración de testosterona (Wu et al., 2010), en esta Tesis los chivos estimulados por hembras en celo tuvieron mayor cantidad de fluido testicular pero presentaron una menor concentración de testosterona. Una posible explicación para esta aparente paradoja -mejor calidad de semen y mayor fluido testicular a pesar de la menor concentración de testosterona- podría ser que el estímulo de las hembras determinó una mayor efectividad de la testosterona. Esto podría deberse a que la misma cantidad de testosterona produzca un impacto mayor de la sobre la producción de semen y el flujo testicular. Se ha demostrado en diversas especies de vertebrados que las señales sociales influyen sobre la expresión génica a diferentes niveles del eje hipotálamo-

hipófiso-gonadal (ver revisión: Maruska y Fernald, 2011a). Por ejemplo, cuando peces aumentan su rango jerárquico se observa un aumento de los niveles de ARNm para receptores gonadales de LH, FSH y testosterona (Maruska y Fernald, 2011b). Es decir, como consecuencia de señales sociales se modifica la expresión de genes que codifican para receptores de gonadotropinas y testosterona en los testículos. Aunque esto no ha sido determinado aún en mamíferos, algo similar podría estar ocurriendo en los animales de este trabajo. Los chivos estimulados por hembras podrían tener mayor cantidad de receptores de testosterona en los testículos, lo que podría determinar que aunque su concentración de testosterona fue menor durante la estación reproductiva, la eficacia de la espermatogénesis fuese mayor que en los chivos aislados de éstas, por lo que la producción de semen podría haber aumentado en cantidad y calidad, así como también en la cantidad de fluido testicular. Desde otro punto de vista, se podría considerar que otras hormonas, diferentes a la testosterona, podrían generar efectos positivos sobre la calidad seminal. Por ejemplo, en chivos de la raza Zairabi, la mejor calidad seminal durante el otoño fue acompañada por una alta concentración de LH (Barkawi et al., 2006). Por lo tanto, la mejor calidad seminal de los chivos estimulados por hembras podría ser consecuencia de diferencias en la concentración de otras hormonas en relación a los chivos aislados de hembras.

Por otro lado, es probable que bajo las condiciones en las que se encontraban los chivos estimulados por hembras pudiera existir un escenario posible para el desarrollo de competencia espermática. Los machos son capaces de reconocer a otros como competidores por el acceso a las hembras. Aunque la información es escasa, se ha demostrado que algunos machos de mamíferos son capaces de reconocer mediante señales químicas a machos rivales (delBarco-Trillo y Ferkin, 2004; Vaughn y Ferkin, 2011). En este sentido, machos en presencia de hembras en celo expuestos al olor de un macho rival aumentan notoriamente su comportamiento sexual hacia las hembras (Bian et al., 2013). En las especies poligínicas, como es el caso de los caprinos, el éxito reproductivo de los machos depende de la cantidad de hembras con las que se aparean (Clutton-Brock, 1989). Esta competencia por el acceso a las hembras puede ser directa, por ejemplo a través de luchas físicas con otros machos, o indirecta, a través de la competencia espermática. Cuando existe competencia espermática los machos invierten más energía en el semen, de forma de aumentar la “capacidad competitiva” del mismo (ver revisión: Parker, 1998), y esto se refleja, por ejemplo, aumentando la cantidad de

espermatozoides en el eyaculado (ver revisión: Gomendio et al., 1998). En síntesis, tanto una mayor eficacia en la espermatogénesis como una mejora en la calidad seminal a consecuencia de un posible escenario de competencia espermática podrían explicar que los chivos estimulados por hembras tuvieron mejor calidad del semen a pesar de presentar concentraciones de testosterona menores que los aislados de éstas.

Los chivos estimulados por hembras en celo presentaron una concentración de testosterona menor a los chivos aislados de éstas, lo que difiere de lo observado en otros trabajos sobre los efectos de la estimulación con hembras sobre la actividad reproductiva de los machos (Yarney y Sanford, 1983; Gonzalez et al., 1988a). En un trabajo realizado con los mismos animales y en las mismas condiciones que en esta Tesis, se observó que los chivos aislados de hembras despliegan más comportamientos sexuales, y presentan mayor concentración de testosterona que los chivos estimulados por hembras. Por lo tanto, es posible especular que la mera presencia de hembras fue suficiente para que no se desplegara el comportamiento homosexual (Ungerfeld et al., 2014). También en chivos se ha observado que machos criados aislados de hembras despliegan comportamiento homosexual con mayor frecuencia hacia machos desconocidos que los chivos criados en contacto con hembras. Es decir, para machos que han permanecido aislados de hembras, otros machos desconocidos representan un estímulo novedoso y determinan que sean reconocidos como potenciales parejas (Ungerfeld et al., 2013). Por lo tanto, en esta Tesis es posible que los chivos aislados de hembras reconozcan a los otros machos como potenciales parejas sexuales, mientras que los chivos estimulados por hembras no lo hacen. Esto probablemente suceda porque los chivos estimulados por hembras reconocen a las mismas como parejas sexuales, aunque no puedan acceder a ellas. Existen varias explicaciones posibles para estas observaciones. Por un lado, se ha demostrado ampliamente que el comportamiento sexual estimula la secreción de testosterona en los machos. Por ejemplo, la concentración de testosterona aumenta durante el cortejo (Borg et al., 1992) y luego de la eyaculación (Yarney y Sanford, 1983). Por otro lado, la libido o motivación sexual se relaciona positivamente con la concentración de testosterona (Mattner et al., 1976, citado por Wodzicka-Tomaszewska et al., 1981; Perkins et al., 1992). Además, se ha observado que los chivos que observan las actividades de apareamiento de otros chivos aumentan su motivación sexual (Price et al., 1984). Todo lo anterior podría conducir a un ciclo de retroalimentación positiva en el que chivos sexualmente motivados

estimulan más a otros chivos, aumentando tanto el despliegue del comportamiento sexual como la libido, conduciendo por tanto al aumento en la concentración de testosterona.

