

El tipo de alojamiento no disminuye la respuesta ovulatoria en hembras criollas anéstricas expuestas al macho cabrío foto-estimulado durante la primera vez

Ilda Graciela Fernández García^{1*}, Francisco Javier González Romero¹, Raúl Ulloa Arvizu² y María Jesús Palomo Peiró³

Resumen. En el presente estudio se investigó el nivel de actividad ovulatoria en las cabras criollas anéstricas, tanto las alojadas en grupo como las alojadas individualmente, expuestas a machos foto-estimulados durante el primer contacto, con el fin de detectar posibles diferencias. Los machos ($n = 10$) recibieron tratamiento fotoperiódico de días largos artificiales (16 h de luz/día y 8 h de oscuridad/día) por 2.5 meses. Las cabritas criollas ($n = 20$) se destetaron a los 40 días de edad y se separaron en dos grupos de 10 cada uno. El primero fue puesto en un corral; del segundo, cada hembra fue puesta en un corral individual. En marzo (a los 15 meses de edad) cada grupo de hembras fue puesto en contacto con un macho por 15 días. Éstos mostraron más aproximaciones y olfateos anogenitales con las hembras individuales, en comparación con las hembras en grupo ($P < 0.05$). Las ovulaciones fueron similares entre las hembras en grupo (100%) y las individuales (100%) ($P > 0.05$). Se concluye que el tipo de alojamiento no afectó negativamente la actividad ovulatoria en las cabras criollas anéstricas durante el primer contacto con el macho cabrío foto-estimulado.

Palabras clave: Caprinos; Efecto macho; Anestro; Señales sensoriales; Fotoperiodo.

¹ Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA). Post-grado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coahuila, México.

² Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, México.

³ Departamento de Medicina y Cirugía Animales, Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España.

* Autor de Correspondencia: e-mail: ilda_fernandez_garcia@yahoo.com.mx.

In the present study, we investigated whether group-housed anestrus creole females show higher ovulatory activity than individually housed anestrus creole females exposed to photo-stimulated male goats during first contact. Males (n = 10) received artificial long day photoperiod treatment (16 h of light/day and 8 h of darkness/day) for 2.5 months. Creole females (n = 20) were weaned at 40 days of age and were separated into two groups of 10 each. One group was placed in a pen and the other, each female was placed in an individual pen. In March, at 15 months of age, each group of females was placed in contact with a male for 15 days. Males showed more anogenital sniffing and nudging toward individual females than group females ($P < 0.05$). Ovulations were similar between group females (100%) and individual females (100%) ($P > 0.05$). It is concluded that the type of housing did not negatively affect ovulatory activity in anestrus creole females during the first contact with the photo-stimulated male goat.

Keywords: Goats; Male effect; Anestrus; Sensory signals; Photoperiod.

INTRODUCCIÓN

El aislamiento social es un factor altamente estresante que induce la secreción de cortisol (Hawkley *et al.*, 2012). Una de las consecuencias del aislamiento social de las hembras es la disminución en la actividad ovulatoria, al igual que la disminución en la expresión del comportamiento sexual, comparado con las hembras alojadas en grupo social (Blanchard *et al.*, 2001). Por ejemplo, grupos de hembras ovinas Ile-de-France en contacto restringido con el carnero durante su crecimiento, muestran baja respuesta reproductiva durante el primer contacto con el carnero sexualmente activo (Chanvallon *et al.*, 2010); mientras que grupos de hembras caprinas criollas anéstricas, en contacto restringido con el macho cabrío durante su crecimiento, muestran alta respuesta estral y ovulatoria cuando son expuestas a machos cabríos foto-estimulados (Fernández *et al.*, 2021). De hecho, las especies sociales que son alojadas en grupo sienten seguridad y protección dentro de él, en cambio los animales alojados individualmente son más vulnerables al medio ambiente que los rodea y, en caso de encontrarse solos, es más factible que se conviertan en presas para los depredadores (Hawkley *et al.* 2012). El objetivo del presente estudio fue determinar si las cabras criollas anéstricas, alojadas en grupo, muestran mayor actividad ovulatoria comparadas con las cabras criollas anéstricas alojadas en corral individual durante el primer contacto con el macho cabrío foto-estimulado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Nota ética

Todos los procedimientos realizados en el presente estudio se llevaron a cabo de acuerdo con el protocolo de la Ley de la Protección y Trato Digno de Animales para el Estado de Coahuila de Zaragoza (Congreso del Estado Independiente, Libre y Soberano de Coahuila de Zaragoza, 2013), que proporciona especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de experimentación.

