

Universidad de Huelva

Departamento de Ciencias Agroforestales



Caracterización reproductiva de la raza caprina blanca andaluza : papel de la condición corporal, peso vivo y fotoperiodo

Memoria para optar al grado de doctora
presentada por:

María de Lourdes Gallego Calvo

Fecha de lectura: 18 de enero de 2016

Bajo la dirección de los doctores:

Luis Ángel Zarazaga Garcés

José Luis Guzmán Guerrero

Huelva, 2016





**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGROFORESTALES**

TESIS DOCTORAL

**CARACTERIZACIÓN REPRODUCTIVA DE LA RAZA CAPRINA BLANCA ANDALUZA: PAPEL
DE LA CONDICIÓN CORPORAL, PESO VIVO Y FOTOPERIODO**

PROGRAMA DE DOCTORADO: CIENCIA Y TECNOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL

Memoria presentada por: MARÍA DE LOURDES GALLEGO CALVO
para optar al grado de Doctora

Dirigida por: DR. LUIS ÁNGEL ZARAZAGA GARCÉS
DR. JOSÉ LUIS GUZMÁN GUERRERO

Huelva, noviembre de 2015

*“Empieza haciendo lo necesario, continua haciendo lo posible;
y de repente estarás haciendo lo imposible”*

San Francisco de Asís

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN -----	1
SUMMARY -----	11
JUSTIFICACIÓN-----	19
GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS -----	23
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA -----	27
OBJETIVOS-----	69
ARTÍCULOS PUBLICADOS-----	73
DISCUSIÓN GENERAL-----	125
CONCLUSIONES-----	141
CONCLUSIONS -----	145
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	149
OTRAS PUBLICACIONES -----	185



D. LUIS ÁNGEL ZARAZAGA GARCÉS y D. JOSÉ LUIS GUZMÁN GUERRERO,
Profesores Titulares de Universidad del Departamento de Ciencias Agroforestales de la
Universidad de Huelva, INFORMAN:

Que la Tesis Doctoral titulada: “CARACTERIZACIÓN REPRODUCTIVA DE LA RAZA
CAPRINA BLANCA ANDALUZA: PAPEL DE LA CONDICIÓN CORPORAL, PESO VIVO Y
FOTOPERIODO”, que se recoge en la siguiente memoria y de la que es autora Dña.
MARÍA DE LOURDES GALLEGO CALVO, Licenciada en Veterinaria, ha sido realizada bajo
nuestra dirección, cumpliendo las condiciones exigidas para que la misma pueda optar
al Grado de Doctor.

Lo que suscribimos como Directores de dicho trabajo y a los efectos oportunos
en Huelva, a de Noviembre de 2015.

Fdo. Dr. Luis Ángel Zarazaga Garcés

Fdo. Dr. José Luis Guzmán Guerrero



AUTORIZACIÓN PARA LA DEFENSA DE LA TESIS DOCTORAL EMITIDA POR EL DIRECTOR Y EL TUTOR Y POR LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO

DATOS DEL DOCTORANDO:

Apellidos y nombre: Gallego Calvo María de Lourdes	NIF/NIE/Pasaporte: 49056658G	Nacionalidad: Española
Dirección a efectos de notificaciones: Avenida de Los Plateros, portal 5, piso 2ºB, C.P.: 21006, Huelva		
Teléfono: 660184047	EMAIL: lourdes_vet88@hotmail.com	

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL:

Título: CARACTERIZACIÓN REPRODUCTIVA DE LA RAZA CAPRINA BLANCA ANDALUZA: PAPEL DE LA CONDICIÓN CORPORAL, PESO VIVO Y FOTOPERIODO
Programa Oficial de Doctorado al que se adscribe y órgano responsable: PROGRAMA OFICIAL DE DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL
Línea de investigación a la que se adscribe y órgano responsable: BIOLOGIA AMBIENTAL

A CUMPLIMENTAR POR EL DIRECTOR Y POR EL TUTOR DE LA TESIS DOCTORAL: (en caso de que el Director y Tutor sean la misma persona, no es necesario cumplimentar los campos relativos al Tutor ni se precisa la firma de éste).

Director/es:	Tutor/es:
Dr./Dra.: Luis Ángel Zarazaga Garcés	Dr./Dra.:
Dr./Dra.: José Luis Guzmán Guerrero	Dr./Dra.:
Dr./Dra.:	Dr./Dra.:
como Director/Tutor de la Tesis Doctoral antes indicada AUTORIZA LA DEFENSA DE LA MISMA.	

En Huelva a, _____ de _____ de 2015

Firma del/los Director/es de la Tesis Doctoral

Fdo.: Luis Ángel Zarazaga Garcés

Fdo.: José Luis Guzmán Guerrero
Firma del/los Tutor/es de la Tesis Doctoral

Fdo.:

Fdo.:

Fdo.:

A CUMPLIMENTAR POR LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO:

Cumplidos los criterios de calidad aprobados para este Programa de Doctorado por Comité de Dirección de la Escuela de Doctorado de la Universidad de Huelva y una vez valorada la Tesis Doctoral presentada por el Doctorando y haber incorporado éste las modificaciones y/o cambios que esta Comisión Académica le pudiera haber indicado, **se AUTORIZA** en reunión de fecha _____ **LA DEFENSA** de la misma.

En Huelva a, _____ de _____ de _____

Firma y sello del Presidente de la Comisión Académica

Fdo. _____

Los trabajos experimentales que conforman la presente Tesis Doctoral han sido financiados por el Ministerio de Educación y Ciencia – Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias RZ2010-00001-00-00.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Durante el camino recorrido en esta aventura de aprendizaje que en este libro describo, no existen hojas suficientes que puedan recoger las palabras de agradecimiento que merecen las personas que han participado y han sido testigos de ella. Sin embargo, lo bueno, si es breve, dos veces bueno.

No podría comenzar de otra manera si no es agradeciendo a mis directores de tesis: Luis Ángel Zarazaga Garcés y José Luis Guzmán Guerrero; ambos sois los guías y maestros del conocimiento que todo el mundo desearía tener. A Luis, por el regalo de su saber infinito, su voluntad, constancia, apoyo y colaboración paralela y por supuesto por la paciencia que me ha demostrado tener en todo momento. A José Luis, por sus enseñanzas, por esa precisión y exactitud en el trabajo, por darme ánimo en los duros días de trabajo y alentarme que todo es posible. Gracias a los dos, porque sin vosotros, nada de esto hubiera sido posible.

A Carmen, por recibirme todas las mañanas con su calidez, por su ayuda en el laboratorio y por esos ratitos que hacían el trabajo más ameno.

A mi amiga Carmela, mi “hermana” pequeña, y a mi amiga Ruth, otra parte de mí, por conseguir la cercanía a pesar de la distancia, por esas largas conversaciones que me ayudaban a seguir este camino. Gracias por estar en los momentos más importantes de mi vida.

A mis animales, por prestarse a todo sin esperar nada a cambio, sin ellos nada es posible: *Higia pecoris, salud populis*.

A todo el mundo que puso su granito de arena en mi camino para hacerlo más fácil.

Y el final lo reservo para mi familia. A mis seres queridos que han sido testigos de este recorrido. A mi otra mitad, la persona que me cambió la vida desde el momento en que apareció, el que siempre está...mi marido. A mi hermana, mi sangre, mi ejemplo de esfuerzo y superación, gracias por tu cariño y apoyo incondicional siempre. A mis padres, los que me regalaron la vida y a los que les debo todo...

RESUMEN

RESUMEN

Actualmente, la raza caprina Blanca Andaluza es una raza autóctona calificada como en peligro de extinción y cuenta con un reducido número de criadores, así como con una carencia casi total de datos reproductivos. Por eso, el objetivo principal de este trabajo ha consistido en determinar las características reproductivas de la raza caprina Blanca Andaluza: pubertad, pico preovulatorio de LH, actividad reproductiva a lo largo del año de la hembra y el macho y el efecto de diversos tratamientos (fotoperiodo artificial y melatonina) en la calidad seminal y congelabilidad del semen de los machos de esta raza.

Para ello, se han llevado a cabo 5 experimentos. El manejo y desarrollo experimental se realizó de acuerdo con las directrices españolas de protección de los animales utilizados en experimentación animal (RD 53/2013) y de acuerdo a la Directiva 2010/63 de la Unión Europea llevándose a cabo por personal entrenado. Todos los experimentos se realizaron en la Granja Experimental de la Universidad de Huelva (latitud: 37° 12' N; longitud 6° 54' O) que cumple con los requerimientos de la Comisión de la Unión Europea sobre Establecimientos Usuarios de animales de Experimentación.

En el primer experimento el objetivo ha sido examinar el efecto de la condición corporal (CC) y del peso vivo (PV), independientemente entre ellos, en el inicio de la pubertad de chivas nacidas en otoño (noviembre).

Para ello, se utilizaron 36 chivas que se distribuyeron en 3 grupos de acuerdo a su PV y CC: bajo PV y baja CC (lote BB, n= 10), bajo PV y alta CC (lote BA, n= 10) y alto PV y alta CC (lote AA, n= 16). La alimentación se ajustó semanalmente en relación al PV para asegurar un incremento de entorno a 50 gramos al día. Cada semana se medían el PV y la CC al igual que se tomaban muestras de sangre para determinar los valores de progesterona plasmática. Diariamente se controlaba la actividad estral con machos vasectomizados provistos de arneses marcadores. La tasa de ovulación se determinó mediante ecografía a los 10±2 días tras la detección del estro.

Las diferencias en PV y CC entre los grupos al inicio del experimento se mantuvieron hasta el final, es decir, el grupo BB tuvo a lo largo de todo el experimento un peso bajo y una CC baja, el grupo BA mantuvo un PV bajo y una CC alta y el grupo

AA un PV alto y una CC alta, lo que indicaría que los niveles nutricionales empleados permitieron mantener esas diferencias correctamente, si bien con una tasa de crecimiento ligeramente inferior a la que se esperaba pero sin diferencias entre los grupos. Se observó un claro efecto de la CC sobre la fecha de la primera actividad ovárica y de la primera salida en celo ($P < 0,01$). El lote AA presentó la fecha más temprana de inicio de la pubertad (primer celo detectado) (31 agosto \pm 2,4 días) sin diferencias significativas en comparación con el lote BA (19 septiembre \pm 8,7 días). Sin embargo, si hubo diferencias significativas con el lote BB que fue el que más tarde inició su pubertad (25 octubre \pm 7,8 días) ($P < 0,001$). La primera actividad ovárica se caracterizó por una mayor incidencia de ovulaciones silentes de duración normal o corta en el grupo BB que en el grupo AA (50% vs 12,5%, respectivamente, $P < 0,05$). En cuanto a la tasa de ovulación del primer celo, no se observaron diferencias entre los diferentes grupos experimentales.

Por tanto, los resultados del presente trabajo indican que las chivas de raza Blanca Andaluza, alcanzan la pubertad en su primera época de actividad reproductiva tras el nacimiento, y la condición corporal es un factor determinante en el inicio de la misma. Por lo tanto, tal vez sería de interés, a nivel de explotación, establecer un plan nutricional que permita que las chivas dispongan de una mayor cantidad de reservas corporales que permita un inicio más temprano de la pubertad.

El segundo experimento se diseñó para determinar si la respuesta y los acontecimientos que siguen al tratamiento de sincronización con esponjas intravaginales de progesterona (desarrollo folicular, momento de salida en celo, pico preovulatorio de LH y momento de ovulación) varían en función de la época aplicación (anestro estacional o época de actividad reproductiva) y del nivel de CC en cabras adultas.

El experimento fue un diseño factorial 4x2, con la CC y la estación del año (anestro estacional y periodo de actividad reproductiva) como factores de variación. Se utilizaron 32 hembras vacías adultas que se dividieron en 4 subgrupos de 8 cabras cada uno en función de su CC: $\leq 2,25$; $= 2,50$; $= 2,75$ y $\geq 3,00$. Estos subgrupos ya tenían esta CC al inicio del experimento y se les suministró una nutrición a lo largo del mismo para mantener estas diferencias. Las hembras fueron sincronizadas con esponjas intravaginales de 20 mg de acetato de fluorogestona que fueron retiradas a los 11 días

de su colocación. A cada uno de los animales, dos días antes de la retirada de la esponja se les inyectaron 400 UI de eCG y 6 mg de luprostiol. Cada 4 horas durante las primeras 72 horas tras la retirada de la esponja, se registró la actividad estral (con 6 machos vasectomizados provistos de arneses marcadores). Durante este periodo de tiempo, se extrajeron muestras de sangre cada 4 horas para determinar las concentraciones de LH y con esa misma frecuencia se les realizó ecografía transrectal con el objetivo de estudiar el desarrollo folicular y determinar el momento de la ovulación.

Respecto a la respuesta al tratamiento de sincronización, no se observó ningún efecto del momento de colocación (estación) ni de la CC. En cuanto a las concentraciones basales de LH, si se vieron diferencias según la estación, siendo mayores las concentraciones en las hembras sincronizadas en la estación reproductiva que las sincronizadas en anestro estacional ($0,71 \pm 0,05$ vs $0,39 \pm 0,05$ ng/ml, respectivamente, $P < 0,001$). Sin embargo, no hubo diferencias en este parámetro en cuanto a la CC. Se observó una interacción significativa entre la época de sincronización y la CC sobre las concentraciones basales de LH ($P < 0,05$). Cuando las cabras fueron sincronizadas en la época de actividad reproductiva, las que tuvieron unas concentraciones basales más elevadas fueron aquellas con una $CC \leq 2,25$. Mientras que durante el periodo de anestro estacional fueron las cabras con una $CC \geq 3,00$. En cuanto al número de folículos, las hembras sincronizadas en anestro estacional presentaban un mayor número de folículos ≥ 1 cm que las hembras sincronizadas en la estación reproductiva ($P < 0,01$). Además, el tiempo entre la retirada de la esponja y la aparición del celo, el momento del pico preovulatorio de LH y el momento de ovulación fue también menor en estas hembras ($P < 0,001$). La CC tan sólo modificó el número de folículos antes de la ovulación, que fue significativamente más bajo en el subgrupo $CC = 2,50$ respecto a los demás subgrupos ($P < 0,05$).

Podemos concluir que la estación del año en el que se realiza un tratamiento de sincronización con esponjas vaginales, ha sido el factor más importante que afectó al resultado de la sincronización, influyendo en el momento de aparición del celo, el momento del pico preovulatorio de LH y de ovulación tras la retirada de la esponja. Sin embargo, a parte del incremento de las concentraciones basales de LH en las hembras

sincronizadas en anestro estacional y del número de folículos $\geq 1\text{cm}$ antes de la ovulación, la CC no modificó ningún otro de los parámetros estudiados.

El experimento 3 tuvo como objetivo describir la estacionalidad reproductiva de la raza caprina Blanca Andaluza y determinar si el PV o la CC tienen algún efecto en el control de la misma, así como determinar si hay un efecto compensatorio o aditivo entre estas variables en la modulación de dicha estacionalidad reproductiva.

Se realizó un diseño factorial 3x2 con la CC y el PV como factores de variación. Se utilizaron 84 hembras adultas divididas en tres grupos: CC baja ($\leq 2,50$; $n=24$), CC media ($= 2,75-3,00$; $n=31$), CC alta ($\geq 3,25$; $n=29$). A su vez, estos mismos animales, independientemente del grupo al que perteneciesen por su CC, se dividieron en dos grupos en función de su PV: PV bajo ($PV \leq 40$ kg; $n=44$) y PV alto ($PV > 40$ kg; $n=40$). Se les suministró una dieta que permitiese mantener estas diferencias durante todo el experimento, cuyo inicio fue el 20 de enero y concluyó el 26 de junio del año siguiente. Semanalmente se determinó el PV y la CC así como las concentraciones plasmáticas de progesterona mediante la toma de muestras de sangre. Estas muestras de sangre, para el análisis de progesterona, sirvieron para determinar la actividad ovárica u ovulaciones de los animales a lo largo del experimento. La actividad estral se evaluó diariamente con machos vasectomizados provistos de arneses marcadores y la tasa de ovulación fue registrada por ecografía transrectal a los 10 ± 2 días tras la detección del celo.

Las diferencias iniciales entre los grupos respecto a la CC se mantuvieron hasta el final del experimento sin afectar al PV y viceversa. Tanto el PV como la CC tuvieron una influencia significativa (al menos $P < 0,05$) en el inicio (más temprano), final (más tardío) y duración de la estación reproductiva (mayor duración de la misma), con periodos más largos de actividad reproductiva en las hembras que tenían por lo menos una $CC \geq 2,75$ ($P < 0,01$) y un $PV > 40$ kg ($P < 0,05$). No se observó ninguna interacción entre los factores de variación estudiados sobre estos parámetros indicando que su efecto es independiente y que no hay compensación o efecto aditivo entre ellas (PV y CC). La CC modificó el porcentaje de hembras que mostró actividad reproductiva durante el experimento, siendo mayor en las cabras que tenían por lo menos una $CC \geq 2,75$, que en el grupo con $CC \leq 2,50$ ($P < 0,01$). Del mismo modo, el PV también lo modificó, siendo mayor en hembras con un $PV > 40$ kg, que en el grupo con un $PV \leq 40$ kg ($P < 0,01$). El

11,7% de las hembras que tenían una $CC \geq 2,75$ presentaron ovulaciones durante el periodo de anestro estacional, siendo la primera vez que se ha descrito en razas caprinas autóctonas españolas, mientras que ninguna de las hembras con una $CC \leq 2,5$ tuvo ovulaciones en este mismo periodo. La tasa de ovulación del primer y último estro estuvo influenciada por el PV, siendo esta mayor en hembras con $PV > 40$ kg ($P < 0,01$) pero no por los niveles de condición corporal.

Por tanto, estos resultados demuestran que las hembras de raza caprina Blanca Andaluza tiene una marcada estacionalidad reproductiva mostrando una época de actividad reproductiva entre agosto y abril y un periodo de inactividad reproductiva entre mayo y julio. Esta actividad reproductiva a lo largo del año está claramente modulada por la CC y el PV, independientemente entre sí. Así, las hembras de esta raza necesitan al menos una CC de 2,75 y un PV de 40 kg para reducir el anestro estacional, siendo en el grupo de cabras que tenían al menos una CC de 2,75 donde hubo hembras que ovularon durante todo el experimento, incluyendo el anestro estacional.

En el cuarto experimento, el objetivo fue determinar el patrón de reproducción estacional de los machos cabríos de raza Blanca Andaluza y conocer si ésta estacionalidad influye en la calidad y congelabilidad del semen.

El estudio se llevó a cabo durante un periodo de 20 meses, en el que se usaron 7 machos que fueron mantenidos bajo un fotoperiodo natural. Semanalmente se determinó el PV, TT (tamaño testicular), las concentraciones plasmáticas de testosterona y la calidad del semen fresco. Cada 15 días, se realizaba la congelación y almacenamiento del semen obtenido. Los parámetros de motilidad y calidad seminal fueron determinados mediante la utilización de un sistema CASA. La valoración del semen congelado se realizó dentro de las 24 horas siguientes a su congelación.