Al inicio del trabajo, durante aproximadamente dos meses, se observó en reiteradas ocasiones que los machos cortejaban a las hembras a través del alambrado. Aunque no se registró la frecuencia con que lo hacían, esto no se mantuvo a lo largo del trabajo. Por ello, la desaparición del comportamiento de cortejo podría reflejar la refractariedad de los machos al estímulo de las hembras. En chivos se ha demostrado que machos pre-púberes en contacto con hembras presentaron un desarrollo reproductivo más precoz que chivos aislados de hembras, pero luego de unos meses estos efectos positivos sobre la reproducción desaparecieron, posiblemente debido a que los machos se hicieron refractarios al estímulo cuando el mismo estuvo presente en forma continua (Lacuesta et al., 2014). Por lo tanto, la menor concentración de testosterona de los chivos estimulados por hembras respecto a los chivos aislados de éstas podría deberse a que los primeros se hicieron refractarios al estímulo de las hembras. Sin embargo, esta no parece ser la explicación, ya que la respuesta en la actividad reproductiva de los machos no se atenuó en el tiempo, porque por ejemplo, la concentración de testosterona fue más alta en abril del segundo año que en abril del primer año. Por otro lado, la novedad del estímulo también es importante para mantener la respuesta en la actividad reproductiva (el llamado “efecto Coolidge”): cuando machos saciados sexualmente son expuestos a hembras desconocidas, reinician la actividad copulatoria rápidamente (Thiéry y Signoret, 1978), y esto permite colectar una mayor cantidad de espermatozoides en el eyaculado (Prado et al., 2003). Es así que la falta de novedad del estímulo de las hembras en celo podría determinar que la respuesta en la concentración de testosterona de los machos estimulados por hembras en forma continua no sea tan dramática como la esperada.

La concentración de testosterona se mantuvo en niveles basales entre agosto y enero, es decir, desde el fin del invierno hasta el verano. Durante este período la concentración de testosterona fue mayor en los chivos estimulados por hembras que en los aislados de éstas, lo que coincide con el momento en que se observó la menor frecuencia de comportamiento homosexual tanto en los chivos aislados de hembras como los estimulados por éstas (Ungerfeld et al., 2014). Teniendo en cuenta lo anterior,

es posible suponer que el efecto estimulador del comportamiento sexual sobre la secreción de testosterona haya disminuido notoriamente durante este período. Por otro lado, la respuesta de los machos a la estimulación de las hembras varía en función de un patrón circadiano y estacional. La respuesta de los machos a la estimulación de las hembras es mayor al amanecer que al mediodía (Gonzalez et al., 1988a), y fuera de la estación reproductiva que durante ésta (Yarney y Sanford, 1983; Schanbacher et al., 1987). Se ha propuesto que estas variaciones en la respuesta de los machos a las hembras se deben a variaciones en la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal al estímulo social. El estímulo de las hembras inhibe la retroalimentación negativa ejercida por la testosterona sobre la secreción de LH (Gonzalez et al., 1988a), determinando que la concentración de ambas hormonas aumente. Fuera de la estación reproductiva esta inhibición sería mayor, por lo que la repuesta de la testosterona es mayor que la observada durante la estación reproductiva (Gonzalez et al., 1988a). Además, es probable que la secreción de testosterona aumente en mayor medida cuando ésta se encuentra en concentraciones basales (Yarney y Sanford, 1983). En suma, la diferencia estacional en la secreción de testosterona en respuesta a las hembras podría explicarse por ambos factores. La menor frecuencia del comportamiento sexual llevaría a mantener bajos los niveles de testosterona de los machos aislados de hembras fuera de la estación reproductiva. Sumado a lo anterior, la menor sensibilidad de la retroalimentación negativa ejercida por la testosterona sobre la LH fuera de la estación reproductiva podría explicar la mayor concentración de testosterona de los chivos en contacto con hembras.

8. CONCLUSIONES

- Los chivos adultos de Gabón presentaron un patrón reproductivo estacional leve o poco marcado.
- La actividad reproductiva fue mayor desde el mes de noviembre hasta el mes de abril (desde el final de la primavera hasta mediados de otoño), tanto en chivos adultos de Gabón estimulados continuamente por hembras en celo como en los aislados de éstas.
- Los chivos adultos de Gabón son receptivos al estímulo de las hembras en celo pese a no estar en contacto directo con las mismas y a ser estimulados durante un período prolongado.
- El contacto parcial (químico, auditivo y visual) de chivos adultos de Gabón con hembras en celo en forma continua fue suficiente para generar efectos positivos sobre las características seminales evaluadas y la cantidad de fluido testicular.
- Los chivos adultos de Gabón estimulados continuamente por hembras en celo presentaron mejor calidad seminal y mayor cantidad de fluido testicular a pesar de presentar menor concentración de testosterona que los chivos aislados de hembras.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, N., Noakes, D. E. 1995. Seasonal variations in testis size, libido and plasma testosterone concentrations in British goats. *Animal Science*, 6: 553-559.
- Ahmad, N., Noakes, D. E. 1996. Seasonal variations in the semen quality of young British goats. *British Veterinary Journal*, 152: 225-236.
- Arendt, J. 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of Reproduction*, 3: 13-22.
- Barkawi, A. H., Elsayed, E. H., Ashour, G., Shehata, E. 2006. Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, 66: 209-213.
- Barth, A. D., Oko, R. J. 1989. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Iowa State University Press, 285 pp.
- Bartness, T. J., Powers, J. B., Hastings, M. H., Bittman, E. L., Goldman, B. D. 1993. The timed infusion paradigm for melatonin delivery: What has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses? *Journal of Pineal Research*, 15: 161-190.
- Bedos, M., Flores, J. A., Fitz-Rodríguez, G., Keller, M., Malpoux, B., Poindron, P., Delgadillo, J. A. 2010. Four hours of daily contact with sexually active males is sufficient to induce fertile ovulation in anestrus goats. *Hormones and Behavior*, 58: 473-477.
- Bian, X., Liu, D., Zeng, H., Zhang, G., Wei, R. 2013. Exposure to odors of rivals enhances sexual motivation in male giant pandas. *PLoS ONE*, 8: e69889.
- Bittman, E. L., Karsch, F. J. 1984. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day length in the ewe. *Biology of Reproduction*, 30: 585-593.