Lugar del estudio

La investigación se llevó a cabo en el ejido Ricardo Flores Magón, municipio de Torreón, Coahuila de Zaragoza, México; forma parte de la Comarca Lagunera que se ubica a 25°23'N, 104°47'W, a una altitud de 1200 msnm, el clima predominante es semiárido, la temperatura máxima en primavera puede llegar a los 44.8 °C y la temperatura mínima durante el invierno es de -1 °C (Conagua, 2019). En la Comarca Lagunera, los machos están en reposo sexual natural de enero a mayo, y las hembras aisladas de machos están en anestro estacional de enero-febrero a agosto-septiembre (Delgadillo *et al.*, 1999; Duarte *et al.*, 2008).

Tratamiento fotoperiódico aplicado a los machos

Se utilizaron diez machos cabríos criollos de aproximadamente dos años, con experiencia sexual (*Capra hircus*). Los machos fueron sometidos a un tratamiento fotoperiódico de días largos artificiales (16 h de luz/día y 8 h de oscuridad/día; Figura 1), del 1 de noviembre al 16 de enero, posteriormente percibieron los días naturales (Delgadillo *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2022). Los corrales donde se alojaron los machos cabríos fueron equipados con lámparas fluorescentes de 75 watts cada una. Se comprobó que la intensidad luminosa en el corral fue de al menos 300 lux a nivel de los ojos de los machos. Las lámparas fueron programadas para encenderse automáticamente de las 06:00 a las 09:00 h; posteriormente, se volvían a encender de las 17:00 h a las 22:00 h, con ello se proporcionó 16 h luz y 8 h oscuridad. Así, los machos recibieron 2.5 meses de días largos artificiales. A partir del 16 de enero los machos sólo recibieron las variaciones de la luz natural.

Los machos fueron alimentados con heno de alfalfa (21% proteína bruta, 1,95 Mcal/kg de EM) *ad libitum* y 300 g de concentrado comercial (14% proteína bruta, 2,5 Mcal/kg de EM) al día, por macho.

Figura 1. Machos cabríos criollos sometidos a tratamiento fotoperiódico artificial de días largos artificiales (16 h de luz/día y 8 h de oscuridad/día) por 2.5 meses, del 1 de noviembre al 16 de enero, posteriormente los machos percibieron el fotoperiodo natural. El tratamiento fotoperiódico se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna



Descripción de las hembras criollas anéstricas

Las cabritas criollas ($n = 20$) se destetaron a los 40 días de edad, y de 8.0 ± 0.33 kg de peso corporal. Se separaron en dos grupos de 10 hembras cada uno. El primero fue alojado

en un solo corral (5 x 8 m; Figura 2); en el segundo, cada hembra fue alojada en un corral individual (2 x 1.5 m; Figura 3). Las hembras se aislaron de señales sensoriales de machos durante su crecimiento. Los dos grupos de hembras se encontraban separados por 250 m para evitar contacto entre los grupos. Su alimentación se basó en heno de alfalfa (21% proteína cruda, 1.95 Mcal/kg de energía metabolizable (EM)) y 200 g de concentrado comercial (18% de proteína cruda, 2.05 Mcal/kg EM)/animal/día.

En marzo, cuando las hembras tenían 15 meses de edad, fueron diagnosticadas como anéstricas mediante la determinación de progesterona plasmática. Antes de exponer a las hembras con los machos, se registró su peso y condición corporal: alojadas individualmente 31.1 ± 0.9 kg y 2.9 ± 0.09 ; alojadas en grupo 34.0 ± 2.0 kg y 3.3 ± 0.18 .

Además, se construyeron 10 corrales adicionales (5/ grupo de hembras) para llevar a cabo las pruebas de comportamiento socio-sexual durante el primer contacto de hembras y machos.