Las concentraciones de testosterona plasmática registradas fueron altas en verano y otoño (días decrecientes) y bajas en invierno y primavera ($P < 0,001$). El PV fue mayor en el periodo de invierno-primavera ($P < 0,01$). Respecto al porcentaje de machos que eyaculaban, de machos activos, el tiempo de eyaculado y el volumen, no se observaron diferencias entre las distintas épocas del año. Sin embargo, la concentración espermáticas, el número total de espermatozoides por eyaculado, y los valores para la mayoría de los parámetros de semen fresco fueron menores durante el invierno (al menos $P < 0,05$). Tras la congelación-descongelación, la calidad del semen

recogido en invierno fue mejor que en verano (al menos $P < 0,05$ en los diferentes parámetros estudiados que presentaron diferencias significativas).

Por tanto, estos resultados demuestran que los machos de raza Blanca Andaluza presentan una estacionalidad reproductiva en relación a las concentraciones de testosterona plasmáticas, pero sin grandes cambios en el comportamiento sexual entre las distintas épocas del año. Respecto a los resultados de las distintas variables del semen fresco, éstas alcanzaron sus valores más bajos durante el invierno. Sin embargo, fue en esta estación en la que se obtuvieron los mejores resultados de semen congelado-descongelado.

El quinto y último experimento fue diseñado para comparar los efectos de la exposición al tratamiento con melatonina exógena (MEL), días cortos (DC, 8 h de luz: 16 h de oscuridad) y días largos (DL, 16 h de luz: 8 h de oscuridad) en la actividad reproductiva, motilidad espermática y otras variables reproductivas así como en la congelabilidad del semen de machos de raza Blanca Andaluza.

Para el desarrollo de este experimento se usaron 14 machos adultos que se dividieron en 2 grupos de 7 animales cada uno (G1 y G2). Antes del comienzo del experimento, se sometieron a un periodo de adaptación de alternancia fotoperiódica (5 alternancias de 2 meses de DL seguidos de 2 meses de MEL o DC). El periodo experimental constó de tres intervalos consecutivos de: 2 meses de DC (G1, $n=7$) o MEL (G2, $n=7$); 2 meses de DL (G1+G2, $n=14$) y 2 meses de DC (G2, $n=7$) o MEL (G1, $n=7$). Los implantes de melatonina se retiraban al final de los dos meses de tratamiento con MEL y comienzo de los periodos de DL. Semanalmente se determinó el tamaño testicular, las concentraciones plasmáticas de testosterona mediante muestras de sangre, el PV, el comportamiento sexual y la calidad del semen fresco. Los parámetros de motilidad y calidad seminal fueron determinados mediante la utilización de un sistema CASA. El semen fue congelado quincenalmente y se valoraron las mismas variables de calidad que en el semen fresco una vez que era descongelado, que se realizaba en las 24 h siguientes a la congelación.

En los resultados obtenidos se observa que el tamaño testicular no se vio modificado por ninguno de los tratamientos, a diferencia de las concentraciones de testosterona, que fueron menores cuando los machos eran sometidos al tratamiento de DL, que cuando estuvieron bajo el tratamiento con DC o MEL ($P < 0,01$). Tampoco se

observaron diferencias en el comportamiento sexual entre los distintos tratamientos. Respecto al semen fresco, durante los DL, los machos tenían unos valores de concentración seminal y un número total de espermatozoides por eyaculado mayores que en el tratamiento con MEL o DC ($P < 0,001$) y el volumen de eyaculado fue mayor en los DL que en el tratamiento con MEL. No se observaron diferencias entre los tratamientos con MEL o DC en cuanto a la calidad del semen fresco, refrigerado o congelado-descongelado. Tan sólo algunas variables de calidad del semen fresco se vieron mejoradas por el tratamiento con MEL o DC ($P < 0,05$) en comparación con el tratamiento con DL.

Con los resultados descritos podemos concluir que, en los machos caprinos de raza Blanca Andaluza, el tratamiento con 2 meses de DC da lugar a un semen de calidad similar al obtenido con 2 meses de tratamiento con melatonina exógena. Respecto a la actividad reproductiva, las concentraciones de testosterona están asociadas al tratamiento al que son sometidos los animales, presentando altas concentraciones durante los tratamientos con DC y MEL y bajas concentraciones cuando eran sometidos a DL. Por último, el tratamiento con MEL mejora las variables de motilidad del semen fresco pero no mejora la motilidad del semen congelado-descongelado respecto a la registrada en los tratamientos con DL o DC.

SUMMARY

SUMMARY

Nowadays, the Blanca Andaluza goat breed is an endangered local breed with a small number of breeders as well as an almost total lack of reproductive data. Therefore, the main objective of this work was to determine the reproductive characteristics of the Blanca Andaluza goat breed: puberty, preovulatory LH surge, seasonality of males and females and the effect of some treatments (artificial photoperiod and melatonin) on the semen quality and his freezability.

To achieve these objectives, we have done five experiments. The handling and experimental development were performed in strict accordance with Spanish guidelines for the protection of experimental animals (RD 53/2013) and with the Directive 2010/63 of the European Community, and were conducted by trained people. All experiments were performed at the University of Huelva experimental farm (latitude: 37° 12' N; longitude 6° 54' W) that meets the requirements of the European Community Commission for Scientific Procedure Establishments.

In the first experiment, the objective was to know the effect of body condition score (BCS), independently of bodyweight (BW), on the onset of puberty in Blanca Andaluza female kids born in Autumn (November).

Thirty-six female kids were distributed into three groups according to their BW and BCS: low BW and low BCS (LL, n =10), low BW and high BCS (LH, n =10), and high BW and high BCS (HH, n = 16). Feeding was adjusted weekly so that the animals would gain ~50 g per day. Oestrus was checked daily using young vasectomised bucks fitted with marking harnesses. The ovulation rate was determined by transrectal ultrasonography 10±2 days after the identification of oestrus. Plasma samples were obtained weekly for progesterone determination. Changes in BW and BCS were also recorded weekly.

The differences in BCS and BW between groups at the beginning of the experiment were maintained until the end, that is, the LL group had low BW and low BCS, the LH group maintained low BW and high BCS and the HH group high BW and high BCS. Thus, the feed provided allowed the animals to grow, albeit at a rate slightly lower than expected, with no differences in growth rate between groups. The BCS had a clear effect on the date of first ovarian activity and first detected oestrus ($P < 0.01$).

The HH group experienced the earliest onset of puberty (first detected oestrus) (31 August \pm 2.4 days) although no significant difference was seen compared with the LH group (19 September \pm 8.7 days). However, a significant difference was recorded in comparison with the LL group (25 October \pm 7.8 days) ($P < 0.001$). The first ovarian activity was characterised by a higher incidence of silent ovulations of short or normal duration in the LL group than in the HH group (50% vs 12.5%, respectively, $P < 0.05$). No effect of experimental group was observed on ovulation rate.

Therefore, the results of the present work indicate that, Blanca Andaluza female kids reach puberty in their first natural breeding period after birth, and that BCS is a determining factor in the onset of puberty. It may therefore be profitable to plan nutrition that allows for the earlier and greater accumulation of body reserves. This would allow breeding to occur at an earlier age.

The second experiment was designed to determine whether the response and the events that follow the synchronisation by intravaginal progestagen sponge treatment (follicular development, the timing of oestrus, the preovulatory LH surge and ovulation) are modified by the moment of application (seasonal anoestrus or breeding period) and by the body condition score (BCS) in adult female Blanca Andaluza goats.

The experimental design was a factorial 4x2, with BCS and season (seasonal anoestrus and breeding period) as factors of variation. Thirty-two adult, non-pregnant, does were used. The animals were distributed into four subgroups with 8 goats each, based on their BCS: ≤ 2.25 ; $= 2.50$; $= 2.75$ y ≥ 3.00 . The subgroups have already had their BCS at the beginning of the experiment, and they were fed to maintain it until the end. The does were synchronised using intra-vaginal sponges impregnated with 20 mg of fluorogestone acetate that were removed 11 days after insertion. Two days before sponge removal, 450 IU of eCG plus 6 mg luprostiol were injected into each animal.

Every 4 h over the 72 h following sponge removal, oestrous activity was registered (in the presence of six vasectomised bucks fitted with marking harnesses). During this period of time, blood samples were collected each 4 hours to determine the LH concentrations. At the same time, with the same frequency, the ovaries were examined by transrectal ultrasonography to study the follicular development and the moment of ovulation.

With respect to the percentage of females that responded to synchronisation treatment, no significant differences were observed between does of different BCS or those treated in different seasons. In relation to basal LH concentrations, higher basal LH concentrations were recorded for animals synchronised in the breeding season compared to those synchronised in seasonal anoestrus (0.71 ± 0.05 vs 0.39 ± 0.05 ng/ml, respectively, $P < 0.001$). However, no differences in basal LH levels were observed with respect to BCS within the different season groups. The interaction season \times BCS did, however, have a positive influence on basal LH ($P < 0.05$). Among the does synchronised during the breeding season, higher basal LH concentrations were observed in the ≤ 2.25 BCS subgroup. In those synchronised during seasonal anoestrus, basal LH concentrations reached their highest in the ≥ 3.00 BCS subgroup. With respect to the number of follicles, does synchronised in seasonal anoestrus produced a large number of follicles ≥ 1 cm than those synchronised during the breeding season ($P < 0.01$). In addition, the elapsed time between sponge removal and the onset of oestrus, the LH surge and the time of ovulation, was shorter in those does ($P < 0.001$). The BCS only modified the number of follicles present in the ovary just before ovulation; this number was lower in the group with BCS = 2.50 than in the other groups ($P < 0.05$).

These results demonstrate that the season at the time of synchronisation by intravaginal sponge progestagen treatment was the most important factor affecting the outcome of synchronisation treatment: the times to the onset of oestrus, the LH surge and ovulation were shorter in does synchronised during seasonal anoestrus after sponge removal. However, other than increasing the basal LH concentration in the does synchronised during seasonal anoestrus, and the number of follicles ≥ 1 cm before ovulation, BCS would appear to have no direct effect on the studied variables.

The aim of the third experiment was to describe the seasonal pattern of Blanca Andaluza goats and the influence of BCS and BW as modulators of reproductive activity, and to determine whether there is any additive or compensatory interaction between these variables.

The experiment had a 3×2 factorial design including BCS and BW as factors of variation. Eighty-four adult female goats were used. The animals were assigned to three experimental groups based on their BCS: BCS (≤ 2.50 ; $n = 24$), BCS ($= 2.75-3.00$; $n = 31$), BCS (≥ 3.25 ; $n = 29$). The same animals, irrespective of the BCS group categorization,

were also divided into two groups depending on BW: low BW (PV \leq 40 kg; n=44) and high BW (PV $>$ 40 kg; n=40). They were fed to maintain the differences between groups during the experiment, which started on January 20th and finished on June 26th of the next year. Weekly, BW and BCS were determined and blood samples were taken to know the plasma progesterone concentrations. Ovulations were determined by monitoring the plasma progesterone concentration. Oestrus was evaluated daily using vasectomised males. The ovulation rate was assessed by transrectal ultrasonography 10 \pm 2 days after the identification of oestrus.

The initial differences in BCS and BW between groups were maintained until the end of the experiment. Both BCS and BW had a significant (at least $P < 0.05$) influence on the onset (earlier), the end (later), and the duration of the breeding season (longer), with longer periods of reproductive activity recorded in does with a $BCS \geq 2.75$ ($P < 0.01$) and a $BW > 40$ kg ($P < 0.05$). No significant interaction between these variables was observed; this indicates that the effect is independent and there is not an additive or compensatory effect between them (BW and BCS). The BCS modified the percentage of females that showed reproductive activity over the duration of the experiment, which were higher in the groups with, at least, a $BCS \geq 2.75$ than females with a $BCS \leq 2.50$ ($P < 0.01$). Similarly, BW modified the percentage of females that showed reproductive activity, which was higher in females with $BW > 40$ kg than in the group with a $BW \leq 40$ kg ($P < 0.01$). Some (11.7%) of the does in the groups with animals of $BCS \geq 2.75$ had ovulations during seasonal anoestrus. This result is the first time that is described in Spanish autochthonous goat breeds. None of the does with a $BCS \leq 2.5$ had ovulations during the same period. Ovulation rate of the first and last oestrus was influenced by BW, with a greater ovulation rate in the does with a $BW > 40$ kg ($P < 0.01$) but not because of BCS.

Therefore, these results demonstrate that Blanca Andaluza goats show a marked reproductive seasonality with a breeding season between August and April and an anoestrus period between May and June. This reproductive activity during the year is clearly and independently modulated by BCS and BW. So that, females of this breed may need at least a BCS of 2.75 and a BW of 40 kg for seasonal anoestrus to be reduced. The females that had ovulations during the whole experiment (including the seasonal anoestrus) were in the group with, at least, a BCS of 2.75.

In the fourth experiment, the objective was to determine the seasonal reproductive pattern of Blanca Andaluza bucks, and whether this affects the quality of their semen and its freezability over the year.

Over a period of 20 months, seven bucks were maintained under natural photoperiod conditions, and their BW, TW, plasma testosterone concentration and fresh sperm quality were determined weekly. Every two weeks, the collected sperm was cryopreserved and stored. Kinematic motility variables and semen quality were measured using a CASA system. The evaluation of the thawed semen were within 24 hours after thawing.

High plasma testosterone concentrations were recorded during the summer and autumn, and low concentrations were recorded during winter and spring ($P < 0.001$). The BW was greater during winter-spring period ($P < 0.01$). No differences were seen between seasons in terms of the percentage of bucks ejaculating, the percentage of active bucks, the animals' ejaculation latency, or ejaculate volume. However, the sperm concentration, the total number of sperm per ejaculate, and the values for most fresh sperm variables were lower during the winter period (at least $p < 0.05$). After freezing-thawing, the quality of winter-collected sperm was better, in some respects, than that of summer-collected sperm (at least $P < 0.05$, in the different studied parameters with significant differences)

In conclusion, these results reveal that Blanca Andaluza bucks show seasonal reproductive activity in terms of their plasma testosterone concentration, but no clear change in their sexual behaviour between seasons was observed. In relation to results of the values of fresh sperm variables, these reached their lowest values during winter. However, after freezing-thawing, winter-collected sperm is the best quality semen.

The last experiment was designed to compare the effects of exposure to exogenous melatonin treatment (MEL), short days (SD, 8 h of light: 16 h of darkness), and long days (LD, 16 h of light: 8 h of darkness), on reproductive activity, sperm motility and other reproductive variables as well as semen freezability of Blanca Andaluza bucks.

For the development of this experiment, fourteen adult males were split into two groups of seven animals (G1 y G2). Before the experimental period, bucks were submitted to an adaptation period of photoperiodic alternations (five alternations of 2

months of LD followed by 2 months of MEL or SD). The experimental period consist of three consecutive intervals of: 2 months of SD (G1, n=7) or MEL (G2, n=7); 2 months of LD (G1+G2, n=14) and 2 months of SD (G2, n=7) or MEL (G1, n=7). The implants were removed at the end of MEL treatment and before the onset of the LD treatment. Weekly, testicular weight, plasma testosterone concentrations through blood samples, body weight, sexual behaviour and fresh semen quality were determined. Kinematic motility variables and semen quality were measured using a CASA system. Semen was also cooled and frozen–thawed every fortnight, and the same quality variables were measured as for fresh sperm within 24 h after thawing.

The results show that the testicular weight was not modified by any of the treatments, unlike testosterone concentrations, that were lower when males were submitted to the LD treatment than when males were under SD or MEL treatment ($P<0.01$). No differences were seen between treatments in terms of sexual behaviour. In relation to fresh semen, during LD treatment, bucks had higher values for the semen concentration and total number of sperm per ejaculate than the MEL or SD treatments ($P<0.001$) and the ejaculate volume was higher when animals underwent LD compared to MEL treatment. No differences were seen between the MEL and SD treatments in terms of fresh, cooled or frozen–thawed sperm quality. Only some quality variables on fresh semen were improved by MEL and SD treatment ($P<0.05$) in comparison with LD treatment.

In conclusion, the results of the present experiment showed that, in Blanca Andaluza bucks, two months of SD treatment provide semen of a quality equal to that achieved with two months of exogenous MEL treatment. About reproductive activity, testosterone concentrations was associated with the treatment to which the animals were subjected, with high testosterone concentrations recorded during the MEL and SD treatments and low concentrations during the LD treatment. Finally, the MEL treatment improved the fresh semen motility variables, but this did not improve the motility of frozen–thawed sperm over that recorded for either SD or LD treatment.

JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN

La ganadería es una actividad económica muy antigua cuyo fin principal es la cría del ganado para la obtención y aprovechamiento de sus productos. Así, desde la antigüedad se han explotado distintas especies, entre las que se encuentra el ganado caprino, para satisfacer las necesidades humanas. Las producciones principales de esta especie son la carne y la leche, como producciones secundarias las pieles y los cueros y, finalmente, el estiércol se aprovecha como subproducto.

Este ganado caprino se caracteriza por su agilidad, rusticidad y habilidad para el pastoreo, siendo su explotación de forma tradicional principalmente extensiva o semiextensiva que influye en gran medida los sistemas de explotación en los que se utilizan, la disponibilidad de alimentos que puedan utilizar los animales y en gran medida a su actividad reproductiva. Sin embargo, en el caso de los caprinos productores de leche, su explotación ha pasado a ser intensiva.

La mayor parte de los pequeños rumiantes, a nivel mundial, se localizan a una latitud comprendida entre los 35°N y 35°S (Lindsay, 1991), cuyas características climáticas se denominan como "Mediterráneas" (Martin y cols., 2002). En esta área la estrategia reproductiva basada únicamente en la señal fotoperiódica como reguladora de la actividad reproductiva puede no ser la más importante (Martin y cols., 1994) ya que se caracteriza por importantes oscilaciones en la disponibilidad de alimentos a lo largo del año. Estos hechos hacen que los ganaderos que explotan a los caprinos mediterráneos, criados en sistemas extensivos o semiextensivos, hayan adaptado estrategias reproductivas que implican que la respuesta al fotoperiodo pueda ser modulada por otros factores ambientales como la nutrición-condición corporal o sociales como el efecto macho (Lindsay, 1996).

En España, existen numerosas razas dentro de esta especie y entre ellas hay algunas que están en peligro de extinción. Una de ellas es la raza caprina Blanca Andaluza. Esta raza alcanzó un censo importante hasta los años ochenta, debido a sus ventajas ecológicas, gracias al mantenimiento del ecosistema mediterráneo y económicas y sociales y gracias al mantenimiento de la población en las zonas más desfavorecidas. A partir de estos años se impuso la explotación caprina lechera, desplazando a los rebaños extensivos de Blanca Andaluza. En primer lugar, fue

desplazada geográficamente por razas lecheras como la Malagueña y la Murciano-Granadina y en segundo lugar, gracias al cruce indiscriminado con las mencionadas razas lecheras. Hace ya algunos años, Rodero y cols. (1995), en el libro titulado “Conservación de las Razas Autóctonas Andaluzas en Peligro de Extinción”, indicaban que la raza Blanca Andaluza estaba ya al borde de la extinción, era una población casi desconocida desde el punto de vista científico, estaba completamente desestructurada y había perdido su sitio desde el punto de vista comercial. Actualmente, la raza caprina Blanca Andaluza es una raza autóctona calificada como en peligro de extinción. Cuenta con un reducido número de criadores, así como con una carencia casi total de datos reproductivos. Por ello, se hace necesario caracterizar su actividad reproductiva así como la conservación del material genético mediante la congelación del semen. De este modo, en primer lugar se pretende conocer el inicio de la pubertad de chivas y caracterizar la actividad reproductiva de la hembra de esta raza con el fin de poder mejorar y optimizar el manejo reproductivo en las explotaciones ganaderas. Por otro lado, y con el fin de garantizar la conservación de la misma, se pretende desarrollar un banco de semen que contribuya a la supervivencia ex situ de la raza. Para ello, se proponen distintas experiencias al objeto de conocer la influencia del nivel de reservas corporales y el peso vivo sobre diferentes parámetros reproductivos de la hembra: inicio de la pubertad, la actividad reproductiva, pico preovulatorio de LH y estacionalidad reproductiva de la hembra. En el caso del macho, estudiar la estacionalidad de los mismos y la congelabilidad del semen a lo largo del año así como determinar el efecto de la melatonina exógena y fotoperiodo sobre la calidad y congelabilidad del semen obtenido en diferentes épocas del año.