- Borg, K. E., Esbenshade, K. L., Johnson, B. H. 1992. Effects of sexual experience, season, and mating stimuli on endocrine concentrations in the adult ram. *Hormones and Behavior*, 26: 87-109.
- Bronson, F. H. 1985. Mammalian reproduction: an ecological perspective. *Biology of Reproduction*, 32: 1-26.
- Bronson, F. H. 1989. Mammalian reproductive biology. The University of Chicago Press, Chicago. 324 pp.
- Bronson, F. H., Desjardins, C. 1982. Endocrine responses to sexual arousal in male mice. *Endocrinology*, 111: 1286-1291.
- Chalivoix, S., Bagnolini, A., Caraty, A., Cognié, J., Malpoux, B., Dufourny L. 2010. Effects of photoperiod on kisspeptin neuronal populations of the ewe diencephalon in connection with reproductive function. *Journal of Neuroendocrinology*, 22:110-118.
- Chemineau, P. 1986a. Sexual behavior and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity. *Reproduction, Nutrition and Development*, 26: 441-452.
- Chemineau, P. 1986b. Sexual behavior and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. II. Male mating behavior, testis diameter, ejaculate characteristics and fertility. *Reproduction, Nutrition y Development*, 26: 453-460.
- Chemineau, P. 1983. Effect on oestrus and ovulation of exposing creole goats to the male at three times of the year. *Journal of Reproduction and Fertility*, 67: 65-72.
- Chemineau, P., Daveau, A., Cognié, Y., Aumont, G., Chesneau, D. 2004. Seasonal ovulatory activity exists in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a temperate photoperiod. *BMC Physiology*, 4: 12

- Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F., Delgadillo, J. A. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Ruminant Research*, 8: 299-312.
- Chemineau, P., Delgadillo, J. A. 1993. Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. *Revista científica*, 3: 113-121.
- Chemineau, P., Martin, G. B., Saumande, J., Normant, E. 1988. Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 83:91-98.
- Claus, R., Over R., Dehnhard, M. 1990. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Animal Reproduction Science*, 22: 27-38.
- Clutton-Brock, T. H. 1989. Mammalian mating systems. *Proceedings of the Royal Society of London Series. B. Biological Science*, 236: 339-372.
- Cohen-Tannoudji, J., Lavenet, C., Locatelli, A., Tillet, Y., ignoret, J. P. 1989. Non-involvement of the accessory olfactory system in the LH response of anoestrous ewes to male odour. *Journal of reproduction and fertility*, 86: 135-144.
- Coquelin, A., Desjardins, C. 1982. Luteinizing hormone and testosterone secretion in young and old male mice. *American Journal of Physiology*, 243: E257-E263.
- Cushwa, W. T., Bradford, G. E., Stabenfeldt, G. H., Berger, Y. M., Dally, M. R. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrous ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *Journal of Animal Science*, 70: 1195-1200.
- Dacheux, J. L., Pisselet, C., Blanc, M. R., Hochereau-de-Reviers, M. T., Courot, M. 1981. Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. *Journal of Reproduction and Fertility*, 61: 363-371.

- Dairy Goat Journal, 2015. Disponible en: [http://www.dairygoatjournal.com/86-4/nigerian dwarf dairy goats/](http://www.dairygoatjournal.com/86-4/nigerian-dwarf-dairy-goats/). Fecha de consulta: 09/09/2014.
- Daramola, J. O., Adeloje, A. A., Fayeye, T. R., Fatoba, T. A., Soladoye, A. O. 2006. Influence of photoperiods with or without melatonin on spermograms in West African Dwarf Bucks. *World Journal of Zoology*, 1: 86-90.
- De Kretser, D. M., McFarlane J. R. 1996. Inhibin in the male. *Journal of Andrology*, 17: 179-182.
- delBarco-Trillo, J., Ferkin, M. H. 2004. Male mammals respond to a risk of sperm competition conveyed by odours of conspecific males. *Nature*, 431: 446-449.
- Delgadillo, J. A., Canedo, G. A., Chemineau, P., Guillaume, D., Malpaux, B. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology*, 52: 727-737.
- Delgadillo, J. A., Chemineau, P. 1992. Abolition of the seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. *Journal of Reproduction and Fertility*, 94: 45-55.
- Delgadillo, J. A., Cortez, M. E., 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. *Reproduction Nutrition and Development*, 44: 183-193.
- Delgadillo, J. A., Fitz-Rodríguez, G., Duarte, G., Véliz, F. G., Carrillo, E., Flores, J. A., Vielma, J., Hernandez, H., Malpaux, B. 2004. Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reproduction, Fertility and Development*, 16: 471-478.