Figura 2. Hembras caprinas criollas alojadas en grupo. Las hembras tuvieron comunicación mediante las señales visuales, auditivas, táctiles y olfativas



Figura 3. Hembras caprinas criollas alojadas individualmente en corral.
Cada hembra tuvo comunicación con la hembra del corral adjunto mediante las señales auditivas y olfativas



El efecto macho

El 23 de marzo (día 0, 07:30 h), los 10 machos fueron separados al azar en dos grupos de 5 por cada grupo de hembras; cada macho fue puesto en un corral individual. A las 08:00 h, las hembras alojadas en grupo y las alojadas individualmente fueron puestas en contacto cada una con un macho durante 30 min, a fin de llevar a cabo pruebas de comportamiento socio-sexual. Al finalizar, las hembras de cada grupo fueron puestas en otro corral. Posteriormente, sólo se utilizaron 2 machos por cada grupo de hembras. La

proporción utilizada fue 1 macho x 10 hembras. Las hembras alojadas en grupo permanecieron en su corral original y las alojadas individualmente fueron puestas en un corral nuevo. Los machos permanecieron con las hembras 24 h durante 15 días. A partir del día 0 a las 18:00 h, y en los siguientes días, los machos se intercambiaron a las 08:00 h y a las 18:00 h en cada grupo de hembras.

Variables evaluadas

Muestreo sanguíneo para determinar progesterona plasmática

La actividad ovárica se determinó mediante la concentración de progesterona plasmática, donde ≥ 0.5 ng/mL fue indicativo de ovulación (Fernández *et al.*, 2021). Para este fin se llevó a cabo un muestreo sanguíneo de los días 0 a 15 post-introducción de los machos con las hembras. Cada muestra sanguínea se depositó en un tubo de 5 mL, conteniendo 30 μ L de heparina sódica (5000 UI/mL) como anticoagulante. Posteriormente, las muestras sanguíneas se centrifugaron a 3500 x g durante 30 min, y el plasma se almacenó en microtubos a -15°C hasta que se llevó a cabo la determinación hormonal. Las concentraciones de progesterona se determinaron mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, EIA-1561, DRG International, Inc., USA). La sensibilidad del ensayo fue 0.045 ng/mL, y los coeficientes de variación inter e intra ensayo fueron 3.2% y 5.3%, respectivamente.

Comportamiento sexual en los machos cabríos

En los machos se observaron las conductas sexuales como: aproximaciones y olfateos anogenitales, mismas que se registraron durante 30 min durante el primer día (día 0) de contacto con las hembras (Delgadillo *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2022).

Análisis estadístico

El comportamiento sexual de los machos se analizó mediante un diseño completamente aleatorio que incluyó el efecto del grupo de hembras, para lo que se utilizó un método lineal generalizado. Además, se evaluaron varias distribuciones para seleccionar el mejor modelo utilizando el criterio de información de Akaike corregido para muestras finitas (AICc). En todos los casos se realizó la prueba secuencial de Sidak para corregir com-

paraciones múltiples de medias. Las ovulaciones, los ciclos ováricos cortos y los ciclos ováricos normales se analizaron con la prueba exacta de Fisher. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando SPSS versión 22.0 (IBM Corp. Released 2013). Los datos se presentan como la media marginal estimada \pm error estándar de la media. Las diferencias se consideraron significativas a $P < 0.05$.

RESULTADOS

Respuesta ovulatoria de las hembras en contacto con los machos foto-estimulados

La proporción de hembras que ovularon, así como la proporción de ciclos ováricos cortos y normales, fueron similares ($P > 0.05$) entre las hembras alojadas en grupo y las alojadas individualmente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Actividad ovulatoria en cabras criollas anéstricas alojadas individualmente y en cabras criollas anéstricas alojadas en grupo