**GLOSARIO DE TÉRMINOS
Y ABREVIATURAS**

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS

ACTH	Adenocorticotropina	hCG	Gonadotropina Coriónica Humana
BOE	Boletín Oficial del Estado	IGF	Factor de crecimiento de la insulina
CASA	Sistemas de Análisis de Semen Asistido por Ordenador	kg	Kilogramos
CC	Condición Corporal	LH	Hormona Luteinizante
cm	Centímetro	LIN	Índice de Linealidad
CRH	Hormona Liberadora de Corticotropina	MEL	Melatonina
DC	Días Cortos	mg	Miligramos
DL	Días Largos	min	Minutos
E ₂	Estradiol	ml	Mililitros
eCG	Gonadotropina Coriónica Equina	mm	Milímetros
FGA	Acetato de fluorogestona	MSH	Hormona Melanocito Estimulante
FPM	Motilidad progresiva	MSHRH/ MSHI	Hormona Liberadora/Inhibidora de la Intermedina
FSH	Hormona Folículo Estimulante	MT _r	Receptores de Melatonina
FSHp	Hormona Folículo Estimulante Porcina	MUA	Unidad Múltiple de Actividad
GH	Hormona del Crecimiento	ng	Nanogramos
GHRH	Hormona Liberadora de Somatotropina	°C	Grados Celsius
GnRH	Hormona Liberadora de Gonadotropinas	pg	Picogramos
h	Horas	Pg	Progesterona
		PGF _{2α}	Prostaglandina F2alfa

PRH+PIH	Hormona Liberadora/Inhibidora de la Prolactina
PV	Peso Vivo
RD	Real Decreto
STR	Porcentaje de Rectitud
TRH	Hormona Liberadora de Tirotropina
TSH	Hormona Tiroestimulante
TT	Tamaño Testicular
UI	Unidades Internacionales
VAP	Velocidad Media
VCL	Velocidad Curvilínea
VSL	Velocidad Rectilínea
WOB	Índice de Oscilación
PRH+PIH	Hormona Liberadora/Inhibidora de la Prolactina
PV	Peso Vivo
RD	Real Decreto
STR	Porcentaje de Rectitud

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN LA CABRA	30
1.1. FISIOLÓGÍA DEL CICLO ESTRAL EN CAPRINO.....	30
1.1.1. CONTROL NEUROENDOCRINO	33
1.1.1.1. CONTROL HIPOTALÁMICO.....	34
- HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS (GnRH)	35
1.1.1.2. CONTROL HIPOFISARIO	38
- HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH)	39
- HORMONA LUTEINIZANTE (LH)	40
1.2. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA.....	41
1.3. FACTORES MODULADORES DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA CAPRINA.....	45
1.3.1 EL FOTOPERIODO COMO FACTOR MODULADOR DE LA REPRODUCCIÓN CAPRINA	45
1.3.2 LA NUTRICIÓN COMO FACTOR MODULADOR DE LA REPRODUCCIÓN CAPRINA	47
2. LA PUBERTAD	49
2.1. LA NUTRICIÓN COMO FACTOR MODULADOR DE LA PUBERTAD CAPRINA	51
3. ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DEL MACHO CABRÍO.....	53
3.1. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA.....	53
3.2. CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA REPRODUCCIÓN EN EL MACHO.....	56
- HORMONA LUTEINIZANTE Y HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE	56
- TESTOSTERONA	57
3.3. EL FOTOPERIODO Y LA MELATONINA COMO HERRAMIENTAS DE CONTROL DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTORA.....	59
3.3.1. EL FOTOPERIODO ARTIFICIAL Y SU MECANISMO DE ACCIÓN	59
3.3.2. LA MELATONINA Y SU ACTUACIÓN EN LA REPRODUCCIÓN	61
3.4. CONSERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO	64
3.4.1. FACTORES QUE AFECTAN A LA CRIOPRESERVACIÓN DEL SEMEN EN CAPRINO	66

1. ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN LA CABRA

1.1. FISIOLÓGÍA DEL CICLO ESTRAL EN CAPRINO

El ciclo sexual o estral se puede definir como el conjunto de cambios morfológicos y fisiológicos que ocurren en los ovarios y el tracto genital que conducen a la expresión del estro (fase de receptividad de la hembra al macho) y la ovulación, así como la preparación del tracto genital para la cópula, fertilización y la implantación embrionaria (Fatet y cols., 2011). Respecto a la duración del ciclo estral, existen diferentes estudios en la especie caprina. Estos estudios sugieren que la mayoría de las cabras presentan un ciclo de una duración de 19 a 21 días (Shelton, 1960; Carrera y Butterworth, 1968; Devendra y Burns, 1970).

El ciclo estral se divide en dos fases: fase folicular y fase luteal. Cada una de estas fases se subdivide a su vez en dos, la fase folicular en proestro y estro y la fase luteal en metaestro y diestro.

La fase folicular tiene una duración de unos 5 días aproximadamente donde se produce el desarrollo de la oleada folicular, maduración de los folículos gonadotropina-dependientes que da lugar al folículo ovulatorio y que finaliza con la ovulación. Esta fase folicular se divide en proestro, donde ocurren tres eventos: el reclutamiento, la selección y la dominancia folicular. En el reclutamiento, un número de folículos comienza su fase final de crecimiento y entran en la foliculogénesis gonadotropina dependiente; en la selección, el número de folículos en crecimiento se vuelve igual al número de ovulaciones, como consecuencia, el folículo ovulatorio comienza a ser dominante y los folículos restantes entran en atresia. Generalmente, se asume que el folículo de mayor tamaño será el seleccionado para la ovulación pero el proceso es muy complejo. Durante la fase de dominancia, sucede el crecimiento y la maduración del folículo preovulatorio (Figura 1). Finalmente, se llega a la segunda parte de la fase folicular, que es la fase estral que abarca desde que comienza el comportamiento estral hasta la ovulación (Driancourt, 2001). Desde el punto de vista hormonal, esta fase folicular se caracteriza porque la FSH secretada por la adenohipófisis estimula el crecimiento folicular. Una cohorte de folículos gonadotropina-dependientes de 2-3 mm de diámetro se reclutan; de estos folículos,

sólo de 2 a 3 alcanzan los 4 mm de diámetro y son seleccionados para la fase de dominancia. Bajo la influencia de la LH, alcanzan la etapa preovulatoria (6-9 mm), mientras que los folículos subordinados degeneran. El incremento en las concentraciones periféricas de 17β -estradiol, secretado por los grandes folículos, induce el comportamiento estral y actúa como un retrocontrol positivo en el eje gonadotrópico. Como consecuencia de lo anterior, el incremento en la secreción de la GnRH induce el pico preovulatorio de LH, el cual da lugar a la ovulación 20-26 h más tarde y posteriormente la luteinización de las células foliculares (Fatet y cols., 2011). En zonas templadas, el proestro dura unas 12 horas, mientras que el estro varía de 12 a 36 horas y la ovulación ocurre entre las 12 a las 36 horas tras la aparición del estro (Smith, 1980).

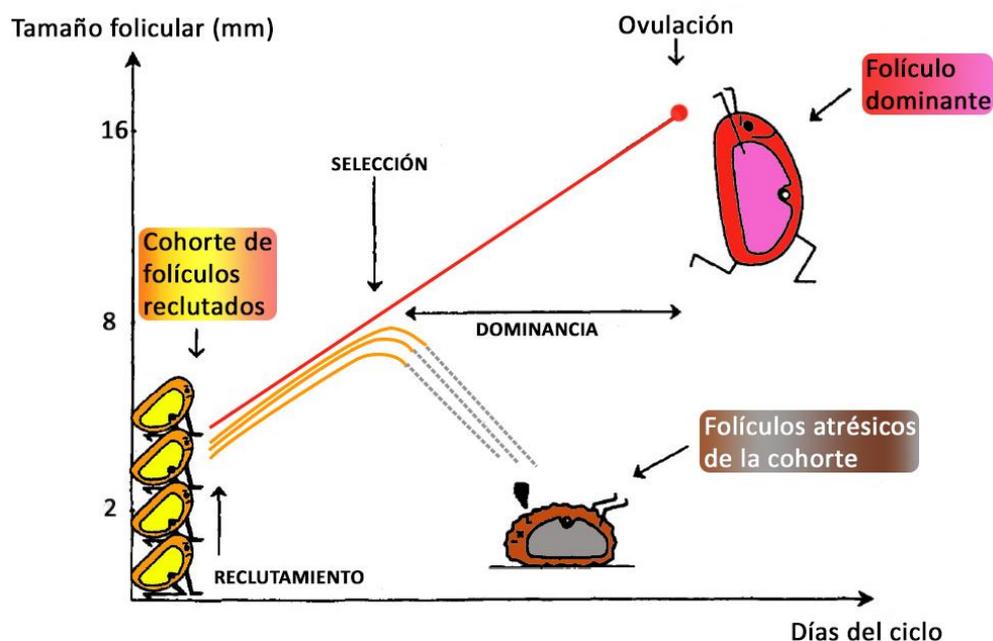


Figura 1: Principales eventos que ocurren durante la oleada folicular. Se representa la oleada ovulatoria, pero los mecanismos son similares en las oleadas anovulatorias (Adaptado de Driancourt, 2001).

Respecto al comportamiento estral, Beach (1976) propone tres conceptos que representan las características de las hembras mamíferas cuando están en celo. La **atracción**, que se refiere a los hechos que atraen y motivan las respuestas sexuales del macho. La **proceptividad**, que incluye las diferentes reacciones de la hembra hacia el macho, las cuales determinan que la hembra acepta una interacción sexual con el

macho. Por último la **receptividad**, que se define como las respuestas y actitudes de la hembra necesarias para la cópula. Los signos externos de comportamiento son más marcados en cabras que en ovejas. La cabra en celo está agitada, bala frecuentemente, agita la cola rápida y constantemente, tiene una reducción del apetito, presenta la vulva edematizada y con secreciones (Zarrouk y cols., 2001). Otro comportamiento característico de la especie caprina (aunque también se describe en bovinos) es la monta a otras hembras (Katz y McDonald, 1992). Como en casi todos los mamíferos, existen evidencias de que los esteroides ováricos juegan un papel en el control del comportamiento sexual en los rumiantes domésticos. En primer lugar, las hembras ovariectomizadas no expresan ningún comportamiento sexual. Y, en segundo lugar, en las especies estacionales, la proporción de hembras en estro está directamente relacionada con la proporción que ovula (Thimonier y Mauléon, 1969). La observación de los cambios hormonales que ocurren alrededor del estro en los rumiantes domésticos y roedores muestra que un incremento en la concentración de estradiol (E_2) siempre precede la expresión del comportamiento estral de 1 a 2 días después (Morali y Beyer, 1979). En ovejas, cabras y vacas, la expresión del comportamiento sexual durante la época de actividad reproductiva es precedida por 12-15 días de fase luteal con altas concentraciones de progesterona en plasma. Las concentraciones de estradiol, aumentan cuando el cuerpo lúteo ha regresado y las concentraciones de progesterona han disminuido (Fabre-Nys y Gélez, 2007).

La fase luteal se inicia desde el momento de la ovulación. Aproximadamente a los 5 días del estro, las células del folículo ovulatorio se transforman en células luteales formando el cuerpo lúteo. Estas células secretan progesterona, aumentando la concentración hasta altos niveles (>1 ng/ml) durante 16 días. Al final de esta fase luteal, 16-18 días tras el estro, la prostaglandina $F_{2\alpha}$ secretada por el útero ingravido induce la regresión del cuerpo lúteo, conocida como luteolisis, disminuyendo las concentraciones de progesterona. A su vez, la fase luteal también se subdivide en dos fases: la fase de metaestro, en la que las concentraciones de progesterona van aumentando, y diestro, que corresponde con el periodo en el que las concentraciones de progesterona están en los más alto y va a comenzar la luteolisis (Fatet y cols., 2011). (Figura 2)

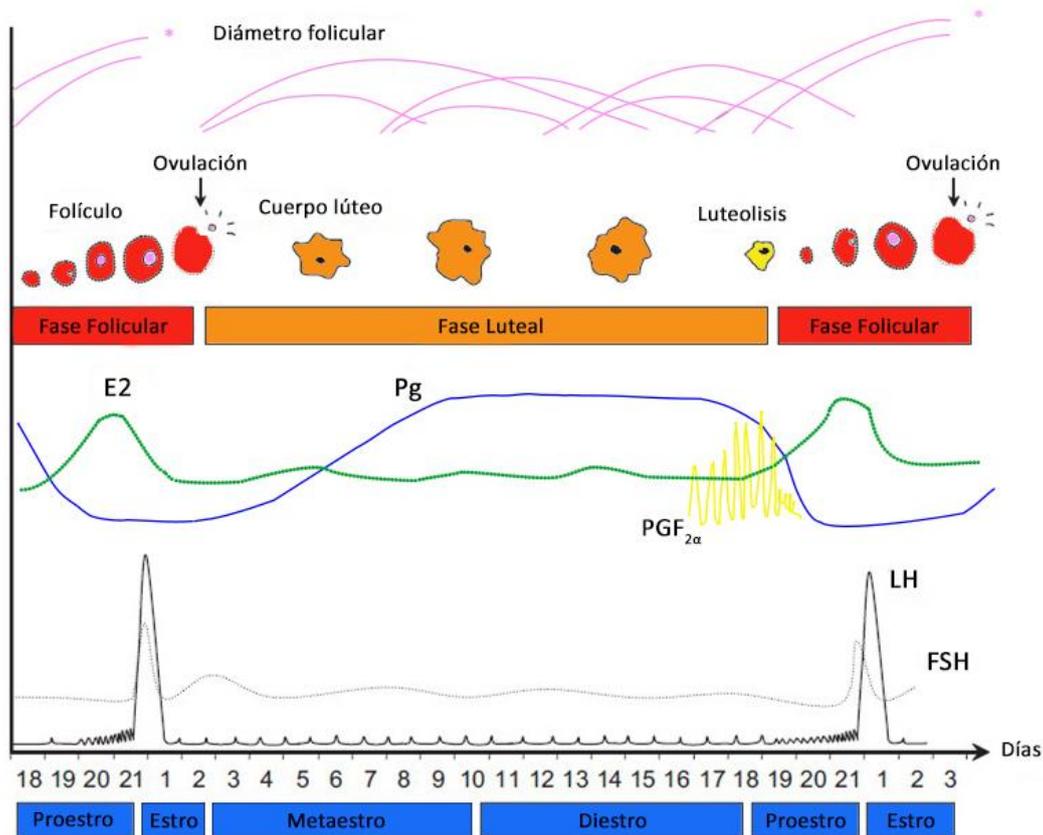


Figura 2: Representación esquemática de los diferentes eventos fisiológicos ocurridos durante el ciclo estral en la cabra: patrón de desarrollo folicular, ciclo ovárico y regulaciones endocrinas. Adaptado de Baril y cols. (1993) y Evans (2003).

Simultáneamente, durante el ciclo estral, ocurren cambios en el tracto genital que facilitan el transporte de espermia, la fecundación y la preparación para la implantación embrionaria. La mucosa vaginal, cervical y uterina se ponen congestivas y con aspecto edematoso en el momento del estro, asociado al alto nivel de estrógenos (Hamilton y Harrison, 1951). Además también se secreta un mucus cervical que controla y dirige la migración espermática.

1.1.1. CONTROL NEUROENDOCRINO

La función de la reproducción está controlada por las neuronas productoras de GnRH en el cerebro, las cuales proporcionan estímulo a las células gonadotropas de la adenohipófisis. La secreción pulsátil de GnRH en el sistema portal hipotálamo-hipofisario estimula directamente la secreción de FSH y LH (Clarke, 1987, 1996). Estas

hormonas estimulan la producción de esteroides sexuales y la formación de gametos. A su vez, los esteroides sexuales ejercen un control de retroalimentación de la GnRH y la secreción de gonadotropinas a través de un *feedback* negativo a corto y largo plazo y una retroalimentación positiva transitoria en hembras (Clarke, 1987) (Figura 3).

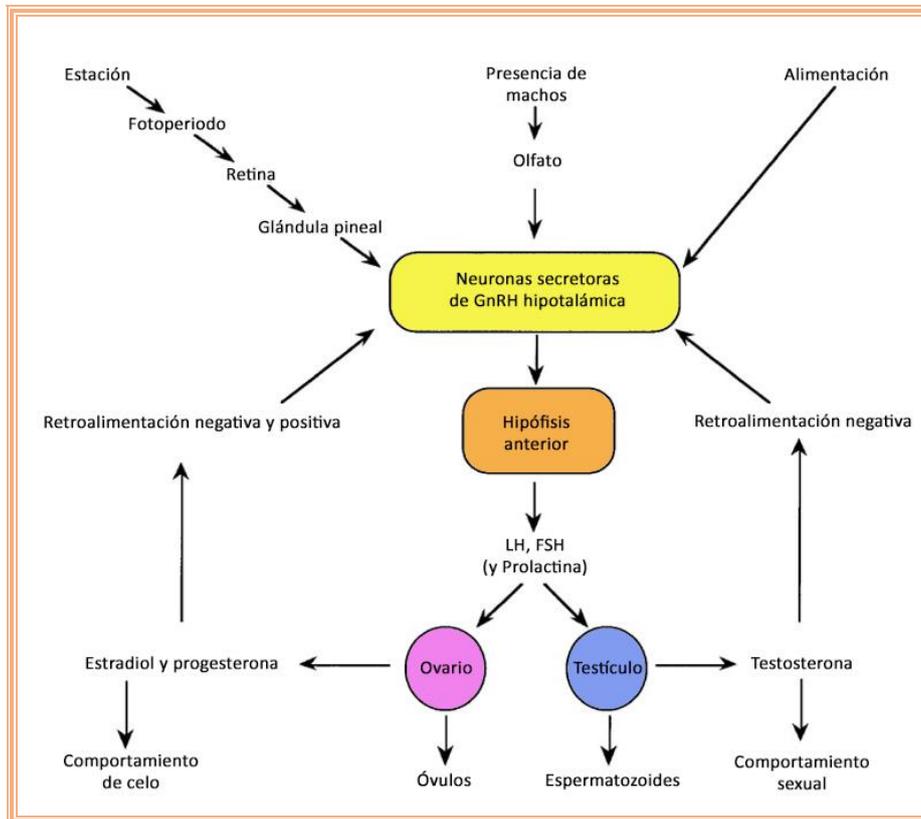


Figura 3: Relación entre los factores medioambientales, el sistema nervioso central, la hipófisis y las gónadas en la especie caprina. Adaptada de Chemineau y Delgadillo (1994).