- Delgadillo, J. A., Flores, J. A., Véliz, F. G., Duarte, G., Vielma, J., Hernandez, H., Fernandez, I. G. 2006. Importance of the signals provided by the buck for the success of the male effect in goats. *Reproduction, Nutrition and Development*, 46: 391-400.
- Delgadillo, J. A., Gelez, H., Ungerfeld, R., Hawken, P. A. R., Martin, G. B. 2009. The “male effect” in sheep and goats - Revisiting the dogmas. *Behavioural Brain Research*, 200: 304-314.
- Delgadillo, J. A., Leboeuf, B., Chemineau, P. 1991. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology*, 36: 755-770.
- Delgadillo, J. A., Leboeuf, B., Chemineau, P. 1992. Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by photoperiodic cycles in goats bucks. *Small Ruminant Research*, 9: 47-59.
- Delgadillo, J. A., Vielma, J., Hernandez, H., Flores, J. A., Duarte, G., Fernández, I. G., Keller, M., Gelez, H. 2012. Male goat vocalizations stimulate the estrous behavior and LH secretion in anestrus goats that have been previously exposed to bucks. *Hormones and Behavior*, 62: 525-530.
- D'Occhio, M. J., Brooks, D. E. 1982. Threshold of plasma testosterone required for normal mating activity in male sheep. *Hormones and Behavior*, 16: 383-394.
- D'Occhio, M. J., Schanbacher, B. D., Kinder, J. E., 1984. Profiles of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, testosterone and prolactin in rams of diverse breeds: effects of contrasting short (8L:16D) and long (16L:8D) photoperiods. *Biology of Reproduction*, 30: 1039-1054.
- Ezzat-Ahmed, A., Saito, H., Sawada, T., Yaegashi, T., Yamashita, T., Hirata, T. I., Sawai, K., Hashizume, T. 2009. Characteristics of the stimulatory effect of kisspeptin-10 on the secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and growth

- hormone in prepubertal male and female cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 55: 650-654.
- Evans, G., Maxwell, W. M. C. 1987. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Butterworths, Sydney, Australia. pp 194.
- Farm Animal Biology (FBN). 2014. Disponible en: <http://www1.fbn-dummerstorf.de/en/forschung/fbs/fb5/langbein/Rechearch%20Animals.htm>.
Fecha de consulta: 09/09/2014.
- Fiol, C., Ungerfeld, R. 2012. Biostimulation in cattle: stimulation pathways and mechanisms of response. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15: S29-S45.
- França, L. R., Becker-Silva, S. C., Chiarini-Garcia, H. 1999. The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). *Tissue & Cell*, 31: 274-280.
- Geist, V. 1964. On the rutting behavior of the mountain goat. *Journal of Mammology*, 45: 551-568.
- Gelez, H., Fabre-Nys, C. 2004. The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Hormones and Behavior*, 46: 257-271.
- Geytenbeek, P. E., Oldham, C. M., Gray, S. J. 1984. The induction of ovulation in the post-partum ewe. *Proceeding of the Australian Society of Animal Production*, 15: 353-356.
- Gomendio, M., Harcourt, A. H., Roldan, E. R.S. 1998. Sperm competition in mammals. En: Birkhead, T. R., Møller, A. P. (Eds.), *Sperm Competition and Sexual Selection*. Academic Press. London. Pp 667-751.

- Gomendio, M., Martin-Coello, J., Crespo, C., Magña, C., Roldan, E. R. S. 2006. Sperm competition enhances functional capacity of mammalian spermatozoa. *PNAS*, 103: 15113-15117.
- Gonzalez, R., Poindron, P., Signoret, J. P. 1988a. Temporal variation in LH and testosterone responses of rams after the introduction of oestrous females during the breeding season. *Journal of Reproduction and Fertility*, 82:201-208.
- Gonzalez, R., Orgeur, P., Signoret, J. P. 1988b. Luteinizing hormone, testosterone and cortisol responses in rams upon presentation of estrous females in the nonbreeding season. *Theriogenology*, 30: 1075-1086.
- Gonzalez, R., Orgeur, P., Poindron, P. Signoret, J. P. 1991. Female effect in sheep. I. The effects of sexual receptivity of females and the sexual experience of rams. *Reproduction Nutrition and Development*, 31: 97-102.
- Griswold, M. D., McLean, D. 2006. The Sertoli Cell. En: Knobil and Neill's physiology of reproduction. Vol 1. 3a ed. Neill JD (Ed). Elsevier Academic Press. Missouri, EEUU. pp 949-976.
- Grubb, P., Jewell, P. A. 1973. The rut and the occurrence of oestrus in the Soay sheep on St Kilda. *Journal of Reproduction and Fertility*, 19: 491-502.
- Grunt, J. A., Young, W. C. 1952. Differential reactivity of individuals and the response of the male guinea pig to testosterone propionate. *Endocrinology*, 5: 237-248.
- Hamada, T., Nakajima, M., Takeuchi, Y., Mori, Y. 1996. Pheromone-induced stimulation of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator in ovariectomized, estrogen-primed goats. *Neuroendocrinology*, 64:313-319.
- Hammoudi, S. M., Aït-Amrane, A., Belhamiti, T. B., Khiati, B., Niar, A., Guetarni, D. 2010. Seasonal variations of sexual activity of local bucks in western Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 9: 362-368.