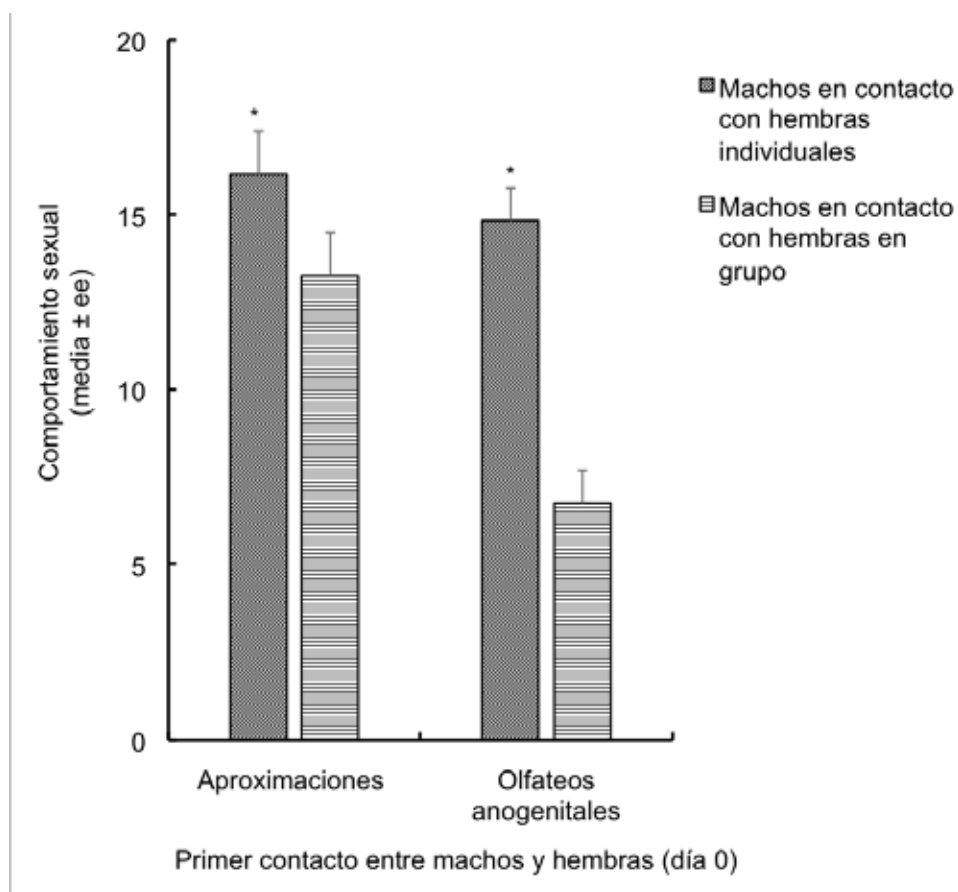
Hembras alojadas	n	Ovulaciones (%)	Ciclos ovulatorios cortos (%)	Ciclos ovulatorios normales (%)
Individualmente	10	100	90	10
En grupo	10	100	60	40

($P > 0.05$)

Comportamiento sexual de los machos cabríos foto-estimulados

Los machos foto-estimulados mostraron, durante el primer contacto con las hembras (en el día 0), más aproximaciones y olfateos anogenitales hacia las hembras alojadas individualmente que a las hembras alojadas en grupo ($P < 0.05$; Figura 4).

Figura 4. Comportamiento sexual de los machos cabríos foto-estimulados (media \pm ee) durante el primer contacto con las cabras criollas anéstricas alojadas individualmente (líneas inclinadas), y en cabras criollas anéstricas alojadas en grupo (líneas horizontales)



Los machos fueron sometidos a un tratamiento fotoperiódico de días largos artificiales (16 h de luz/día y 8 h de oscuridad/día), del 1 de noviembre al 16 de enero, posteriormente percibieron el fotoperiodo natural.

* $P < 0.05$.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que la actividad ovulatoria, determinada por la proporción de hembras criollas que ovularon, así como por los ciclos ovulatorios cortos y los ciclos ovulatorios normales, fueron similares entre las hembras criollas alojadas individualmente y las alojadas en grupo. Estos resultados son semejantes a los reportados previamente en hembras criollas anéstricas de más de 2 años de edad, alojadas en grupo que ya había tenido contacto social con los machos y expuestas a machos foto-estimulados (Delgadillo *et al.*, 2002; Bedos *et al.*, 2010).