1.1.1.1. CONTROL HIPOTALÁMICO

El hipotálamo es un área del diencefalo que forma el suelo del tercer ventrículo y que incluye al quiasma óptico, el *tuber cinereum*, los cuerpos mamilares y la eminencia media. El hipotálamo produce péptidos y aminos que actúan sobre la hipófisis para producir: 1) hormonas trópicas, las cuales a su vez influyen sobre la producción de hormonas por parte de los tejidos endocrinos diana o, 2) hormonas que directamente producen un efecto biológico en los tejidos. Además, también es el

centro de control de un gran número de vías de control del sistema nervioso autónomo.

Las neurohormonas producidas en el hipotálamo se conocen como hormonas liberadoras, porque su principal función es estimular la secreción de las hormonas que se originan en la hipófisis anterior. Estas hormonas son la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), hormona liberadora de corticotropina (CRH), hormona liberadora de la somatotropina (GHRH), hormona liberadora/inhibidora de la prolactina (PRH+PIH), y hormona liberadora/inhibidora de la intermedia (MSHRH/ MSHI). Entre ellas se encuentra la GnRH, de gran importancia en la reproducción, que es vehiculada a través del sistema porta hasta la hipófisis anterior.

- **HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS (GnRH)**

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es el factor del cerebro que ofrece la transmisión primaria al eje reproductivo. Sin GnRH, las gónadas no funcionan (Clarke y Pompolo, 2005).

La GnRH es un péptido de 10 aminoácidos que fue caracterizado por primera vez en los mamíferos (Amoss y cols., 1971; Matsuo y cols., 1971). La mayoría de las neuronas productoras de GnRH están localizadas en el área medial preóptica, adyacente al *organum vasculosum lamina terminalis* (Hamada y cols., 1992) y se almacena en la eminencia media. Las neuronas preópticas de GnRH se proyectan a la eminencia media mediante dos rutas: una vía ventrolateral sobre el tracto óptico y una periventricular a lo largo del tercer ventrículo (Lehman y Karsch, 1993)

En general se piensa que la secreción de GnRH está gobernada por dos mecanismos de control distintos: el pulsátil y la descarga ovulatoria (Karsch y cols., 1984; Goodman 1994; Sisk y Foster 2004) (Figura 4). En el primer caso, se generan descargas intermitentes en los vasos portales y de esta forma se regula la secreción pulsátil de LH en la circulación periférica. La frecuencia de pulsos de LH es un determinante crítico del desarrollo gonadal y de la secreción de esteroides, tanto en machos como en hembras. Por el contrario, la descarga ovulatoria, genera una descarga brusca y masiva de GnRH y LH para inducir la ovulación en la hembra. Este

último modo, es activado por un incremento de estradiol (E₂) en el periodo preovulatorio (Karsch, 1984; Goodman, 1994).

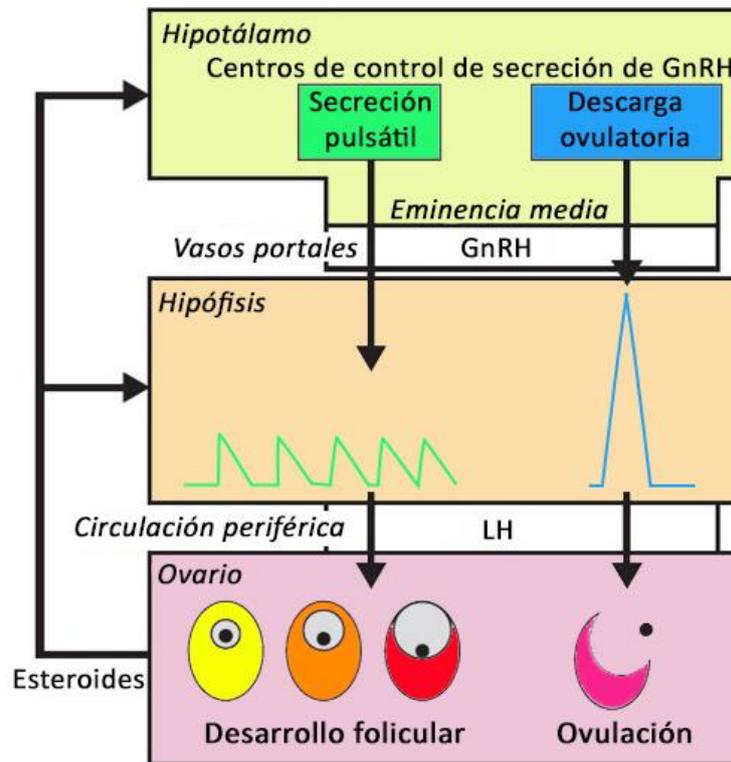


Figura 4: Representación esquemática del mecanismo de control de la reproducción (eje hipotálamo-hipófisis-gonadal) en la hembra. GnRH, hormona liberadora de gonadotropinas; LH, hormona luteinizante. Adaptada de Okamura y Ohkura (2007).

La secreción de GnRH durante el ciclo estral está regulada por los efectos de retroalimentación de los esteroides gonadales. Las células de GnRH se regulan por esteroides gonadales mediante neuronas intermediarias que poseen receptores a los esteroides, tal y como se muestra en la figura 5 (Clarke y Pompolo, 2005). Durante la fase luteal, la secreción de GnRH se caracteriza por una baja frecuencia de pulsos, de gran amplitud (Moenter y cols, 1991; Clarke, 1987, 1995a, 1995b). Al final de la fase luteal del ciclo estral, con la caída en plasma de los niveles de progesterona, la frecuencia de pulsos de GnRH y LH se incrementan (Moenter y cols., 1991; Clarke, 1995b). Al comenzar la fase folicular y aumentar los niveles en plasma de estrógenos,

la frecuencia de pulso de GnRH aumenta y la amplitud disminuye (Clarke y Pompolo 2005).

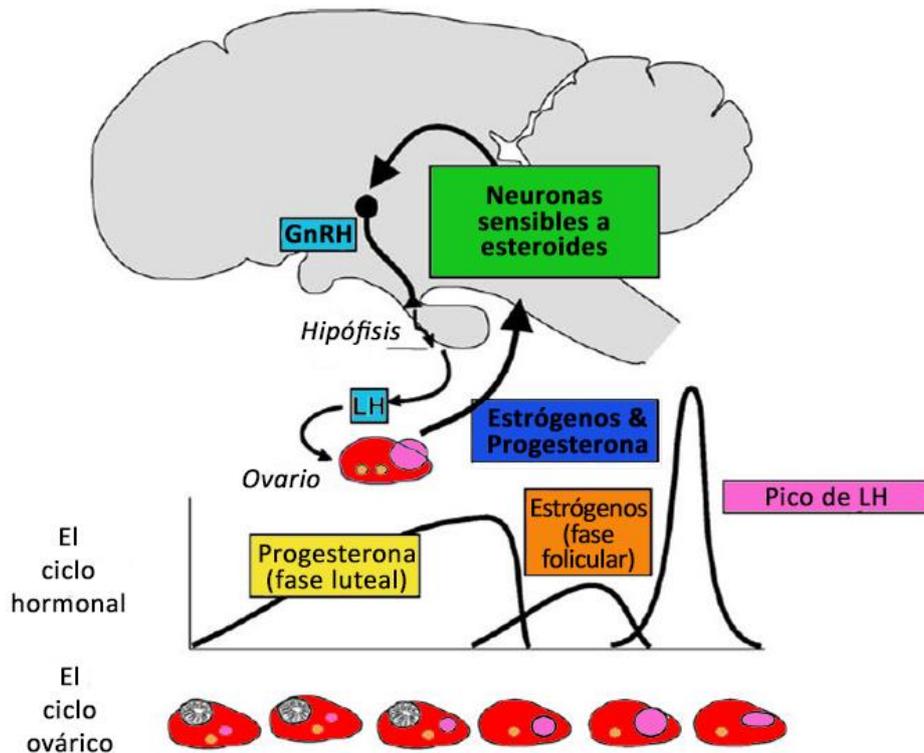


Figura 5: Diagrama del ciclo estral de la oveja donde se muestra la fase luteal de dominancia de la progesterona, la fase folicular de dominancia de los estrógenos y el pico de LH. Adaptada de Clarke y Pompolo (2005).

El pico preovulatorio de LH se asocia con un aumento en la secreción de GnRH (Clarke y cols., 1987; Moenter y cols., 1991). Esto es debido a que, a diferencia de lo que ocurre a lo largo de la mayor parte del ciclo estral donde la GnRH y la secreción de gonadotropinas están reguladas por el *feedback* negativo de los esteroides gonadales, en el momento del pico preovulatorio de LH, la situación es inversa y los estrógenos ejercen una retroalimentación positiva en el eje neuroendocrino. En relación a esta acción del estradiol sobre la secreción de GnRH, existe un estudio que fue pionero en el campo de la neuroendocrinología de ruminantes, donde Mori y cols. (1991) establecieron una técnica electrofisiológica que monitorizaba la actividad neural del generador de pulsos de GnRH como una unidad múltiple de actividad (MUA) en cabras Shiba. Recientemente, la metastina, el producto del gen Kiss-1, ha sido sugerido como

mediador de la acción del E₂ para inducir el pico de GnRH (Kinoshita y cols., 2005; Messenger y cols., 2005).

En cuanto a la secreción de gonadotropinas y la estacionalidad reproductiva, hay variaciones a lo largo del año de éstas. El *feedback* negativo producido por el estradiol, da lugar a variaciones en la secreción de gonadotropinas entre los periodos de anestro y de reproducción, y esto constituye el principal mecanismo neuroendocrino por el cual se regula la secreción de gonadotropinas y por tanto la actividad ovárica (Karsch y cols., 1984). Hay estudios en cabras ovariectomizadas portadoras de implantes subcutáneos de estradiol donde se demuestra estos cambios estacionales en la secreción de gonadotropinas (Zarazaga y cols., 2005; 2011a, b, 2012a). Estos animales muestran concentraciones altas y bajas de LH en plasma que coinciden con los periodos de ovulación y anovulatorios, respectivamente.

En cuanto a la secreción de GnRH y la influencia de los factores ambientales, la mayor parte de las respuestas reproductivas a factores ambientales son coordinadas a nivel cerebral donde todas las entradas externas e internas convergen en último lugar en una vía común que controla la secreción de GnRH.

1.1.1.2. CONTROL HIPOFISARIO

La hipófisis se trata de una glándula endocrina de pequeño tamaño alojada en la silla turca del esfenoides. Está formada por dos porciones:

- La adenohipófisis o hipófisis anterior
- La neurohipófisis o hipófisis posterior

La hipófisis anterior (adenohipófisis) se subdivide en *pars distalis*, *pars intermedia* y *pars tuberalis*. Todas las hormonas de la adenohipófisis se sintetizan y secretan por células endocrinas dentro de sus tejidos. Distintas poblaciones celulares específicas secretan distintos tipos de hormonas. Todas las hormonas de la hipófisis anterior son polipéptidos, proteínas o glucoproteínas y se clasifican en dos grupos principales de acuerdo con sus tejidos diana.

- Las que ejercen su acción en tejidos no endocrinos: hormona del crecimiento (GH), prolactina y hormona melanocito-estimulante (MSH).
- Las que ejercen su acción en glándulas endocrinas: hormona tiroestimulante (TSH), adenocorticotropina (ACTH), hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH).

La hipófisis posterior (neurohipófisis) emerge de la porción inferior del cerebro y está formada por tres segmentos: la eminencia media, que constituye parte del piso del hipotálamo; la *pars nervosa*, lo que significa “porción nerviosa” (también denominada lóbulo posterior) y un segmento que los conecta, el tallo infundibular. En la mayoría de los mamíferos son dos las hormonas que se liberan hacia la sangre en la *pars nervosa*: vasopresina y oxitocina.

- **HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE (FSH)**

La hormona folículo estimulante es una glicoproteína formada por dos subunidades unidas mediante enlace no-covalente. La subunidad α es común para todas (FSH, LH, TSH y hCG - Gonadotropina Coriónica humana), mientras que la subunidad β es específica para cada hormona (Ryan y cols., 1988; Pierce y Parsons, 1981; Combarous, 1992).

La FSH es la encargada de estimular el desarrollo folicular en el ovario, y en particular las células de la granulosa del folículo. Junto con la LH (de la que se hablará más adelante) prepara al folículo para la ovulación y su posterior luteinización (Bousfield y cols., 2006). Estimula la proliferación de las células de la granulosa y después promueve la diferenciación funcional de estas células esteroideogénicas (Robker y Richards, 1998). Otra de las funciones es la estimulación específica de la producción de una hormona esteroidea, la progesterona, y la producción del sistema enzimático (aromatasa) para la conversión de la testosterona en estrógenos (Hsueh y cols., 1984). Por último, también estimula la producción de enzimas implicadas en la activación del plasminógeno (Beers y Strickland, 1978).

Es bien conocido que la síntesis de FSH, al igual que la LH, está regulada por la frecuencia de pulsos de la GnRH. En el caso de la FSH, su secreción se ve favorecida por la baja frecuencia de pulsos (<1 pulso cada 2-3 horas) (Tsutsumi y Webster, 2009). A su vez, está establecido que la secreción de FSH durante el ciclo estral está regulada por el estradiol y la inhibina (Mann y cols., 1992), y las fluctuaciones en el patrón de secreción de estas dos hormonas son responsables de las fluctuaciones de FSH asociadas con las oleadas foliculares.

Las concentraciones de FSH en plasma son altas al inicio de la oleada folicular y decrecen posteriormente hasta mantenerse en estos niveles durante el crecimiento de los folículos (figura 2). Este resultado sugiere que la fluctuación de los niveles circulantes de FSH está involucrada en la fase de reclutamiento y selección folicular (Medan y cols., 2003; 2005). Los folículos en crecimiento secretan inhibina y 17β -estradiol suprimiendo la secreción de FSH (Medan y cols., 2005). En relación a esto, Medan y cols. (2003) describe una correlación negativa entre la FSH e inhibina ya que hay una disminución en plasma de esta última coincidiendo con los picos de FSH de cada oleada folicular. Durante la fase luteal, el crecimiento folicular gonadotropina dependiente permanece activo con oleadas foliculares pero la progesterona impide que se produzca la ovulación (Fatet y cols., 2011).

- ***HORMONA LUTEINIZANTE (LH)***

Al igual que la FSH, la hormona luteinizante es una glicoproteína formada por dos subunidades unidas mediante enlace no-covalente, la subunidad α y la β (Ryan y cols., 1988; Pierce y Parsons, 1981; Combarous, 1992).

La síntesis de LH está regulada por la frecuencia de pulsos de GnRH, viéndose favorecida por frecuencias de pulso rápidas (>1 pulso por hora) (Tsutsumi y cols., 2009). La frecuencia de pulsos de LH durante el ciclo estral está modulada principalmente por la progesterona, la cual actúa en el cerebro prolongando el intervalo entre episodios de descarga de GnRH. Ésta hormona ejerce un papel de retroalimentación negativa en la regulación de la LH durante el ciclo, sin embargo las cantidades circulantes deben ser suficientes para ejercer este control (Chemineau y

cols., 1988a). Por otro lado, la amplitud de pulsos de LH está limitada por el estradiol, el cual actúa, al menos en parte, sobre la hipófisis para disminuir su respuesta a cada pulso de GnRH (Karsch y cols., 1984).

Los eventos preovulatorios ocurren durante los 2-3 días de la fase folicular e incluyen una disminución en la progesterona, un incremento progresivo en la secreción de LH y un sustancial incremento en la secreción de estradiol y por último el pico preovulatorio de LH (Karsch y cols., 1984). La etapa fundamental en esta secuencia es el incremento en la secreción de LH. Este incremento es iniciado en la luteolisis, por la acusada disminución de las concentraciones de progesterona, una potente hormona inhibidora de la LH (Baird y Scaramuzzi, 1976; Karsch y cols., 1977, 1979, 1980). El incremento de LH en suero resultante permite la etapa final de la maduración folicular y conduce al incremento progresivo en la secreción de estradiol necesaria para desencadenar el pico preovulatorio de LH (Goodman y cols., 1981; McNatty y cols., 1981; Mc Neilly y cols., 1982).

La LH es dominante sobre la FSH en el final de la fase folicular (Tsutsumi y cols., 2009). Durante la fase folicular, la frecuencia de pulsos de LH va desde un pulso cada 3-4 horas hasta un máximo de 1 pulso cada 30 minutos justo antes del inicio del pico preovulatorio (Goodman y Karsch, 1981). En la fase luteal, la LH se libera en forma de descargas pulsátiles de baja amplitud. Por lo general, esta hormona se considera un inductor de la ovulación y la responsable de la formación del cuerpo lúteo (Perry, 1971). En la cabra, es liberada por la hipófisis con un pico preovulatorio bien definido ($40,7 \pm 10,12$ ng/ml), el cual induce la preparación final del folículo 24 horas antes de la ovulación. Una vez que ocurre la ovulación, el nivel de LH en sangre se reduce rápidamente hasta niveles que se sitúan entre 0,5-3 ng/ml (Bono y cols., 1983).

1.2. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

Algunas especies de rumiantes, entre las que se encuentran los ovinos y caprinos, muestran ciclos estacionales de reproducción. La domesticación de estas especies no ha sido capaz de modificar el patrón estacional de reproducción presentado por estos animales en la vida salvaje, cuyo objetivo es asegurar que las

crías nazcan en la época más óptima del año, siendo ésta, normalmente, la primavera (Ortavant y cols., 1985).

La estacionalidad reproductiva se caracteriza por cambios a nivel comportamental, endocrino y ovárico, dando lugar a una alternancia anual entre dos periodos distintos; una estación/época reproductiva, caracterizada por una sucesión de ciclos a intervalos regulares (21 días aproximadamente), con comportamientos estrales y ovulaciones y una época de anestro caracterizada por el cese de la actividad sexual. De este modo, tanto la actividad ovárica como el comportamiento de estro muestran variaciones estacionales paralelas, pero existen algunas diferencias en los periodos de transición, al comienzo y final de la estación reproductiva, donde pueden aparecer ovulaciones silentes, ciclos cortos y celos anovulatorios (Fatet y cols., 2011). Por ello, la cabra se define como una especie poliéstrica estacional.

El inicio y la duración del período anual de reproducción depende principalmente de factores ambientales como son la latitud y clima, disponibilidad de alimentos, la raza y el sistema de producción, pero fundamentalmente el fotoperiodo (figura 6 y 7) (Delgadillo y cols., 2004a; Duarte y cols., 2010; Fatet y cols., 2011; Zarazaga y cols., 2011a). De este modo, en latitudes templadas, se distinguen los dos periodos descritos anteriormente y, sin embargo, en latitudes bajas (regiones ecuatoriales, tropicales y subtropicales), donde los cambios en la duración de los días son menos marcados, y por ello la estacionalidad es también más reducida, pueden estar activas sexualmente durante todo el año (excepto un pequeño anestro postparto) (Fatet y cols., 2011). Un factor importante de esta estacionalidad reproductiva, es el componente genético o raza. En general, las razas caprinas son topolitas esto es, habitan generalmente en determinadas regiones y una misma raza no suele presentarse en distintas latitudes al mismo tiempo; por ello es difícil diferenciar el efecto entre el componente genético y el fotoperiodo (latitud) sobre la estacionalidad. Así, una raza originaria de latitudes elevadas siempre presenta una mayor estacionalidad reproductiva que las razas originarias de latitudes medias o próximas al ecuador. Sin embargo, cuando esa raza originaria de latitudes elevadas es llevada a zonas de menor latitud, presenta una estacionalidad reproductiva menor que la que tenía en su región de origen, pero mayor que la que tienen las razas de la región de destino. Por lo tanto, se podría concluir que el fotoperiodo sería el principal factor

que controla la estacionalidad reproductiva pero también hay un importante componente genético que la regula (Chemineau y cols., 2004). Igualmente, tal y como se ha indicado antes, otros factores medioambientales como la nutrición, pueden modificar el inicio de la estación reproductiva, algunas características de los ciclos estrales así como la tasa de ovulación (Henniawati y Fletcher, 1986; Oldham y cols., 1990; Zarazaga y cols., 2005). En este sentido, en el caso de los caprinos mediterráneos, el ciclo reproductivo está muy ligado al clima mediterráneo, que se caracteriza por inviernos suaves, con precipitaciones en otoño y primavera, y veranos muy secos con importantes variaciones en la disponibilidad de alimentos a lo largo del año, lo que conlleva que la nutrición juegue un papel importante en la modulación del ciclo reproductivo (Todaro y cols., 2015).