- Hawken, P. A. R., Beard, A. P. 2009. Ram novelty and the duration of ram exposure affects the distribution of mating in ewes exposed to rams during the transition into the breeding season. *Animal Reproduction Science*, 111:249-60.
- Hawken, P. A. R., Beard, A. P., Esmaili, T., Kadokawa, H., Evans, A. C. O., Blache, D., Martin, G. B. 2007. The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH secretion in cyclic ewes during the breeding season. *Theriogenology*, 68: 56-66.
- Hawken, P. A. R., Esmaili, T., Jorre de St Jorre, T., Martin, G. B. 2009a. Do cyclic female goats respond to males with an increase in LH secretion during the breeding season? *Animal Reproduction Science*, 112: 384-389.
- Hawken, P. A. R., Esmaili, T., Scanlan, V., Blache D., Martin, G. B. 2009b. Can audio-visual or visual stimuli from a prospective mate stimulate a reproductive neuroendocrine response in sheep? *Animal*, 3: 690-696.
- Hedger, M. P., Hales, D. B. 2006. Immunophysiology of the Male Reproductive Tract. En: Neill, J. D. Knobil and Neill's physiology of reproduction. 3^o Ed. London, Elsevier. 1195-1286 Pp.
- Hiroe, K., Tomizuka, T. 1965. Effects of nutrition on the characteristics of goat semen. *Bulletin of the National Institute of Animal Industries*, 8: 17-24.
- Holmes, R. J. 1986. Sexual behaviour of sheep, current therapy in theriogenology. En: Morrow, D. A. (Ed.). *Diagnosis, treatment and prevention of reproduction diseases in small and large animals*. Vol. 2. WB Saunders Co. Philadelphia, pp 870-873.
- Hötzel, M. J., Caraty, A., Martin, G. B. 1997. Effects of nutrition on testicular growth in mature Merino rams actively immunized against GnRH. *Journal of Reproduction and Fertility*, 110: 307-313.

- Hötzel, M. J., Walkden-Brown, S. W., Fisher, J. S., Martin, G. B. 2003. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: responses to a nutritional stimulus in the breeding and non-breeding seasons. *Reproduction, Fertility and Development*, 15: 1-9.
- Howland, B. E., Sanford, L. M., Palmer, W. M. 1985. Changes in the serum levels of LH, FSH, prolactin, testosterone and cortisol associated with season and mating in male pygmy goats. *Journal of Andrology*, 6: 89-96.
- Hughes, P.E., Thorogood, K.L. 1999. A note on the effects of contact frequency and time of day of boar exposure on the efficacy of the boar effect. *Animal Reproduction Science*, 57: 121-124.
- Ichimaru, T., Takeuchi, Y., Mori, Y. 1999. Stimulation of the GnRH pulse generator activity by continuous exposure to the male pheromones in the female goat. *Journal of Reproduction and Development*, 45: 243-248.
- Illius, A. W., Haynes, N. B., Lamming, G. E. 1976. Effects of ewe proximity on peripheral plasma testosterone levels and behaviour in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility*, 48: 25-32.
- Irwing, M. S., Fraley, G. S., Smith, J. T., Acohido, B. V., Popa, S. M., Cunningham, M. J., Gottsch, M. L., Clifton, D. K., Steiner, R. A. 2004. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology*, 80: 264-272.
- Iwata, E., Wakabayashi, Y., Kakuma, Y., Kikusui, T., Takeuchi, Y., Mori, Y. 2000. Testosterone-dependent primer pheromone production in the sebaceous gland of male goat. *Biology of Reproduction*, 62: 806-810.
- Jeong, K. H., Kaiser, U. B. 2006. Gonadotropin-releasing hormone regulation of gonadotropin biosynthesis and secretion. En: Knobil and Neill's physiology of

- reproduction. Vol 1. 3a ed. Neill JD (Ed). Elsevier Academic Press. Missouri, EEUU. pp 1635-1701.
- Jorre de St Jorre, T., Hawken, P. A. R., Martin, G. B. 2012. Role of male novelty and familiarity in male-induced LH secretion in female sheep. *Reproduction Fertility and Development*, 24: 523-530.
- Kafi, M., Safdarian, M., Hashemi, M. 2004. Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Research*, 53: 133-139.
- Karagiannidis, A., Varsekeli, S., Karatzas, G. 2000. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology*, 53: 1285-1293.
- Karsch, F. J., Bittman, E. L., Foster, D. L., Goodman, R. L., Legan, S. J., Robinson, J. E. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormonal Research*, 40: 185-232.
- Khanum, S. A., Hussain, M., Kausar, R. 2006. Manipulation of estrous cycle in Dwarf goat (*Capra hircus*) using estrumate under different management conditions. *Animal Reproduction Science*, 92: 97-106.
- Knight, T.W., Lynch, P.R. 1980. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Animal Reproduction Science*, 3: 133-136.
- Lacuesta, L., Orihuela, A., Ungerfeld. R. 2014. Reproductive development of male goat kids reared with or without permanent contact with adult females until 10 mo of age. *Theriogenology*. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.09.001.
- Legan, S. J., Karsch, F. J. 1980. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: modulation of the negative feedback action of estradiol. *Biology of Reproduction*, 23: 1061-1068.