Además, los hallazgos del presente estudio coinciden con estudios previos, donde las hembras criollas sin experiencia sexual, alojadas en grupo y de edad similar, registraron alta respuesta ovulatoria durante la primera exposición al macho cabrío foto-estimulado (Fernández *et al.*, 2021). Entonces, la actividad ovulatoria alta, observada en las hembras criollas en anestro estacional alojadas individualmente o en grupo, se debe muy probablemente a que fueron puestas en contacto con machos cabríos foto-estimulados que mostraron alto comportamiento sexual. De hecho, el tratamiento fotoperiódico induce un incremento en la secreción de testosterona y el volumen testicular, además estimula el comportamiento sexual de los machos durante el reposo sexual (Delgadillo *et al.*, 2002). No obstante, los resultados indicaron que los machos criollos foto-estimulados realizaron más aproximaciones y olfateos anogenitales hacia las hembras criollas alojadas individualmente; es probable que este grupo de hembras fue más atractivo para los machos foto-estimulados. Es así como la intensa actividad sexual de los machos influyó positivamente en la alta respuesta ovulatoria mostrada por este grupo de hembras. Aunque no se registraron todas las conductas sexuales que fueron expresadas por los machos, como los intentos de monta, la monta con intromisión, el flehmen y el auto-marcaje (Fernández *et al.*, 2022), dichas conductas sexuales participaron durante el cortejo y el apareamiento con las hembras. En cambio, los resultados del presente estudio difieren con los hallazgos reportados en las hembras ovinas Ile-de-France que tuvieron contacto restringido con el carnero durante su crecimiento, ya que registraron baja actividad ovárica durante el primer contacto con el carnero sexualmente activo (Chanvallon *et al.*, 2010).

CONCLUSIÓN

Se concluye que tanto las cabras criollas alojadas en grupo, como las cabras criollas alojadas individualmente mostraron alta y similar actividad ovulatoria expuestas a machos cabríos foto-estimulados por primera vez. Aunque los machos cabríos foto-estimulados mostraron más conductas sexuales hacia las cabras criollas alojadas individualmente, esta intensa actividad sexual de los machos participó en alta respuesta ovulatoria de las hembras.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro agradecimiento a Susana Rojas Maya (QEPD) y a Clara Murcia Mejía del Laboratorio de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su ayuda para realizar los ensayos progesterona plasmática. Los autores agradecen también a Jesús Palomo Reyna por cuidar de las hembras y a todos los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por su apoyo durante la realización del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Blanchard, R.J., McKittrick, C.R., Blanchard, D.C. (2001). "Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical system", *Physiology Behavior*, 73: 71-261.
- Chanvallon, C., Scaramuzzi, R.J., Fabre-Nys, C. (2010). "Early sexual experience and stressful conditions affect the response of young ewes to the male", *Physiology Behavior*, 30: 457-465.
- CONAGUA (2019). Comisión Nacional del Agua. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/>, consultado el 08/08/2022.
- Congreso del Estado Independiente, Libre y Soberano de Coahuila de Zaragoza (noviembre 29, 2013). Ley de Protección y Trato Digno a los Animales para el Esta-

- do de Coahuila de Zaragoza. Disponible en: <http://periodico.sfpcoahuila.gob.mx/ArchivosPO/96-PS-29-NOV-2013.pdf>, (consultado el: 05/02/2021).
- 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 goats in subtropical Northern Mexico", *Theriogenology*, 1999, 52: 727-737.
- Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Véliz, F.G., Hernández, H., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P., Malpaux, B. (2002). "Induction of sexual activity of lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificial long days", *Journal Animal Science*, 80: 2780-2786.
- Duarte, G., Flores, J.A., Malpaux, B., Delgadillo, J.A. (2008). "Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability", *Domestic Animal Endocrinology*, 35: 362-370.
- Fernández, I.G., Flores, J.A., Duarte, G., Hernández, H., Fitz-Rodríguez, G., Vielma, J., (2021). "Previous sexual experience does not improve estrous behavior and ovulatory activity in seasonally anestrous goats in contact with photostimulated bucks", *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 9: 1-7.
- Fernández, I.G., Avilés, R., Grimaldo-Viesca, E., Ulloa-Arvizu, R., Duarte, G., Flores, J.A., Hernández, H. (2022). "Sexually inexperienced, photo-stimulated, 27-month-old, male goats showed undiminished sexual behavior and ability to induce estrus and ovulation in anestrous females", *Small Ruminant Research*, 206: 1-7.
- Hawkley, L.C., Cole, S.W., Capitanio, J.P., Norman, G.J., Cacioppo, J.T. (2012). "Effects of social isolation on glucocorticoid regulation in social mammals", *Hormones and Behavior*, 62: 314-323.
- IBM Corp. Released 2013 IBM SPSS Statistics for Windows. Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.