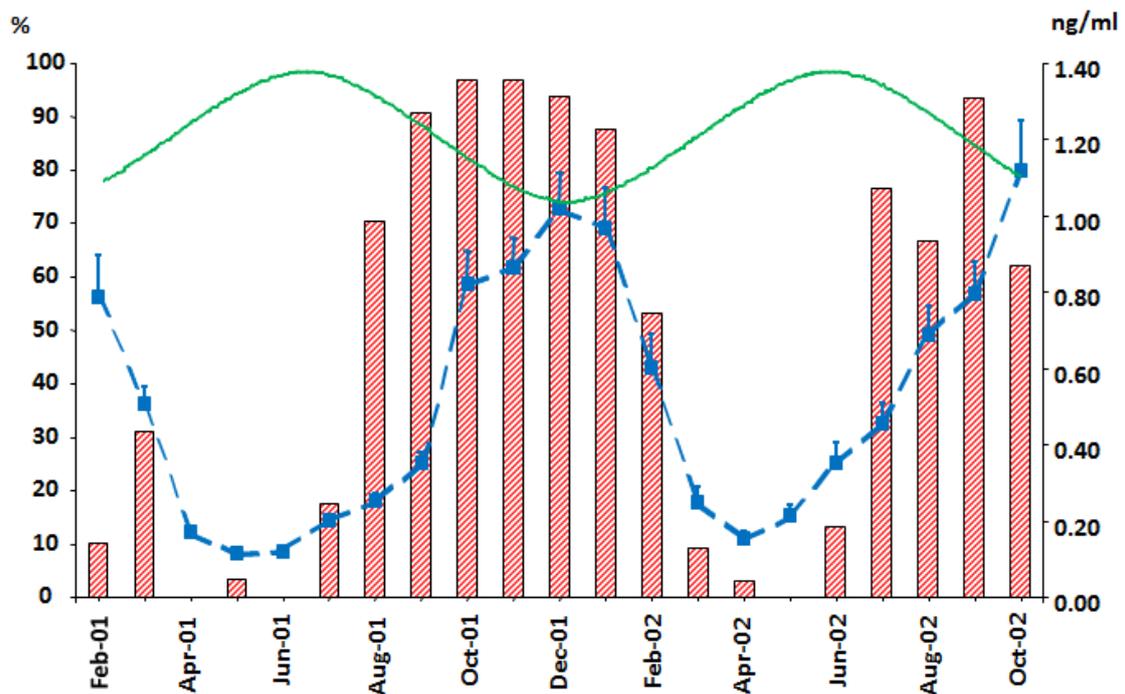


Figura 6: Media mensual del porcentaje de hembras enteras que mostraron actividad reproductiva (estro u ovulaciones) y evolución anual en la secreción de LH (ng/ml) en hembras ovariectomizadas con implantes de estradiol (---). Duración del fotoperiodo (—). Adaptado de Zarazaga y cols. (2005).

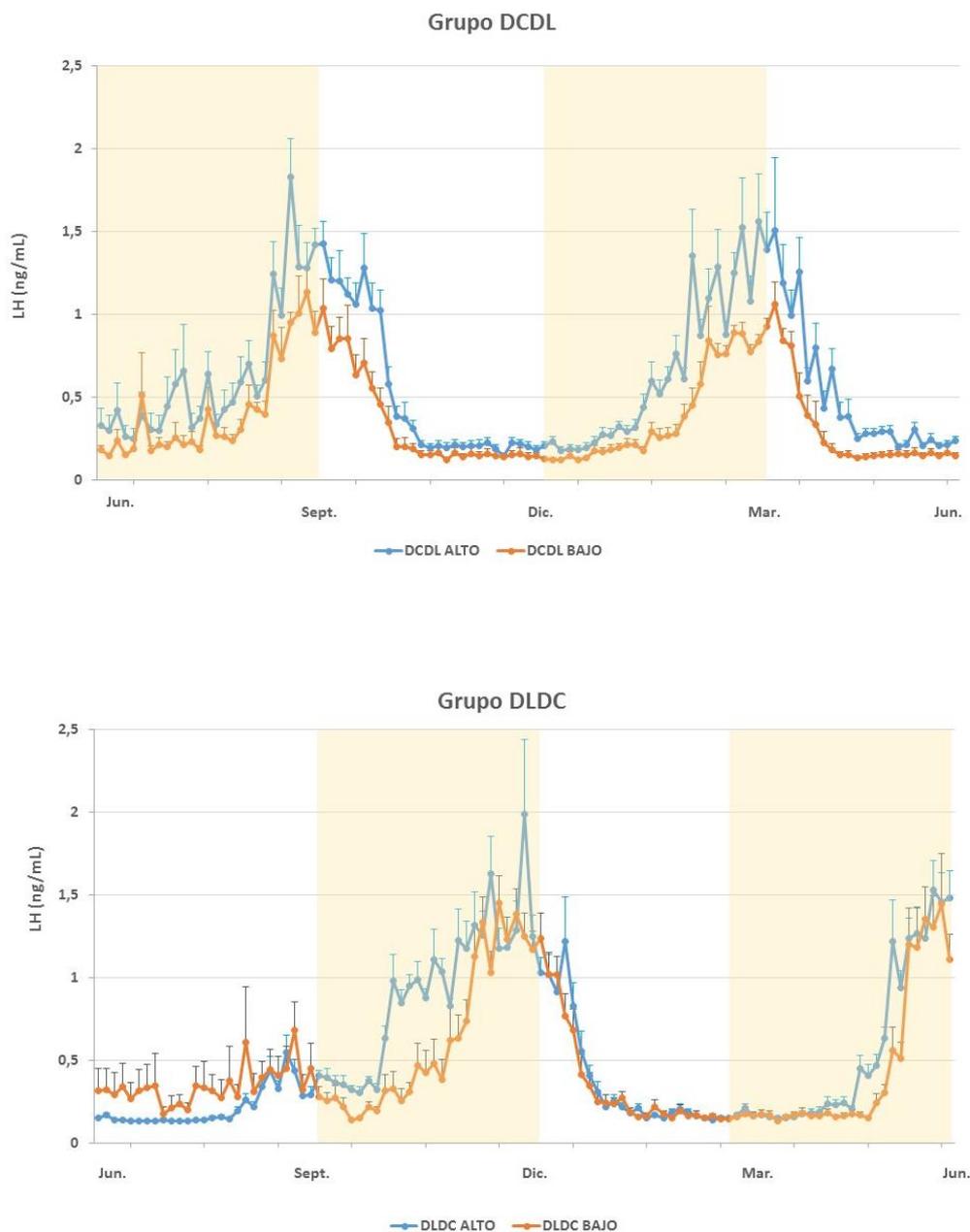


Figura 7: Cambios (media \pm SEM) de las concentraciones de LH (ng/mL) en hembras caprinas mediterráneas sometidas a una alternancia fotoperiódica de 3 meses de días largos y 3 meses de días cortos, iniciándose con días largos (grupo DLDC), o con días cortos (grupo DCDL), y con una alimentación 1,1 (grupo A) o 0,7 (grupo B) veces las necesidades de mantenimiento respectivamente. Las áreas sombreadas indican los periodos en los que los animales estuvieron expuestos a DC. Adaptado de Zarazaga y cols. (2011a).

Esta estacionalidad reproductiva parece que está regulada por diferentes mecanismos neuroendocrinos que han tratado de ser identificados, inicialmente en la oveja (Chemineau y cols., 2008). Así, cambios estacionales en el *feedback* de los esteroides gonadales fueron identificados como uno de los primeros elementos clave del sistema (Pelletier y Ortavant, 1975). Estos cambios estacionales en la actividad reproductiva están originados casi exclusivamente por variaciones en la secreción de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona folículo estimulante (FSH) de la hipófisis, que es controlada a su vez por la pulsatilidad de la GnRH en el sistema cerebro-portal/hipófisis (Barrell y cols., 1992). Estos cambios estacionales en la actividad pulsátil de la GnRH, son regulados, a su vez, por el fotoperiodo y su intermediario que es la melatonina, que actúan sincronizando el ritmo endógeno de la reproducción (Chemineau y cols., 2010).

Debido a estas variaciones, a lo largo del año, de la actividad reproductiva de la especie caprina, también existen fluctuaciones en la obtención de los productos derivados de la producción de estos pequeños rumiantes; de ahí, a su vez la variabilidad en la disponibilidad y precio de los mismos a lo largo del año.

1.3. FACTORES MODULADORES DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA CAPRINA

1.3.1 EL FOTOPERIODO COMO FACTOR MODULADOR DE LA REPRODUCCIÓN CAPRINA

Las especies, que usan el fotoperiodo para la sincronización de la actividad reproductiva, se dividen en dos grupos diferentes: de días largos, las cuales entran en la estación reproductiva al incrementar la duración de los días coincidiendo con la primavera, y de días cortos, que empiezan el periodo fértil al disminuir la duración de los días al inicio del otoño (Karsh y cols., 1984; Hafez, 1952). En este último grupo englobamos a la especie caprina.

Las hembras caprinas suelen presentar variaciones estacionales en el comportamiento sexual, la calidad de los gametos (variaciones en la tasa de fecundación y supervivencia embrionaria), la frecuencia de ovulación (presencia o ausencia de ovulación) y tasa de ovulación (Chemineau y cols., 2010). Estas variaciones

se deben principalmente al fotoperiodo ya que a diferencia de otras variables climáticas como las temperaturas o las precipitaciones, la duración de los días es repetible a lo largo de los años (Karsch y cols., 1984). De este modo, el fotoperiodo interviene en la regulación estacional de la actividad reproductiva mediante dos mecanismos: a través de una respuesta directa a los cambios en el fotoperiodo, es decir, por el paso de días largos a días cortos y viceversa en los que los días decrecientes estimulan y los días crecientes inhiben, o por un ritmo endógeno circanual sincronizado por señales fotoperiódicas (Gómez-Brunet y cols., 2012). Este ritmo endógeno se presenta cuando los animales se someten a un fotoperiodo constante, apareciendo el fenómeno de la fotorrefractoriedad. De este modo, y tras un fotoperiodo constante, se produce un restablecimiento al estado fisiológico reproductivo correspondiente al fotoperiodo previo (Lincoln y cols., 2005). En la especie caprina, es probable que en condiciones ambientales naturales, cada transición reproductiva sea generada de manera endógena como reflejo de un ritmo reproductivo circanual sincronizado por el fotoperiodo de manera similar a lo observado en ovejas (Karsch y cols., 1989). Debido a esto, la exposición a días largos en primavera y verano parece sincronizar un proceso endógeno que conduce a un inicio espontáneo de la actividad reproductiva en otoño (Malpoux y cols., 1989; Wayne y cols., 1990). En la oveja, la actividad ovulatoria se detiene tras 120-150 días de exposición constante a días cortos y esta actividad se reinicia tras 6 meses de exposición constante a días largos (Thimonier, 1989).

La latitud también juega un papel muy importante en la regulación fotoperiódica de la actividad reproductiva. De forma general, a mayor latitud, mayor dependencia del fotoperiodo y mayor restricción de la época de actividad reproductiva (Poulton, 1987). Así, los animales de regiones ecuatoriales y tropicales están sujetos a una menor variación del fotoperiodo mostrando un mayor periodo reproductivo, mientras que los animales de las regiones más alejadas del ecuador y las regiones polares presentan unos efectos estacionales más claros debido a unas mayores variaciones entre el día más largo y más corto del año (Fatet y cols., 2011). De este modo, en los países templados bajo condiciones naturales, las cabras presentan un ritmo endógeno sincronizado con el fotoperiodo (Bondurant y cols., 1981), de tal manera que la época de actividad reproductiva se produce durante el otoño/invierno

mientras que el anestro tiene lugar en primavera/verano (Karsch y cols., 1989). Existen diversos estudios que demuestran esta variabilidad estacional en función de la latitud geográfica en la que se sitúan los animales. En Francia (46° N), cabras de raza Alpina presentaban una frecuencia de ovulación del 0% entre marzo y septiembre mientras que de octubre a enero pasaba a ser de un 100% (Chemineau y cols., 1992a). En Argentina (30° S), con cabras Criollas subtropicales, la época reproductiva se da desde febrero/marzo hasta septiembre y el anestro estacional durante los meses de octubre a enero (Rivera y cols., 2003). En la región mediterránea de España (36-40° N), la actividad ovulatoria durante el año ha sido estudiada en la raza Malagueña y Payoya (Gómez-Brunet y cols., 2003, 2010; Zarazaga y cols., 2005, respectivamente) presentando una marcada estacionalidad en la actividad ovulatoria cíclica durante el año.

Desde el punto de vista neuroendocrino, el fotoperiodo controla la secreción de las gonadotropinas a través de la secreción de melatonina. La información fotoperiódica percibida por los ojos es transmitida a la glándula pineal donde la luz se traduce en un ciclo diario de secreción de melatonina con altos niveles durante la noche y bajos niveles durante el día (Arendt, 1998). De este modo, la duración nocturna de la secreción de melatonina (que refleja la duración de la noche) regula la secreción pulsátil de GnRH desde el hipotálamo y esta a su vez la secreción de LH.

1.3.2 LA NUTRICIÓN COMO FACTOR MODULADOR DE LA REPRODUCCIÓN CAPRINA

Tal y como se ha indicado anteriormente, el fotoperiodo es el principal factor que controla la estacionalidad reproductiva. Sin embargo, existen otros factores, entre los que se encuentra la nutrición, que pueden modular la actividad reproductiva (Walkden-Brown y cols., 1999; Scaramuzzi y Martin, 2008). Tradicionalmente, las cabras se han distribuido en zonas con fluctuaciones en la disponibilidad de alimentos a lo largo del año (Silanikove, 2000), lo que da lugar a variaciones en la cantidad y calidad de la ingesta y a su vez en su peso vivo y condición corporal. Esta condición corporal genera una serie de señales a corto y largo plazo, y estas señales a su vez influyen en la secreción de GnRH y LH (Archer y cols., 2002) y la función ovárica

incluyendo el desarrollo folicular y las ovulaciones (Scaramuzzi y cols., 2006). Así, desde el punto de vista neuroendocrino, en la especie caprina, unos niveles nutricionales bajos pueden afectar a las concentraciones plasmáticas de LH induciendo cambios en la liberación hipotalámica de GnRH, lo que reduce la secreción pulsátil tanto de GnRH como de LH, conllevando a una parada reproductiva (l'Anson y cols., 1994; Kile y cols., 1991).

Existen diversos estudios que demuestran la influencia de la nutrición en la actividad reproductiva. De este modo, Zarazaga y cols. (2005) demostraron que cabras con un mayor nivel de alimentación y por tanto un mayor peso vivo y condición corporal presentaban una mayor duración de la época reproductiva y un menor anestro estacional. Del mismo modo, De Santiago-Miramontes y cols. (2009) describieron que cabras con una menor condición corporal tuvieron una estación reproductiva más corta, una menor tasa de ovulación y una duración de los ciclos más errática. Resultados similares se obtuvieron en otros estudios (Mellado y cols., 1991; Walkden-Brown y cols., 1994b). Urrutia-Morales y cols. (2009), trabajando con cabras subtropicales, concluyeron que la actividad reproductiva durante el anestro está parcialmente modulada por la nutrición. Además, en hembras caprinas con una menor condición corporal, la frecuencia de ciclos cortos y largos es mayor que en hembras con una mejor condición corporal (Rondina y cols., 2005). En relación a la nutrición-peso vivo, Tanaka y cols. (2002) demostraron que la secreción pulsátil de LH en cabras con bajo peso vivo era más sensible a una acusada restricción alimenticia en animales más pesados, sugiriendo que existe un peso vivo crítico que influye en la actividad endocrina en respuesta a una insuficiencia metabólica.

Respecto a la tasa de ovulación, los resultados son contradictorios, ya que para Henniawati y Fletcher (1986) fue mejor en los casos de una mejor condición corporal mientras que en otros estudios no se observaron efectos de este factor sobre la tasa de ovulación (Zarazaga y cols., 2005).

2. LA PUBERTAD

La pubertad puede ser definida como la edad en la que ocurre la primera ovulación y/o primer comportamiento de estro en las hembras y la primera monta y/o eyaculación en el macho (Delgadillo y cols., 2007).

En términos neuroendocrinos, la pubertad coincide con la activación del sistema hipotálamo-hipofisario que inicia la secreción de GnRH, que conduce a un incremento sostenido en la liberación pulsátil de GnRH, lo que a su vez estimula la liberación de gonadotropinas y de la actividad gonadal (Ebling, 2005) (figura 8).

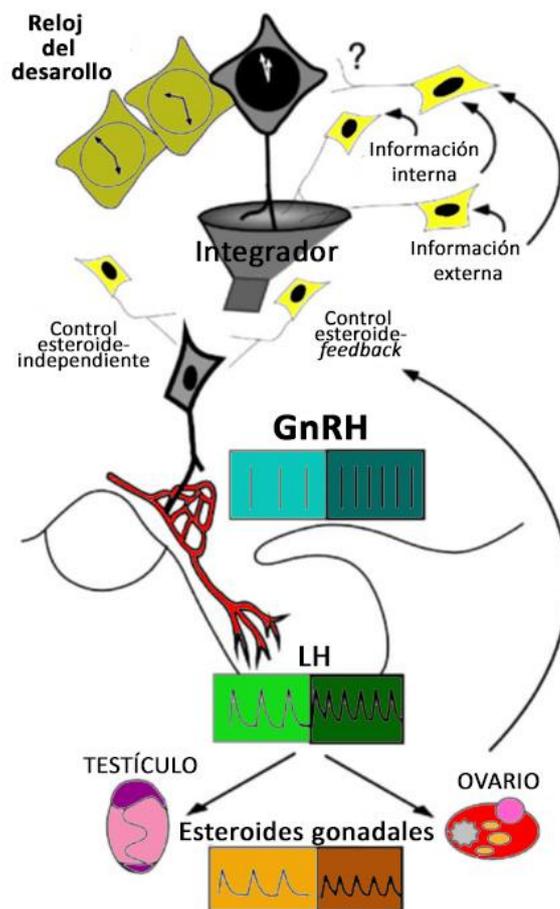


Figura 8. Integración de las señales y el control de los mecanismos que regulan la secreción de GnRH y el inicio de la pubertad. El incremento de GnRH en la pubertad está programado por un reloj el cual está ajustado por múltiples señales que dan información del ambiente exterior e interior. Estas señales alteran los mecanismos *feedback* esteroide dependiente e independiente para producir el incremento necesario en la frecuencia de pulsos de GnRH, los cuales estimulan la secreción de

gonadotropinas de la hipófisis para aumentar la producción de esteroides gonadales y así promover la gametogénesis. Adaptado de Sisk y Foster (2004).