- Langford, G. A., Sanford, L. M., Marcus, G. J. Shrestha, J. N. B. 1999. Seasonal cyclic pituitary and testicular activities in rams. *Small Ruminant Research*, 33: 43-53.
- Lincoln, G.A., Davidson, W. 1977. The relationship between sexual and aggressive behaviour and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams and the influence of photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility*, 49: 267-276.
- Lincoln, G. A., Maeda, K. I. 1992. Reproductive effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area in rams. *Journal of Endocrinology*, 132: 201-215.
- Lincoln, G. A., Short, R. V. 1980. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Progress in Hormonal Research*, 36:1-52.
- Lincoln, G. A., Guinness, F., Short, R. V. 1972. The way in which testosterone controls the social and sexual behavior of the red deer stag (*Cervus elaphus*). *Hormones and Behavior*, 3: 375-396.
- Malo, A. F., Roldan, E. R. S., Garde, J. J., Soler, A. J., Vicente, J., Gortazar, C., Gomendio, M. 2009. What does testosterone do to red deer males? *Proceedings of the Royal Society of London Series. B. Biological Science*, 276: 971-980.
- Malpoux, B. 2006. Seasonal regulation of reproduction in mammals. En: Knobil and Neill's physiology of reproduction. Vol 2. 3a ed. Neill JD (Ed). Elsevier Academic Press. Missouri, EEUU. pp 2231-2281.
- Malpoux, B., Daveau, A., Maurice-Mandon, F., Duarte, G., Chemineau, P. 1998. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by *in situ* microimplant delivery. *Endocrinology*, 139: 1508-1516.

- Malpaux, B., Daveau, A., Maurice, F., Gayrard, V., Thiéry, J. C. 1993. Short days effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus. *Biology of Reproduction*, 48: 752-60.
- Malpaux, B., Migaud, M., Tricoire, H., Chemineau, P. 2001. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *Journal of Biological Rhythms*, 16: 336-347.
- Martin, G. B., Hötzel, M. J., Blache, D., Walkden-Brown, S. W., Blackberry, M. A., Boukhliq, R., Fisher, J. S., Miller, D. W. 2002. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of responses to photoperiod by an annual cycle in food supply. *Reproduction, Fertility and Development*, 14: 165-175.
- Martin, G. B., Milton, J. T. B., Davidson, R. H., Banchemo Hunzicker, G. E., Lindsay, D. R., Blache, D. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 82:231-245.
- Martin, G. B., Oldham, C. M., Cognié, Y., Pearce, D. T. 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams—a review. *Livestock Production Science*, 15: 219-247.
- Martin, G. B., Scaramuzzi, R. J., Lindsay, D. R. 1983. Effect of the introduction of ram during the anoestrous season on the pulsatile secretion of LH in ovariectomized ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 67: 47-55.
- Maruska, K. P., Fernald, R. D. 2011a. Social regulation of gene expression in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Physiology*, 26:412-423.
- Maruska, K. P., Fernald, R. D. 2011b. Plasticity of the reproductive axis caused by social status change in an African cichlid fish: II. Testicular gene expression and spermatogenesis. *Endocrinology*, 152: 291-302.

- Matsuyama, S., Ohkura, S., Mogi, K., Wakabayashi, Y., Mori, Y., Tsukamura, H., Maeda, K. I., Ichikawa, M., Okamura, H. 2011. Morphological evidence for direct interaction between kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone neurons at the median eminence of the male goat: an immunoelectron microscopic study. *Neuroendocrinology*, 94: 323-332.
- Menchaca, A., Ungerfeld, R. 2010. Fisiología reproductiva de la hembra ovina y caprina. *La revista del borrego*, 66.
- Muduuli, D. S., Sanford, L. M., Palmer, W. M., Howland, B. E. 1979. Secretory patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the male pygmy goat. *Journal of Animal Science*, 49: 543-553.
- O'Donnell, L., Meachem, S. J., Stanton, P. G., McLachlan, R. I. 2006. Endocrine regulation of spermatogenesis. En: Knobil and Neill's physiology of reproduction. Vol 1. 3a ed. Neill JD (Ed). Elsevier Academic Press. Missouri, EEUU. pp 1017-1069.
- Okamura, H., Murata, K., Sakamoto, K., Wakabayashi, Y., Ohkura, S., Takeuchi, Y., Mori, Y. 2010. Male effect pheromone tickles the gonadotrophin-releasing hormone pulse generator. *Journal of neuroendocrinology*, 22: 825-832.
- Oldham, C. M., Gray, S. J. 1984. The ram effect will advance puberty in 9 to 19 month old Merino ewes independent of their season of birth. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 15: 727.
- Oppong, E. N. W., Yebuah, N. M. N. 1981. Some production traits of the West African Dwarf goat. *Tropical Animal Health and Production*, 13: 208-212.
- Ortavant, R., Pelletier, J., Ravault, J. P., Thimonier, J., Volland-Nail, P. 1985. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, 7: 305-345.

- Parker, G. A. 1998. Sperm competition and the evolution of ejaculates: towards and theory base. En: Sperm competition and sexual selection. Birkhead, T. M., Møller, A. P. (Eds). Academic Press. London. Pp 3-49.
- Pearce, G. P., Oldham, C. M. 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*, 84: 333-339.
- Perkins, A., Fitzgerald, J. A., Price, E. O. 1992. Luteinizing hormone and testosterone response of sexually active and inactive rams. *Journal of Animal Science*, 70: 2086-2093.
- Poindron, P., Cognie, Y., Gayerie, F., Orgeur, P., Oldham, C. M., Ravault, J. P. 1980. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiology & Behavior*, 25: 227-236.
- 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.
- Price, E. O., Smith, V. M., Katz, L. S. 1984. Sexual stimulation of male dairy goats. *Applied Animal Behaviour Science*, 13: 83-92.
- Rahman, H. A., Kandil, A. H. A. 1984. Seasonal variations in mating behaviour of male goats in association with some semen characteristics. *Minutia Journal of Agricultural Research*, 9: 257-270.
- Rekwot, P I., Ogwu, D., Oyedipe, E. O., Sekoni, V. O. 2001. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, 65: 157-170.