Los cambios en el patrón de liberación de la GnRH durante la pubertad están bajo mecanismos de control esteroide dependientes y esteroide independientes. Los mecanismos esteroide dependientes, implican cambios en la sensibilidad de las neuronas de GnRH a la regulación *feedback* negativa de los esteroides gonadales (Foster, 1994). Aunque la capacidad de liberación de pulsos de GnRH de alta frecuencia es inherente desde una edad temprana, esto no se expresa totalmente debido a la presencia de esteroides gonadales y la gran sensibilidad del sistema GnRH a estos esteroides. En el momento en el que se alcanza la pubertad, la sensibilidad a los esteroides gonadales disminuye, lo que permite un incremento de la frecuencia de pulsos de GnRH (Foster, 1984, 1994; Olster y Foster, 1986). Este cambio, parece ser la clave de la función reproductora. Así, se ha observado, en corderas, que de 1 a 3 semanas, antes de la llegada de la pubertad, hay una disminución progresiva en la sensibilidad al efecto de *feedback* negativo de los estrógenos, resultando en un incremento en la frecuencia de pulso de la LH (Foster y Ryan, 1979; Keisler y cols., 1983; Huffman y cols., 1987; Ryan y cols., 1991). Este incremento permite el desarrollo y la maduración de los folículos ováricos que producen estradiol, el cual induce el comportamiento estral y el pico preovulatorio de gonadotropinas (Foster y Ryan, 1981). A pesar de que en hembras prepúberes el centro de GnRH es muy sensible al *feedback* positivo de estradiol, éste se mantiene inactivo en ausencia de incrementos prolongados de concentraciones fisiológicas de estradiol (Foster, 1984).

La base neuroendocrina de la pubertad ha sido objeto de muchos estudios en las últimas décadas y la identificación de los factores que activan el inicio de la secreción de GnRH en la pubertad ha conllevado una considerable atención. Un avance significativo en neuroendocrinología reproductiva ha sido el reconocimiento del papel fundamental de la kisspeptina (producto del gen Kiss-1) y su receptor GRP54, como regulador principal del inicio de la pubertad (Seminara y cols., 2003; Roa y cols., 2011). Las células de kisspeptina en el hipotálamo parecen ser el nexo perdido en el control de la secreción de GnRH por el *feedback* de los esteroides sexuales.

Diversos factores pueden jugar un papel importante en el inicio de la pubertad de hembras caprinas. Entre estos factores se encuentran los genéticos y ambientales, así como la interacción entre ambos (Land, 1978; Foster, 1994). Entre estos factores ambientales destacan la época de nacimiento, el estado nutricional incluyendo el peso vivo, condición corporal, metabolitos (glucosa, colesterol, triglicéridos) y hormonas metabólicas como la insulina, leptina e IGF's (Yelich y cols., 1996; Cheung y cols., 1997), y factores sociales como el efecto macho (Schinckel, 1954; Greyling y Van Niekerk, 1990).

Respecto a la época de nacimiento-fotoperiodo es el principal factor que determina el inicio de la pubertad (Greyling y Van Niekerk, 1990; Foster, 1994; Zarazaga y cols., 2009c) pero sólo si el eje reproductivo está suficientemente desarrollado (Foster, 1981; Foster, 1983; Nowak y Rodway, 1985; Foster y cols., 1986, 1989a; Ebling y Foster, 1989). Así, dependiendo del momento de nacimiento, los animales experimentan diferentes estímulos, de tal manera que la edad a la que alcanzan la pubertad difiere de acuerdo a la época de nacimiento. De este modo, Zarazaga y cols. (2009c), demostraron con chivas de raza Payoya que, independientemente del nivel de alimentación, la época de nacimiento era el principal factor que controlaba el inicio de la pubertad. Resultados similares fueron obtenidos en otros estudios con distintas razas: Damascus (Papachristoforou y cols., 2000), Anglo-nubiana y Saanen (Freitas y cols., 2004) y Deveson y cols., (1992) con cabras Saanen.

2.1. LA NUTRICIÓN COMO FACTOR MODULADOR DE LA PUBERTAD CAPRINA

Otro factor que parece tener una gran influencia sobre el desencadenamiento de la pubertad es la nutrición y su relación con el peso vivo-condición corporal durante el periodo prepuberal. En relación a esto, se consideran dos hipótesis: la hipótesis del "peso vivo" en la que se considera que es necesario un peso vivo crítico, del cual una determinada proporción debe ser grasa, para desencadenar la pubertad (Frisch, 1988); por otro lado, la hipótesis "metabólica" la cual considera que el peso y la grasa son consecuencias de determinados cambios metabólicos que ocurren antes y alrededor

de la pubertad. De acuerdo a esta hipótesis, las sustancias vehiculadas por la sangre (metabolitos, hormonas o una combinación de ambas) actúan como señales para el cerebro que determinan si el organismo está preparado metabólicamente para el inicio de la pubertad (Steiner, 1987; Foster y cols., 1989b).

Existen diversos estudios que demuestran una asociación entre el crecimiento, el estado nutricional y el inicio de la pubertad de forma que un retraso en el crecimiento provocado por un déficit energético da lugar a un retraso en el desencadenamiento de la pubertad en roedores (Merry y Holehan, 1979), ovejas (Foster y Olster, 1985) y vacas (Schillo, 1992). De este modo, animales sobrealimentados alcanzan la pubertad a una edad más temprana, mientras que si el crecimiento es más lento como resultado de un nivel de alimentación bajo, la pubertad se verá retrasada (Quirke, 1979; Adam y cols., 1998; Chentouf y cols., 2011) principalmente como consecuencia de que los animales jóvenes alcanzan más tempranamente el peso vivo adecuado para que se inicie la pubertad. Así, en chivas se ha observado que alcanzan la pubertad cuando su peso vivo es el 60-65% del peso vivo adulto (Smith, 1980). Sin embargo, existen algunos resultados contradictorios, tanto en ovejas como en cabras, en los que ni el peso vivo ni el nivel de ingesta han influido sobre el momento de inicio de la pubertad (Adam y cols., 1998; Zarazaga y cols., 2009c) probablemente debido a que los niveles nutricionales no han sido lo suficientemente diferentes como para generar diferencias. Hay que tener en cuenta, que el eje reproductivo es más sensible a alteraciones nutricionales, como el ayuno, en animales inmaduros, que en los animales sexualmente maduros (Zieba y cols., 2008). Lo que parece estar claro es que el retraso de la pubertad en animales desnutridos se atribuye a la menor frecuencia de pulsos de GnRH y por tanto de pulsos de LH (Foster y Olster, 1985; Foster y cols., 1985; l'anson y cols., 1997; Polkowska y cols., 2003). Este hecho es debido a que, para poder alcanzar la pubertad, es necesario un estado metabólico mínimo/crítico capaz de soportar una mayor frecuencia de pulsos de GnRH (Foster y Nagatani, 1999). Este estado se podría definir como una cantidad mínima de "combustible metabólico o grasa" (Valasi y cols., 2012). Para conocer este estado, existe una hormona derivada del tejido adiposo, la leptina, que es la principal hormona metabólica que actúa como señal indicadora al cerebro de la condición corporal del animal (Ebling, 2005) y tiene capacidad para modular la secreción de LH (Zieba y cols.,

2005), al igual que la insulina (Tanaka y cols., 2000). De hecho, se ha detectado un aumento pre-púber de ambas hormonas en corderos/as (Chadio y cols., 2011).

Por tanto, se podría concluir que tanto el fotoperiodo como la nutrición y sus efectos ejercen un papel conjunto en el desencadenamiento de la pubertad mediante la activación de pulsos de GnRH.

3. ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DEL MACHO CABRÍO

3.1. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

En los machos, la actividad reproductiva (comportamiento sexual y actividad espermatogénica), aunque nunca cesa totalmente, su intensidad varía enormemente a lo largo del año (Chemineau y cols., 2010), siendo, el fotoperiodo, el que controla estas variaciones del comportamiento sexual y la actividad testicular, a través de un mecanismo regulado por la melatonina (Bartness y Goldman, 1989). El comportamiento sexual y la calidad seminal son importantes factores que limitan la eficiencia reproductiva del macho a lo largo del año (Barkawi y cols., 2006) y pueden variar dependiendo de la raza, la localización geográfica, la estación del año (Chemineau, 1986; Canedo y cols., 1996; Karagiannidis y cols., 2000), el tamaño testicular (Islam y Land, 1977; Lincoln y Short, 1980; Dufour y cols., 1984; Ahmad y Noakes, 1995) y las gonadotropinas circulantes (Lincoln y Short, 1980; Sanford y cols., 1984; Pelletier y Almeida, 1987; Pérez y Mateos, 1995; Kaya y cols., 1999). Sin embargo, la estación del año parece ser el principal factor que afecta a las características seminales, tamaño testicular, secreción de testosterona y comportamiento sexual en la especie caprina, tal y como es descrito en distintos estudios. Respecto al tamaño testicular y secreción de testosterona, Zarazaga y cols. (2009b), con machos de raza Payoya, describen que el tamaño testicular presentaba valores decrecientes desde el final del verano hasta el final del invierno y valores crecientes desde la primavera hasta la mitad del verano. En cuanto a la secreción de testosterona, se alcanzaron valores máximos en verano, resultados similares a los obtenidos por Todini y cols. (2007) con 4 razas caprinas mediterráneas (Ionica,

Garganica, Maltese y Roja de Siria). Igualmente, en machos de raza Alpina y Saanen, los niveles de testosterona fueron basales de enero a junio y se incrementaron de agosto a septiembre para luego disminuir progresivamente hasta diciembre. Respecto al tamaño testicular, fue mínimo en primavera y máximo al final del verano (Delgadillo y cols., 1993). En cuanto a las características seminales, (volumen, concentración y número de espermatozoides), las variaciones estacionales obtenidas por Zarazaga y cols. (2009b) fueron similares a las obtenidas en otros estudios llevados a cabo con otras razas caprinas españolas por Pérez y Mateos (1995) y Roca y cols. (1992). También Barkawi y cols. (2006) describen variaciones estacionales de la libido y calidad seminal en machos Zaraibi. Del mismo modo, Delgadillo y cols. (1991), en machos cabríos de raza Alpina, observaron grandes variaciones a lo largo del año en el volumen de eyaculado, concentración espermática, número total de espermatozoides, calidad espermática y fertilidad.

En zonas templadas, el fotoperiodo es el principal factor ambiental que regula la actividad reproductiva en caprino (Shelton, 1978; Chemineau y cols., 1992a, 1999), modulando el comportamiento sexual y la actividad testicular, a través de un mecanismo regulado por la melatonina (Bartness y Goldman, 1989). Dependiendo de la latitud, se observan diferencias en las características reproductivas. En latitudes altas e intermedias, la estación reproductiva comienza cuando la duración de la luz diaria empieza a disminuir (otoño) y finaliza en invierno, cuando el fotoperiodo es creciente. Sin embargo, existe una variación considerable entre las distintas razas caprinas (Restall, 1992; Mascarenhas y cols., 1995; Amoah y cols., 1999; Zarazaga y cols., 2005).

Los machos cabríos, originarios de regiones templadas, generalmente presentan una marcada variación estacional en la actividad reproductiva. Tal es el caso de machos de raza Alpina y Saanen en una latitud de 46° N, donde la disminución de la duración del día, en otoño, es acompañada por un incremento en la producción de hormonas gonadotropas y en los niveles de testosterona, con una secreción máxima y una disminución en los niveles de prolactina en Septiembre (Delgadillo y Chemineau, 1992). Estos cambios hormonales están también asociados con cambios en la libido y con un incremento en calidad y cantidad de la producción espermática durante la estación reproductiva, tal y como muestran los resultados obtenidos por Delgadillo y

cols. (1991) con machos de raza Alpina y Saanen. Igualmente, Ritar (1991) también demostraron variaciones en el tamaño testicular respecto a las variaciones del fotoperiodo en machos Angora y en nuestras latitudes Zarazaga y cols. (2009b) observaron variaciones estacionales en las concentraciones de testosterona.

En nuestras latitudes, trabajando con machos de raza Payoya Zarazaga y cols. (2009b) también observaron importantes variaciones de la actividad reproductiva, tiempo de eyaculación, volumen de eyaculado y concentración y producción espermática a lo largo del año, independientemente del nivel de alimentación recibido por los machos.

Durante el periodo de reposo sexual en los machos, la secreción de la LH y en consecuencia de testosterona es baja. Esto conlleva que su olor y su comportamiento sexual, dependientes de la testosterona, sean bajos o incluso ausentes durante ese periodo (Delgadillo y cols., 1992; Walkden-Brown y cols., 1994b; Delgadillo y cols., 1999). Hay que indicar, que el olor sexual, tanto en cabras como en ovejas, estimula la secreción de LH en las hembras (Knight y Lynch, 1980; Over y cols., 1990). Este olor sexual en caprinos es un componente de la grasa que es testículo-dependiente y que varía con la actividad de las glándulas sebáceas, especialmente en la región del cuello y la cabeza (Jenkinson y cols., 1967; Walkden-Brown y cols., 1994b; Hillbrick y Tucker, 1996). Esta variación está muy influenciada tanto por la estación como por el nivel nutricional (Birch y cols., 1989; Claus y cols., 1990).

Siguiendo con el comportamiento sexual, existen diversos estudios que describen un comportamiento homosexual en esta especie. Algunas investigaciones lo relacionan con jerarquías sociales (Dagg, 1984; Klemm y cols., 1983). Sin embargo, también se han considerado otros factores ambientales y sociales como la estacionalidad (Holeckova y cols., 2000) y la separación de las hembras (Ungerfeld y cols., 2013), como posibles causas de estos comportamientos. En cabras montesas, la mayor frecuencia de montas entre machos se observó a principio de la estación reproductiva (Freitas-de-Melo y cols., 2014). Por tanto, los comportamientos homosexuales en los machos cabríos pueden tener un patrón estacional y estar relacionados con la concentración de testosterona. Ungerfeld y cols. (2013) concluyen que machos criados en aislamiento de las hembras muestran comportamientos de monta hacia machos más frecuentemente que los que se han criado en contacto

permanente con hembras. Por tanto, estos autores, sugieren que estos machos criados aislados de hembras, consideran a otros machos como posibles parejas. Por ello, este aislamiento de las hembras es determinante en la frecuencia de monta entre machos.

3.2. CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA REPRODUCCIÓN EN EL MACHO

- *HORMONA LUTEINIZANTE Y HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE*

La actividad espermatogénica es dependiente de la hormona luteinizante y la hormona folículo estimulante. Éstas, no sólo participan en la diferenciación y multiplicación de las células germinales, sino también en la síntesis y secreción de la testosterona por las células de Leydig en los testículos (Chemineau y Delgadillo, 1994).

La LH no es liberada de forma continua por la hipófisis. Se trata de episodios bruscos de liberación, controlados por la actividad de las neuronas del hipotálamo, alternados con periodos de reposo durante los cuales se registra una secreción basal. Estos episodios de secreción, llamados pulsos, se caracterizan por su amplitud, directamente relacionada con la cantidad de LH liberada a la circulación general. El estudio de la secreción rápida de LH en diferentes razas y estados fisiológicos sugiere que la frecuencia de los pulsos es, al menos, tan importante como su amplitud para determinar la respuesta de las gónadas (Muduuli y cols., 1979, Delgadillo y Chemineau 1992). Estos cambios bruscos en la concentración plasmática de LH dan lugar a una rápida estimulación de las células de Leydig que responden con la liberación de testosterona en la sangre. Cada pulso de LH está seguido de un pulso de testosterona cuya amplitud varía según la situación fisiológica del macho (Chemineau y Delgadillo, 1994).

Las variaciones estacionales de LH están relacionadas con la retroalimentación negativa ejercida por los esteroides sexuales, particularmente el 17β estradiol. Este hecho ha sido demostrado por Walkdem-Brown (1991), trabajando con machos Cashmere en Australia. Cuando los machos estaban castrados, pero llevaban implantes subcutáneos de 17β estradiol, que permite una liberación constante de la hormona, manifestaron una variación estacional de LH, similar a animales enteros mientras que

machos castrados sin implantes no mostraron variación alguna de LH a lo largo del año.

Por otra parte, la FSH es secretada de una manera más compleja que la LH y parece ser continua en lugar de episódica (Muduuli y cols., 1979). La FSH es una hormona que estimula la producción de inhibina por las células de Sertoli y los túbulos seminíferos y ésta a su vez inhibe la secreción de FSH (Tilbrook y cols., 1992; Medan, 2006; De Kretser y cols., 2000). Además también se ha observado que la relación entre las concentraciones plasmáticas de inhibina y FSH en carneros y toros indican que la FSH estimula la producción de inhibina en estas especies, pero no existen estudios que demuestren, en machos de otras especies de animales domésticos, el papel de la FSH en la estimulación de la producción de inhibina (Tilbrook y cols., 1992). Está establecido en los machos de los animales domésticos, que la secreción de FSH está influenciada por la retroalimentación negativa de las hormonas testiculares (Tilbrook y cols., 1992). Tanto la inhibina como la testosterona juegan un papel fisiológico en la regulación de la secreción de FSH en los machos caprinos tal y como lo demuestran Araki y cols. (2000) en caprinos de raza Shiba.

- **TESTOSTERONA**

La testosterona es la hormona responsable de la espermatogénesis y el comportamiento sexual, por tanto, el patrón estacional de la secreción de testosterona podría limitar la eficiencia reproductiva durante algunos periodos del año (Todini y cols., 2007). Es bien conocido que la testosterona es secretada en las células de Leydig bajo la influencia de la LH. Además, la aparición constante de picos de testosterona tras los picos de LH, implica que la secreción de esa hormona es pulsátil al igual que la LH (Muduuli y cols., 1979).

La actividad del eje hipotálamo-hipófisis-testicular en el macho cabrío es estacional y el momento de inicio de la actividad secretora de testosterona por los testículos, depende de la latitud en que se encuentren los animales (Barrel y Lapwood, 1978/1979). Además, está muy relacionada con las variaciones en la duración de los días. De este modo, los días cortos o decrecientes, estimulan la secreción de LH, que a

su vez induce el crecimiento testicular y la liberación de testosterona. Por el contrario, los días largos o crecientes, disminuyen la secreción de LH, el crecimiento testicular y la liberación de testosterona (Muduuli y cols., 1979; Rouger, 1974; Pelletier y cols., 1988). La secreción de testosterona está controlada por la secreción de LH y es durante los días crecientes, cuando la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH son bajos y los niveles de testosterona son basales, mientras que con fotoperiodo decreciente, la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH son mayores y los niveles de testosterona aumentan (Lincoln, 1988). Así, Pérez y Mateos (1995) con machos de raza Verata y Malagueña, concluyeron que la secreción plasmática de testosterona era estacional, siendo más marcada en los machos de raza Verata que en los Malagueños, al igual que Zarazaga y cols. (2009b) trabajando con machos de raza Payoya.

Existen también estudios que demuestran que la secreción de testosterona varía a lo largo del día. De este modo, Lincoln y Peet (1977) en carneros, observaron una liberación bifásica con altas concentraciones en un pico máximo entre 1 y 3 horas tras el amanecer, y otro menor entre las 4 y 6 horas tras el amanecer lo que sugiere la posible existencia de un ritmo circadiano tal y como lo describen Muduuli y cols. (1979) y Gupta y cols. (1992) con machos cabríos.

Por otro lado, existen estudios que demuestran que la presencia de una hembra en celo produce en el macho un incremento en la secreción de LH y por tanto un incremento en el nivel de testosterona en sangre. De todos modos, Pérez y Mateos (1994), con machos de raza Verata y de raza Malagueña, observaron que para producir un incremento significativo en la secreción de testosterona como respuesta a un estímulo sexual, los niveles de secreción hormonal previos al estímulo deben ser bajos. Por el contrario, en un estudio previo con carneros, (González y cols., 1989) observaron que el estímulo de la hembra no fue suficiente para iniciar una respuesta hormonal durante el periodo de anestro estacionario cuando la sensibilidad de la LH al *feedback* negativo de los esteroides gonadales está aumentada.

3.3. EL FOTOPERIODO Y LA MELATONINA COMO HERRAMIENTAS DE CONTROL DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTORA

3.3.1. EL FOTOPERIODO ARTIFICIAL Y SU MECANISMO DE ACCIÓN

El papel del fotoperiodo en el control de la reproducción se ha demostrado en numerosos experimentos que implicaban una manipulación de ciclos de luz y oscuridad. Así, Delgadillo y cols. (2004a) demostraron como los días largos inhiben y los días cortos estimulan la actividad reproductiva en los machos cabríos. Desde el punto de vista práctico, los tratamientos lumínicos aumentan el recuento de espermatogonias, mientras que se mantienen las divisiones espermatogénicas en una elevada tasa, equivalente a lo que ocurre en la estación sexual natural (Delgadillo y cols., 1995).

De todos modos este efecto estimulante de los días cortos o inhibidor de los días largos, no es permanente por que los animales acaban mostrando un mecanismo de fotorrefractoriedad. Esto es, si un animal es expuesto a un fotoperiodo fijo durante un periodo de tiempo prolongado, éste perderá la respuesta reproductiva a este periodo haciéndose fotorrefractorio a los mismos (Robinson y Karsch, 1987; Williams y Helliwell, 1993). Existen algunos estudios que demuestran estos hechos; tal es el caso de ovejas Ile-de-France y Suffolk, en las que la actividad reproductora comienza a los 40-50 días de estar sometidos a días cortos tras un periodo de días largos; sin embargo, cuando los animales son mantenidos en condiciones de días cortos constantes los animales se hicieron refractarios a los mismos a los 120 días de exposición, inhibiéndose su actividad reproductiva (Karsch y cols., 1986; Thimonier, 1989). De forma similar, si los animales son mantenidos en días largos durante periodos de tiempo prolongados, la actividad reproductiva se inicia de manera espontánea, más concretamente hacia los 6 meses de exposición (Karsch y cols., 1986). Además, en el caso de carneros sometidos a largos periodos de días largos o cortos, estos muestran una sucesión de periodos de crecimiento y quiescencia testicular (Howles y cols., 1982; Almeida y Lincoln, 1984). Se ha demostrado que la falta de respuesta a un fotoperiodo permanente no es debida a un cambio en el patrón circadiano de la secreción de melatonina (Karsch y cols., 1986; Malpoux y cols., 1987, 1988) y por tanto puede ser causada por un cambio en la respuesta del sistema

endocrino a la señal de melatonina tal y como se sugirió por primera vez en hámsteres por Bittman (1978) y posteriormente, en la oveja, por Karsch y cols. (1986). Este fenómeno de refractariedad no es inducido únicamente en casos de fotoperiodo artificial, sino que también tiene gran relevancia fisiológica en condiciones naturales. De hecho, el desarrollo de la refractariedad es el causante de la transición entre el periodo de actividad reproductiva y el anestro. Desde un punto de vista práctico, se puede concluir que:

- En primer lugar, la reproducción no puede ser estimulada por los días cortos o inhibida por los días largos en cualquier momento del año, ya que la respuesta al fotoperiodo es dependiente del fotoperiodo previo al que los animales han estado expuestos.
- En segundo lugar, para evitar el desarrollo de la refractariedad, los animales no deben ser expuestos a periodos prolongados de una duración determinada, sino que deben percibir una alternancia entre días largos y días cortos (Chemineau y cols., 1992b).

La alternancia entre días largos (DL) y días cortos (DC), se considera como una clave para alcanzar el control de la actividad sexual: los días largos parecen ser necesarios para restaurar el efecto inductor de los días cortos al final del invierno y para prevenir la refractariedad de la estimulación fotoperiódica (Yellon y Foster, 1985). Así, la aplicación de tratamientos fotoperiódicos (1 mes de DC: 1 mes de DL o 2 meses de DC: 2 meses de DL) a machos de razas estacionales reduce la estacionalidad en la producción espermática, permitiendo la recolección de semen a lo largo de todo el año en lugar de 6 de los 12 meses del año (Chemineau y cols., 1999). Tal es el caso de Chemineau y cols. (1988b) donde obtuvieron un “macho reproductor no estacional de forma permanente”, capaz de producir grandes cantidades de espermatozoides de gran calidad en un periodo durante el cual los machos de razas estacionales de pequeños rumiantes producen semen de baja calidad, mediante la alternancia entre periodos de días largos y días cortos (1 DC:1 DL o 2 DC:2 DL). Así, en estudios realizados con machos cabríos de raza Saaneen y Alpina, los cuales fueron sometidos a una alternancia constante de 1 ó 2 meses de días cortos seguidos de 1 ó 2 meses días largos, dio lugar a una abolición total de las variaciones estacionales de la actividad sexual. Esta alternancia rápida impide el establecimiento de un estado refractario

tanto a los días cortos como a los días largos y los machos mantienen una actividad sexual elevada y casi constante durante todo el año. El comportamiento sexual, el volumen y la concentración espermática de los eyaculados, el número de espermatozoides y, la aptitud de éstos a soportar la congelación son equivalentes, y en ocasiones superiores a los observados durante la estación sexual natural de los machos control; sin embargo la fertilidad no varía de los machos tratados a los machos control (Delgadillo y cols., 1991; Delgadillo y cols., 1992).

En los machos cabríos, la actividad sexual puede ser estimulada durante la estación no reproductiva con el uso de días largos artificiales seguidos de fotoperiodo natural, de implantes de melatonina exógena o de días largos artificiales seguidos de melatonina exógena (Delgadillo y cols., 2004b; Pellicer-Rubio y cols., 2007; Zarazaga y cols., 2010b). Así, Delgadillo y cols. (2004b), trabajando con machos Criollos en México, sometidos a 2,5 meses de días largos desde el 1 de noviembre, seguido de fotoperiodo natural, observaron un incremento en la secreción de testosterona de febrero a abril, durante la época no reproductiva. Estos animales, además, mostraron un intenso comportamiento sexual cuando fueron expuestos a hembras en anestro. Sin embargo, en los grupos control, que no habían sido tratados con días largos, la secreción de testosterona y el comportamiento sexual fueron menos marcados que en los animales tratados con el fotoperiodo artificial. Igualmente, Zarazaga y cols. (2010b) sometieron a una serie de machos a un tratamiento de días largos desde mediados de noviembre a mediados de febrero y a continuación los sometieron a fotoperiodo natural o a un tratamiento con implantes de melatonina exógena; y a otro grupo de machos a los que se les colocaron implantes de melatonina entorno al equinoccio de primavera. En todos los casos, los tratamientos a los que fueron sometidos los machos conllevaron un claro incremento en las concentraciones de testosterona durante el periodo de anestro estacionario.

3.3.2. LA MELATONINA Y SU ACTUACIÓN EN LA REPRODUCCIÓN

El descubrimiento de la melatonina por Lerner y cols. (1958) supuso un nuevo campo de estudio en relación a la estacionalidad de la reproducción. La melatonina es

una hormona secretada en la glándula pineal con un ritmo día/noche bien definido (Chemineau y cols., 1992b).

La glándula pineal, también es llamada epífisis, del latín *epiphysis cerebri*, o “tercer ojo”, lo que refleja su sensibilidad a la luz. Esta glándula sintetiza melatonina a partir de la serotonina, que, a su vez, deriva del triptófano involucrando diferentes enzimas, que al igual que la melatonina, muestran un ritmo circadiano a lo largo del día. Este hecho se debe a que la luz inhibe su síntesis, de forma que se han observado altas concentraciones plasmáticas de la hormona (en torno a 70 pg/ml, en la especie caprina) durante el periodo de oscuridad y bajas concentraciones durante el día (Zarazaga y cols., 2010a). El hecho de que la luz inhiba su secreción hace que su periodo de secreción se ajuste a la duración del día, o mejor dicho a la de la noche, de forma que los días largos (noches cortas) tienen una duración corta de secreción de melatonina y eso inhibe la actividad reproductiva, mientras que los días cortos (noches largas) conllevan más horas de secreción de melatonina y eso es estimulante de la actividad reproductiva. Estas características determinan que el perfil de secreción de melatonina se ajuste a un periodo de 24 horas e informe al animal del fotoperiodo prevalente (Chemineau y cols., 1992b; Bittman y cols., 1983a; Reiter, 1991; Zawilska y Nowak, 1999).

La información del fotoperiodo se recibe a nivel de la retina y es transmitida, mediante una vía neural de múltiples pasos, hasta la glándula pineal donde el mensaje modula el ritmo de secreción de la melatonina (Bittman y cols., 1983b). En el caso en el que los animales sean mantenidos bajo condiciones de luz continua, el ritmo de liberación de melatonina desaparece y la secreción pasa a ser errática (Ebling y cols., 1988).

Como la especie caprina es una especie de días cortos, se buscaron maneras de hacer que los animales interpretasen la existencia de estos días cortos de manera artificial. De este modo, los efectos de los días cortos pueden ser imitados por la administración de melatonina (inyección, ingestión o dispositivos de liberación lenta) (Kennaway y cols., 1980, 1982; Arendt y cols., 1983; Karsch y cols., 1984; Arendt, 1986; Poulton y cols., 1987), de tal manera que, los tratamientos fotoperiódicos de días cortos pueden ser reemplazados por tratamientos con melatonina ya que el mantenimiento constante de altos niveles de melatonina simula el efecto de éstos

(Chemineau y cols., 1992b). Tal es el caso de los implantes de melatonina, los cuales han sido usados ampliamente para adelantar la estación reproductiva de cabras y ovejas durante el anestro. En cabras, la melatonina administrada de forma exógena mediante implantes de liberación lenta y continua, adelanta el inicio de la estación reproductiva (Chemineau y cols., 1992b) e induce un periodo reproductivo durante lo que normalmente sería el anestro estacional (Zarazaga y cols., 2009a). Estos implantes inducen altas concentraciones de melatonina durante 24 horas todos los días, sin suprimir la secreción endógena de la hormona pineal durante la noche. Por tanto, los implantes provocan “días cortos artificiales” al prolongar la duración de la señal de melatonina (Malpoux y cols., 1997). Los implantes contienen 18 mg de melatonina y están diseñados para mantener altas concentraciones de melatonina de 100-300 pg/ml durante al menos unas 10 semanas (Delgadillo y cols., 2001).

El protocolo comercial de aplicación de los implantes de melatonina (Melovine[®], CEVA Salud Animal S.A., Barcelona), a los machos cabríos, consiste en la colocación de tres implantes subcutáneos en la base de la oreja. Respecto al momento óptimo para el tratamiento con implantes de melatonina, en principio la máxima efectividad se logra cuando son colocados en torno al equinoccio de primavera en nuestras latitudes (Zarazaga y cols., 2009a; Chemineau y cols., 1996). El fracaso del uso melatonina para inducir la actividad sexual en primavera en latitudes altas puede deberse a la existencia de un estado de fotorrefractoriedad a los días cortos que impide al animal responder a este tratamiento. Por esta razón, se recomienda la aplicación de días largos antes de la implantación con melatonina en los casos en los que se quiera adelantar la estación reproductiva en cabras y ovejas que se encuentren en latitudes altas (Chemineau y cols., 1998; Chemineau y cols., 1992d). En caprinos mediterráneos, se ha demostrado que el tratamiento con días largos, entre mediados del mes de noviembre y mediados de febrero, y a continuación la colocación de un implante de melatonina en las hembras, sin llevar a cabo efecto macho, es decir, con contacto permanente entre los machos y las hembras, desencadena una elevada actividad ovárica (las concentraciones de progesterona se incrementan), y un elevado porcentaje de salida en celo de las hembras. Las hembras que no habían sido tratadas no respondían al contacto con machos activos sexualmente (habían recibido el mismo tratamiento de días largos y melatonina que las hembras) y también se retrasó

ligeramente el inicio de la siguiente época de actividad reproductiva (Zarazaga y cols., 2011d).

En el caso de utilización de implantes de melatonina en los machos se ha observado que cuando se usa en carneros pueden mejorar la tasa de fertilidad, ya sea por el incremento de la motilidad progresiva espermática desde los días 45 al 90 tras la implantación (Casao y cols., 2010c) o por prevenir la capacitación y apoptosis del espermatozoide (Casao y cols., 2010b). En caprinos africanos, Daramola y cols. (2006) demostraron que el uso de melatonina aumentaba la manifestación de comportamientos sexuales como el interés por la monta y la erección. Existen otros estudios en los que se demuestra que la melatonina mejora la actividad sexual en machos cabríos durante el periodo de anestro estacionario (Chemineau y cols., 1992c; Zarazaga y cols., 2010b)

3.4. CONSERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO

Desde que el semen fue congelado por primera vez (-79 °C) por Smith y Polge (1950) y Barker (1957), se afirmó que la fertilidad del semen caprino congelado-descongelado “era demasiado baja para tener un valor práctico”, por lo que muchos investigadores han estudiado la congelación del mismo. El semen caprino criopreservado puede conservarse casi indefinidamente en nitrógeno líquido, facilitando el suministro de material genético, así como la construcción de bancos de genes para fomentar las razas en peligros de extinción o los individuos valiosos (Watson y Holt, 2001). Sin embargo, el principal obstáculo del semen caprino congelado es que el proceso de congelación-descongelación conduce a una disminución en el porcentaje de espermatozoides móviles y viables tras la descongelación, a consecuencia de daños en la integridad de la membrana y su ultraestructura (Watson, 2000).

Durante la criopreservación (refrigeración, congelación y descongelación) los espermatozoides tienen que superar una serie de eventos fisicoquímicos para sobrevivir (Mazur, 1984; Hammerstedt y cols., 1990; Watson, 1995):

- Fase de transición lípidos-membrana plasmática asociado a los cambios de temperatura que ocurren en un amplio rango, incluso por debajo de los 0 °C, con la consecuente reducción de la elasticidad en la membrana.
- Cambios en el volumen debido a la exposición a los diluyentes con glicerol y a los cambios osmóticos.
- Estrés osmótico por la exposición a soluciones hiper e hipo osmóticas.
- Formación de hielo intra y extracelular.
- Cambios drásticos de temperatura por la liberación del calor latente de fusión producido por la formación de hielo y la disipación de este calor.
- La presentación eventual de sobreenfriamiento que se produce cuando los espermatozoides diluidos pasan por su punto teórico de congelación sin ser congelados.
- Riesgo de recristalización cuando la descongelación es demasiado lenta.
- El fenómeno de criocapitación o capacitación prematura que hace que las membranas espermáticas se fundan prematuramente reduciendo su vida fértil.

Desde que Corteel (1974) demostró que la eliminación del plasma seminal inmediatamente tras la eyaculación es beneficiosa para la supervivencia de los espermatozoides y propuso el lavado del semen, la mayoría de los investigadores han adoptado este método. Por este motivo, en el macho cabrío, antes de la congelación del semen, es necesario el lavado del mismo tras su recolecta para la retirada del plasma seminal, ya que esto incrementa el porcentaje de células vivas y su motilidad durante su conservación en diluyentes a base de yema de huevo o leche. Sin embargo, el eyaculado y lavado seminal es incapaz de alcanzar la calidad del semen que se encuentra en el epidídimo. Esto significa que algunos de los componentes del plasma seminal que quedan tras el lavado, todavía son perjudiciales para la conservación *in vitro* (Leboeuf y cols., 2000).

La preservación seminal a temperaturas entre 0-5 °C o su congelación implica una disminución del metabolismo de los espermatozoides (Leboeuf y cols., 2000), pero no queda detenido en su totalidad. Para ello, se utiliza un medio que se conoce como diluyente y se puede definir como la solución acuosa que permite aumentar el

volumen del eyaculado hasta conseguir la concentración espermática deseada y que, además, es capaz de preservar las características funcionales de las células espermáticas, así como mantener el nivel de fertilidad adecuado (Meque, 2004). El propósito del diluyente es suministrar a los espermatozoides un fuente de energía, proteger a las células del daño relativo a la temperatura y mantener un ambiente adecuado para la supervivencia temporal de los espermatozoides (Purdy, 2006).

Una vez que se ha llevado a cabo el proceso de congelación, es necesario descongelar las pajuelas para su posterior evaluación. Para la descongelación del semen caprino en pajuelas o pellets y obtener resultados de fertilidad aceptables se debe realizar a 37 °C (Salamon y Ritar, 1982; Corteel, 1974). El método más común para la evaluación del semen es mediante la observación microscópica de muestras seminales. En este sentido, se usan los sistemas CASA (sistemas de análisis de semen asistido por ordenador), los cuales mejoran la objetividad, exactitud y eficiencia de la evaluación de las diferentes características celulares: el movimiento, la velocidad y la morfología (Verstegen y cols., 2002).

3.4.1. FACTORES QUE AFECTAN A LA CRIOPRESERVACIÓN DEL SEMEN EN CAPRINO

La respuesta de las células espermáticas a los procesos de congelación-descongelación en mamíferos, incluidos los humanos, se ve afectado por diversos factores, como la estación del año (Fiser y cols., 1983; D'Alessandro y Martemucci, 2003; Janett y cols., 2003; Yogev y cols., 2004; Koonjaenak y cols., 2007), posiblemente debido a la calidad en el semen fresco. También la diferencia entre machos es reconocida como fuente de variación durante la congelación-descongelación (Watson, 1995; Holt, 2000); por eso es necesario la evaluación de la calidad seminal tras el proceso de congelación-descongelación para poder definir a los individuos donantes como buenos o malos congeladores (Leboeuf y cols., 2000). Parece ser que hay bases genéticas para estas variaciones en la calidad seminal post-descongelación entre individuos, lo que provocaría que el semen de ciertos machos congelase mal

independientemente de las condiciones a las que estuviese sometido (Thurston y cols., 2002).