- Rivera, G. M., Alanis, G. A., Chaves, M. A., Ferrero, S. B., Morello, H. H. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Ruminant Research*, 48:109-117.
- Roca, T., Martinez, E., Vazquez, J. M., Coy, P. 1992. Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area. *Animal Reproduction Science*, 29: 255-262.
- Saito, H., Sawada, T., Yaegashi, T., Goto, Y., Jin, J., Sawai, K., Hashizume, T. 2012. Kisspeptin-10 stimulates the release of luteinizing hormone and testosterone in pre- and post-pubertal male goats. *Animal Science Journal*, 83: 487-492.
- Schanbacher, B. D., Ford, D. 1977. Gonadotropin secretion in cryptorchid and castrate rams and the acute effects of exogenous steroid treatment. *Endocrinology*, 100: 387-393.
- Schanbacher, B. D., Lunstra, D. D. 1976. Seasonal changes in sexual activity and serum levels of lh and testosterone in finish landrace and Suffolk rams. *Journal of Animal Science*, 43: 644-650.
- Schanbacher, B. D., Orgeur, P., Pelletier, J., Signoret, J. P. 1987. Behavioural and hormonal responses of sexually-experienced Ile-de-France rams to oestrous females. *Animal Reproduction Science*, 14: 293-300.
- Shackleton, D. M., Shank, C. C. 1984. A review of the social behavior of feral and wild sheep and goats. *Journal of Animal Science*, 58: 500-509.
- Shelton, M. 1960. Influence of the presence of a male goat on the initiation of estrous cycling and ovulation of Angora does. *Journal of Animal Science*, 19: 368-375.
- Signoret, J. P. 1991. Sexual pheromones in the domestic sheep: importance and limits in the regulation of reproductive physiology. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 39: 639-645.

- Signoret, J. P., Fulkerson, W. J., Lindsay, D. R. 1982. Effectiveness of testosterone treated wethers and ewes as teasers. *Applied Animal Ethology*, 9: 37-45.
- Smith, J. T., Hawken, P. A. R., Lehman, M. N., Martin, G. B. 2014. The role of kisspeptin in reproductive function in the ewe. En: *Reproduction in domestic ruminants VIII*. Juengel J. L., Miyamoto A., Price C., Reynolds L. P., Smith M. F., Webb R. (Eds). Context Products, Leicestershire, Inglaterra. Pp 105-116.
- Smith, J. T., Li, Q., Pereira, A., Clarke, I. J. 2009. Kisspeptin neurons in the ovine arcuate nucleus and preoptic area are involved in the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology*, 150: 5530-5538.
- Smith, J. T., Li, Q., Yap, K. S., Shahab, M., Roseweir, A. K., Millar, R. P., Clarke, I. J. 2011. Kisspeptin is essential for the full preovulatory LH surge and stimulates GnRH release from the isolated ovine median eminence. *Endocrinology*, 152: 1001-1012.
- Stankov, B., Cozzi, B., Lucini, V., Scaglione, F., Fraschini, F. 1991. Characterization and mapping of melatonin receptors in the brain of three mammalian species: rabbit, horse and sheep. *Neuroendocrinology*, 53:214-221.
- Stocco, D. M., McPhaul, M. J. 2006. Physiology of testicular steroidogenesis. En: *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. Vol 1. 3a ed. Neill JD (Ed). Elsevier Academic Press. Missouri, EEUU. pp 977- 1016.
- Sumberg, J. E., Mack, S. D. 1985. Village production of West African Dwarf goats and sheep in Nigeria. *Tropical animal Health and Production*, 17: 135-140.
- Sun, Y. T., Irby, D. C., Robertson, D. M., De Kretser, D. M. 1990. The effects of exogenously administered testosterone on spermatogenesis in intact and hypophysectomized rats. *Endocrinology*, 125: 1000-1010.

The Pygmy Goat Club, 2014. Disponible en: <http://www.pygmygoatsireland.com/breed-info.html>. Fecha de consulta: 09/09/2014.

The weather channel. 2014. Disponible en: <http://espanol.weather.com/climate/sunRiseSunSet/Montevideo+MO+Uruguay+UYXX0006:1:UY>. Fecha de consulta: 20/10/2014.

Thiéry, J.C., Signoret, J. P. 1978. Effect of changing the teaser ewe on the sexual activity of the ram. *Applied Animal Ethology*, 4: 87-90.

Thiéry, J. C., Chemineau, P., Hernandez, X., Migaud, M., Malpoux, B. 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Animal endocrinology*, 23:87-100.

Tilbrook, A. J., Clarke, I. J. 2001. Negative feedback regulation of the secretion and actions of GnRH in male ruminants. *Biology of Reproduction*, 64: 735-742.

Tilbrook, A. J., De Kretser, D. M., Clarke, I. J. 1993. Human recombinant inhibin A suppresses plasma follicle-stimulating hormone to intact levels but has no effect on luteinizing hormone in castrated rams. *Biology of Reproduction*, 49: 779-788.

Todini, L., Malfatti, A., Terzano, G. M., Borghese, A., Pizzillo, M. Debenedetti, A. 2007. Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in different climatic condition. *Theriogenology*, 67: 627-631.

Underwood, E. J., Shier, F. L., 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. *Journal of Agriculture Western Australia*, 11: 135-143.

Ungerfeld, R. 2007. Socio-sexual signaling and gonadal function: opportunities for reproductive management in domestic ruminants. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 64: 207-221.

- Ungerfeld, R., Canabal, M. 2014. Internal architecture of pampas deer antlers differs in males allocated with and without females. *Acta Theriologica*, 59: 347-351.
- Ungerfeld, R., Damián, J. P., Villagrán, M., González-Pensado, S. X., 2009. Female effect on antlers of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Canadian Journal of Zoology*, 87: 734-739.
- Ungerfeld, R., Fila, D. 2011. Testicular fluid content evaluated by ultrasound image computer-assisted analysis increases with small-dose multiple GnRH injections in rams. *Reproduction in Domestic Animals*, 46: 720-723.
- Ungerfeld, R., Fila, D. 2012. Testicular fluid content and scrotal surface temperature increase with rams' sexual activity. *Reproduction in Domestic Animals*, 47: e56-e58.
- Ungerfeld, R., Giriboni, J., Freitas-de-Melo, A., Lacuesta, L. 2014. Homosexual behavior in male goats is more frequent during breeding season and in bucks isolated from females. *Hormones and Behavior*, 65: 516-520.
- Ungerfeld, R., Rubianes, E. 1999. Estrus response to the ram effect in Corriedale ewes primed with medroxyprogesterone during the breeding season. *Small Ruminant Research*, 32: 89-91.
- Ungerfeld, R., Silva, L. 2004. Ewe effect: endocrine and testicular changes in experienced adult and inexperienced Young Corriedale rams used for the ram effect. *Animal Reproduction Science*, 80: 251-259.
- Ungerfeld, R., Lacuesta, L., Damián, J. P, Giriboni, J. 2013. Does heterosexual experience matter for bucks' homosexual mating behavior? *Journal of Veterinary Behavior*, 8: 471-474.

- Vaughn, A. A., Ferkin, M. H. 2011. The presence and number of male competitor's scent marks and female reproductive state affect the response of male meadow voles to female conspecifics' odours. *Behaviour*, 148: 927-943.
- Véliz, F. G., Moreno, S., Duarte, G., Vielma, J., Chemineau, P., Poindron, P., Malpaux, B., Delgadillo, J. A. 2002. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. *Animal Reproduction Science*, 72: 197-207.
- Viguie, C., Locatelli, A., Caraty, A., Malpaux, B. 1995. Regulation of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) secretion by a short-day like melatonin treatment in the ewe: I. Simultaneous delayed increase in LHRH and LH pulsatile secretion. *Biology of Reproduction*, 52: 1114-1120.
- Villagrán, M., Ungerfeld, R. 2013. Permanent contact with females increases testosterone and improves fresh semen traits in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) males. *Animal Reproduction Science*, 143: 85-90.
- Walkden-Brown, S. W., Bocquier, F. 2000. Nutritional regulation of reproduction in goats. En: *Proceedings of the 7th International Conference on Goats*, Vol. 1, 389-395 pp.
- Walkden-Brown, S. W., Martin, G. B. Restall, B. J. 1999. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 52: 243-257.
- Walkden-Brown, S. W., Restall, B. J., Henniawati. 1993a. The male effect in Australian cashmere goats. 2: role of olfactory cues from the male. *Animal Reproduction Science*, 32: 55-67.
- Walkden-Brown, S. W., Restall, B. J., Henniawati. 1993b. The male effect in Australian cashmere goats. 3: enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. *Animal Reproduction Science*, 32: 69-84.

- Walkden-Brown, S. W., Restall, B. J., Norton, B. W., Scaramuzzi, R. J., Martin, G. B. 1994a. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 102: 351-360.
- Walkden-Brown, S. W., Restall, B. J., Norton, B. W., Scaramuzzi, R. J. 1994b. The “female effect” in Australian cashmere goats: effect of season and quality diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrous does. *Journal of Reproduction and Fertility*, 100: 521-531.
- Walkden-Brown, S. W., Restall, B. J., Scaramuzzi, R. J., Martin, G. B., Blackberry, M. A. 1997. Seasonality in male Australian cashmere goats: Long term effects of castration and testosterone or oestradiol treatment on changes in LH, FSH and prolactin concentrations, and body growth. *Small Ruminant Research*, 26: 239-252.
- Walker, W. H. 2003. Nongenomic actions of androgen in Sertolli cells. *Current Topics in Developmental Biology*, 56: 25-53.
- Whitten, W. K. 1959. Occurrence of anoestrus in mice caged in groups. *Journal of Endocrinology*, 18: 102-107.
- Wilson, R. T. 1991. Small ruminant production and the small ruminant genetic resource in tropical Africa. *FAO Animal Production and Health paper*. 181 pp.
- Wodzicka-Tomaszewska, M., Kilgour, R., Ryan, M. 1981. “Libido” in the larger farm animals: a review. *Applied Animal Ethology*, 7: 203-238.
- Wu, H. P., Hao, Y. J., Li, X., Zhao, Q. Z., Chen, D. Q., Kuang, X. A., Kou, Z. B., Feng, K. K., Gong, W. M., Wang, D. 2010. B-Mode ultrasonographic evaluation of the testis in relation to serum testosterone concentration in male Yangtze finless porpoise

(*Neophocaena phocaenoides asiaeorientalis*) during the breeding season. *Theriogenology*, 73: 383-391.

Yarney, T. A., Sanford, L. M. 1983. The reproductive-endocrine response of adult rams to sexual encounters with estrual ewes is season dependent. *Hormones and Behavior*, 17: 169-182.