El macho cabrío muestra variaciones en la calidad seminal a lo largo del año, y estas variaciones pueden afectar a la congelabilidad del semen. Sin embargo, los estudios existentes sobre la congelabilidad y fertilidad del semen en la época reproductiva y la no reproductiva son contradictorios. Algunos investigadores observaron que la congelabilidad del semen (Muhuyi y cols., 1992) y la fertilidad del semen congelado-descongelado (Corteel y cols., 1978) fue mejor cuando fue recogido en la estación reproductiva en comparación con la época no reproductiva. Del mismo modo, Cabrera y cols. (2005), en el estudio llevado a cabo en machos cabríos de raza canaria, no observaron un efecto estacional en la motilidad progresiva antes de la congelación, pero sí una variación significativa en la motilidad progresiva e integridad de la membrana entre muestras congeladas y descongeladas en diferentes estaciones. Boue y Corteel (1992) obtuvieron un mayor porcentaje de espermatozoides móviles tras la congelación del semen caprino en la primera mitad de la estación reproductiva en comparación con la segunda mitad. Pintado y cols. (1992), también publicaron una mayor tasa de movilidad y porcentaje de espermatozoides vivos en semen caprino congelado en otoño e invierno respecto a primavera y verano. Igual que Tuli y Holtz (1995), en machos de raza Boer, donde observaron una influencia de la estación tanto en el semen fresco como en el congelado, respecto a la motilidad progresiva y porcentaje de espermatozoides vivos. Sin embargo, en otros trabajos de Peskovatskov y cols. (1974); Summermatter y Flukiger (1982), no observaron diferencias en la fertilidad. Al igual que Loubser y Van Niekerk (1983), en cabras Angora, donde no existieron diferencias en el efecto de la estación sobre la congelabilidad del semen.

Respecto a la influencia de la melatonina sobre la congelabilidad del semen caprino, no existen estudios anteriores que demuestren efectos de esta sustancia en la congelación del mismo en la especie caprina, pero sí en la ovina. Así, Succu y cols. (2011) observaron, en carneros, que la adición de determinadas cantidades de melatonina al semen protegía a los espermatozoides durante la congelación. Del mismo modo, Kaya y cols. (2001) colocaron implantes de melatonina en carneros a los que posteriormente extrajeron semen para su congelación. Tras la valoración de las

muestras seminales observaron una mejora en la congelabilidad del semen así como un mayor mantenimiento de la integridad del acrosoma espermático.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo ha sido estudiar diferentes aspectos reproductivos de la raza caprina Blanca Andaluza y el papel de la condición corporal-peso vivo y del fotoperiodo-melatonina sobre los mismos.

De este objetivo general se desglosan los siguientes objetivos parciales:

1. Determinar el inicio de la actividad reproductiva (pubertad) de chivas de raza Blanca Andaluza nacidas en otoño, estudiando la influencia de la condición corporal y del peso vivo en su desencadenamiento.
2. Conocer el efecto de la condición corporal y de la estación del año (época de actividad reproductiva y época de anestro estacionario) en los resultados de la sincronización con esponjas intravaginales de progesterona y en la secuencia de los eventos reproductivos (crecimiento folicular, momento de inicio del estro, momento del pico preovulatorio de LH y momento de ovulación) tras la finalización del tratamiento.
3. Describir la actividad reproductiva a lo largo del año de hembras caprinas de raza Blanca Andaluza y la influencia de la condición corporal y del peso vivo como posibles moduladores de ésta, además de determinar si hay algún efecto aditivo o interacción compensatoria entre ambas variables.
4. Estudiar y caracterizar la estacionalidad reproductiva del macho de raza caprina Blanca Andaluza y conocer si esta estacionalidad afecta a la calidad y congelabilidad del semen a lo largo del año.
5. Estudiar si la actividad reproductiva de machos cabríos de raza Blanca Andaluza puede ser modificada por el fotoperiodo artificial-melatonina y, además, comprobar si dos meses de tratamiento con melatonina exógena tiene algún efecto beneficioso en la calidad seminal, tras la crioconservación, en comparación con el tratamiento de dos meses de días cortos o de dos meses de días largos.

ARTÍCULOS PUBLICADOS

ARTÍCULOS PUBLICADOS

Algunos de los artículos que forman parte de este apartado han sido retirados de la tesis debido a restricciones relativas a los derechos de autor. Dichos artículos han sido sustituido por la referencia bibliográfica, así como por el enlace al texto completo (solo miembros de la UHU), enlace a la revista y resumen.

- Gallego Calvo, M.L., Gatica Jorquera, M.C., Celi Mariátegui, I.R., Guzmán Guerrero, J.L., Zarazaga Garcés, L.A.: "Body condition score is a critical factor determining the onset of puberty in Blanca Andaluza female goat kids". *Animal Production Science*. Vol. 55 (9), págs. 1179-1183, (2015). DOI: dx.doi.org/10.1071/AN14063

Enlace al artículo:

<http://dx.doi.org/10.1071/AN14063>

RESUMEN:

This study examines the effect of body condition score (BCS), independently of bodyweight (BW), on the onset of puberty in Blanca Andaluza female kids born in Autumn (November). Thirty-six female kids were distributed into three groups according to their BW and BCS: low BW and low BCS (LL, n = 10), low BW and high BCS (LH, n = 10), and high BW and high BCS (HH, n = 16). Feeding was adjusted weekly so that the animals would gain ~50 g per day. Oestrus was checked daily using young vasectomised bucks fitted with a marking harness. The ovulation rate was determined by transrectal ultrasonography 10 days after the identification of oestrus. Plasma samples were obtained weekly for progesterone determination. Changes in BW and BCS were also recorded weekly. The BCS had a clear effect on the date of first ovarian activity and first detected oestrus. The HH kids experienced the earliest onset of puberty (31 August \pm 2.4 days) although no significant difference was seen compared with the LH group (19 September \pm 8.7 days). A significant difference was recorded, however, in comparison with the LL group (25 October \pm 7.8 days) ($P < 0.001$). No effect of BCS was observed on ovulation rate. These results show that, in Blanca Andaluza female kids, the onset of puberty depends strongly upon BCS. There may be clear benefit in breeding November-born animals if, during the prepubertal period, they can be maintained with a high BCS.

- Zarazaga Garcés, L.A., Gatica Jorquera, M.C , Gallego Calvo, M.L., Celi Mariátegui, I.R., Guzmán Guerrero, J.L.: "The timing of oestrus, the preovulatory LH surge and ovulation in Blanca Andaluza goats synchronised by intravaginal progestagen sponge treatment is modified by season but not by body condition score". *Animal Reproduction Science*. Vol. 146, n. 3-4, págs. 170-175, (2014). DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.02.012

Enlace al texto completo del artículo (solo para miembros de la UHU):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.02.012>

RESUMEN:

The aim of this study was to determine whether a seasonal pattern of reproductive events is followed after synchronisation by intravaginal progestagen sponge treatment in female Blanca Andaluza goats, and whether the timing of these events is affected by body condition score (BCS). During seasonal anoestrus (March), and again during the breeding season (November), the same 32 does were distributed into four subgroups according to their BCS: ≤ 2.25 , $= 2.50$, $= 2.75$, and ≥ 3.00 ($n = 8$ in all cases). They were then synchronised using a commercial intravaginal sponge treatment. Every 4 h over the 72 h following sponge removal, oestrous activity, the LH concentration and each doe's number of follicles were followed by transrectal ultrasonography. The does synchronised during seasonal anoestrus produced more follicles than those synchronised during the breeding season ($P < 0.01$). The time elapsed between sponge removal and the onset of oestrus, the LH surge and time of ovulation, was also shorter in these does ($P < 0.001$). The BCS only modified the number of follicles present in the ovary just before ovulation; this number was significantly lower in the $= 2.50$ BCS subgroup than in the other subgroups ($P < 0.05$). The present results show that the time to ovulation, and all events around it, are modified by the season in which Blanca Andaluza does are synchronised, but not by BCS.

- Gallego Calvo, M.L., Gatica Jorquera, M.C., Guzmán Guerrero, J.L., Zarazaga Garcés, L.A.: "Role of body condition score and body weight in the control of seasonal reproduction in Blanca Andaluza goats". *Animal Reproduction Science*. Vol. 151, n. 3-4, págs. 157-163, (2014). DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.10.011

Enlace al texto completo del artículo (solo para miembros de la UHU):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.10.011>

RESUMEN:

The reproductive activity of 84 female Blanca Andaluza goats was monitored over 17 months to determine the role of body condition score (BCS) and body weight (BW) in its control. Following a 3 × 2 factorial experimental design, the animals were allocated to three groups: low BCS (≤ 2.50 , $n = 24$), medium BCS (BCS = 2.75–3.00, $n = 31$) and high BCS (≥ 3.25 , $n = 29$). The same animals, irrespective of the BCS group categorization, were also divided into two groups depending on BW: low BW (≤ 40 kg, $n = 44$) and high BW (> 40 kg, $n = 40$). Oestrus was evaluated daily using vasectomised males. The ovulation rate was assessed by trans-rectal ultrasonography after the identification of oestrus. Ovulations were determined by monitoring the plasma progesterone concentration weekly. The BCS and BW were recorded once a week and nutritional status adjusted to maintain the initial differences in BW and BCS between the groups. Both BCS and BW had a significant (at least $P < 0.05$) influence on the onset, the end, and the duration of the breeding season, with longer periods of reproductive activity recorded in does with a BCS of ≥ 2.75 and BW of > 40 kg. No significant interaction between these variables was observed. Some (11.7%) of the does in the groups with animals of $BCS \geq 2.75$ had ovulations during seasonal anoestrus. None of the does with a BCS of ≤ 2.5 had ovulations during seasonal anoestrus. The ovulation rate of the first and last oestrus was influenced by BW ($P < 0.01$). These results demonstrate that Blanca Andaluza goats show marked reproductive seasonality that is clearly and independently modulated by BCS and BW.

- Gallego Calvo, M.L., Gatica Jorquera, M.C., Santiago Moreno, J.L., Zarazaga Garcés, L.A.: "Exogenous melatonin does not improve the freezability of Blanca Andaluza goat semen over exposure to two months of short days". *Animal Reproduction Science*. Vol. 157, págs. 24-32, (2015). DOI: 10.1016/j.anireprosci.2015.03.010

Enlace al texto completo del artículo (solo para miembros de la UHU):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.010>

RESUMEN:

This paper compares the effects of exposure to exogenous melatonin (MEL), short days (SD, 8 h of light) and long days (LD, 16 h of light), on reproductive activity, sperm motility and other reproductive variables, in Blanca Andaluza bucks. Fourteen males were split into two groups of seven animals (G1 and G2). They were subjected to five alternations of 2 months of LD followed by 2 months of SD or MEL before the experimental period of three consecutive intervals of: (1) 2 months of SD (G1, $N = 7$) or MEL (G2, $N = 7$); (2) 2 months of LD (G1 + G2, $N = 14$); and (3) 2 months of SD (G2, $N = 7$) or MEL (G1, $N = 7$). Plasma testosterone concentration, live weight, testicular weight and fresh semen quality were determined weekly. Semen was also cooled and frozen–thawed every fortnight, and the same quality variables measured as for fresh sperm. When the bucks were under LD treatment, the testosterone concentration was lower than when under MEL or SD treatment ($P < 0.01$); values for the semen concentration and total number of sperm per ejaculate were also higher ($P < 0.001$). No differences were observed between the MEL and SD treatments in terms of fresh, cooled or frozen–thawed sperm quality. Only some quality variables on fresh semen were improved by MEL and SD treatment ($P < 0.05$). In conclusion the results of the present experiment showed that MEL improved the fresh semen motility variables, but this did not improve the motility of frozen–thawed sperm over that recorded for either SD or LD treatment.

ARTÍCULOS PUBLICADOS

Artículo 1. Se corresponde con el objetivo 1:

La condición corporal es un factor crítico en el inicio de la pubertad en chivas de raza Blanca Andaluza.

Body condition score is a critical factor determining the onset of puberty in Blanca Andaluza female goat kids.

L. Gallego-Calvo, M. C. Gatica, I. Celi, J. L. Guzmán and L. A. Zarazaga

Animal Production Science (2014) 55: 1179-1183

Artículo 2. Se corresponde con el objetivo 2:

El momento de salida en celo, el pico preovulatorio de LH y el momento de ovulación en cabras de raza Blanca Andaluza sincronizadas con esponjas intravaginales de progesterona es modificado por la estación pero no por la condición corporal.

The timing of oestrus, the preovulatory LH surge and ovulation in Blanca Andaluza goats synchronised by intravaginal progestagen sponge treatment is modified by season but not by body condition score.

L.A. Zarazaga, M.C. Gatica, L. Gallego-Calvo, I. Celi, J.L. Guzmán

Animal Reproduction Science (2014) 146: 170-175

Artículo 3. Se corresponde con el objetivo 3:

Papel del peso vivo y de la condición corporal en la estacionalidad reproductiva de cabras Blanca Andaluza.

Role of body condition score and body weight in the control of seasonal reproduction in Blanca Andaluza goats.

L. Gallego-Calvo, M.C. Gatica, J.L. Guzmán, L.A. Zarazaga

Animal Reproduction Science (2014) 151: 157-163

Artículo 4. Se corresponde con el objetivo 4:

Cambio estacionales en la actividad reproductiva, parámetros seminales y congelabilidad del semen en machos cabríos de raza Blanca Andaluza.

Seasonal changes in reproductive activity, sperm variables and sperm freezability in Blanca Andaluza bucks.

L. Gallego-Calvo, M. Carolina Gatica, J. Santiago-Moreno, José L. Guzmán, Luis A. Zarazaga

Spanish Journal of Agricultural Research (2015) 13: 10 páginas



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

Seasonal changes in reproductive activity, sperm variables and sperm freezability in Blanca Andaluza bucks

Lourdes Gallego-Calvo¹, M. Carolina Gatica², Julian Santiago-Moreno³, José L. Guzmán¹ and Luis A. Zarazaga^{1*}

¹ Universidad de Huelva, "Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3", Departamento de Ciencias Agroforestales.

Ctra. Huelva-Palos de la Frontera s/n, 21819 Palos de la Frontera (Huelva), Spain. ² Universidad Arturo Prat, Facultad de Recursos

Naturales Renovables. Avda. Arturo Prat, 2120 Iquique, Chile. ³ SGIT-INIA, Departamento de Reproducción Animal.

Ctra. Coruña km 7.5, 28040 Madrid, Spain

Abstract

Interest in the preservation of endangered breeds such as the Blanca Andaluza goat, has increased and some steps should be therefore taken to ensure it. The study was designed to determine the seasonal reproductive pattern of Blanca Andaluza bucks, and whether this affects the quality of their semen and its freezability over the year. Seven bucks were used and their body weight, testicular weight, plasma testosterone concentration and fresh sperm quality determined every week. The collected sperm was cryopreserved and stored; it was then thawed and the same sperm quality variables measured every fortnight. High plasma testosterone concentrations were recorded during the summer and autumn, and low concentrations were recorded during winter and spring ($p < 0.001$). No differences were seen between seasons in terms of the percentage of bucks ejaculating, the percentage of active bucks, or ejaculate volume. However, the sperm concentration, the total number of sperm per ejaculate, and the values for most fresh sperm variables were lower during the winter period (at least $p < 0.05$). After freezing-thawing, the quality of winter-collected sperm was better, in some respects, than that of summer-collected sperm (at least $p < 0.05$). These results reveal that Blanca Andaluza bucks show seasonal reproductive activity in terms of their plasma testosterone concentration, but no clear change in their sexual behaviour between seasons was observed. The values of fresh sperm variables also vary over the year, reaching their lowest during winter. However, after freezing-thawing, winter-collected sperm is of overall better quality than sperm collected during the summer.

Additional key words: endangered goat breed; testosterone; seasonality; fresh semen; cooled semen; semen cryopreservation.

Abbreviations used: BW (body weight); LH (luteinizing hormone); LIN (linearity coefficient); STR (straightness coefficient); TW (testicular weight); VAP (average velocity); VCL (curvilinear velocity); VSL (straight-line velocity); WOB (Wobble coefficient); WWS (week within the season).

Citation: Gallego-Calvo, L.; Gatica, M. C.; Santiago-Moreno, J.; Guzmán, J. L.; Zarazaga, L. A. (2015). Seasonal changes in reproductive activity, sperm variables and sperm freezability in Blanca Andaluza bucks. Spanish Journal of Agricultural Research, Volume 13, Issue 4, e0403, 10 pages. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2015134-8168>.

Received: 18 Jun 2015. **Accepted:** 29 Oct 2015.

Copyright © 2015 INIA. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial (by-nc) Spain 3.0 Licence, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Funding: INIA-CICYT (Spain), Grant RZ2010-00001-00-00

Competing interests: All authors declare that there is no conflict of interest that could be perceived as prejudicing the impartiality of the research reported.

Correspondence should be addressed to L.A. Zarazaga: zarazaga@uhu.es

Introduction

The Blanca Andaluza breed of goat, which is native to Spain and adapted to Mediterranean environmental conditions, is endangered according to the Official Catalogue of Spanish Livestock Breeds (RD 2129/2008; BOE, 2009). Steps should therefore be taken to ensure its preservation.

In addition to its use in the genetic improvement of livestock animals, semen cryopreservation is essential in the preservation of endangered genetic resources. It is not sure whether male Blanca Andaluza goats show

reproductive seasonality. Understanding how this might affect semen quality and freezability over the year could throw light on how to improve the quality of cryopreserved sperm.

The photoperiod has been suggested the main factor influencing seasonality in buck reproductive activity (Delgadillo *et al.*, 1993). Short days and decreasing day-length stimulate the secretion of luteinizing hormone (LH), which in turn, induces testicular growth and the release of testosterone, resulting in quantitative and qualitative improvements in semen production plus increased sexual behaviour. In contrast, long days and in-

creasing daylength reduce LH secretion and testicular growth, leading to a fall in the plasma testosterone concentration, reduced sperm quality, and diminished sexual behaviour (Rouger, 1974; Muduuli *et al.*, 1979; Corteel, 1981; Thimonier *et al.*, 1986; Pelletier *et al.*, 1988; Delgadillo & Chemineau, 1992; Zarazaga *et al.*, 2009).

The information in the literature regarding the freezability and fertilizing capacity of buck sperm collected during the breeding and non-breeding season is contradictory. Some authors report sperm freezability, frozen-thawed sperm variables (Nunez *et al.*, 1982; Boue & Corteel, 1992; Muhuyi *et al.*, 1992; Pintado *et al.*, 1992; Tuli & Holtz, 1995) and the fertilizing capacity of frozen-thawed sperm (Corteel *et al.*, 1978) to be better in sperm collected during the breeding season. However, other authors (Peskovatskov *et al.*, 1974; Summermatter & Flukiger, 1982) report no seasonal differences.

The aims of the present work were to: 1) determine whether Blanca Andaluza bucks show a seasonal pattern of reproductive activity; and 2) examine the quality of frozen-thawed sperm collected at different times of the year. The results obtained could be of use in programmes designed to preserve this breed of goat.

Material and methods

General

All procedures were performed by trained personnel in strict accordance with Spanish guidelines for the protection of experimental animals (RD 53/2013; BOE, 2013), and in agreement with European Union Directive 86/609. The study was conducted at the University of Huelva experimental farm (37° 20' N, 6° 54' W), which meets the requirements of the European Community Commission for Scientific Procedure Establishments (2010/63; OJEU, 2010).

The animals examined were seven Blanca Andaluza bucks (8 months old at the start of the experiment), previously trained to mount a teaser doe and to ejaculate into an artificial vagina. These animals were fed daily with barley straw (*ad libitum*), lucerne hay and a commercial concentrate, according to their body weight and in agreement with INRA standards (Morand-Fehr & Sauvant, 1988). All animals had free access to water and mineral blocks containing trace elements and vitamins.

Experimental design

Data collection began on 14th November 2012 and ended on 9th July 2014. However, since the bucks were young at the start of the experiment, only data from the

last year (July 2013 to July 2014) were used in analyses. The experiment was designed to determine the effect of season on reproductive status and sperm variables. Summer, autumn, winter and spring were defined as the periods between June 21st and September 22nd, September 23rd and December 20th, December 21st and March 20th, March 21st and June 20th, respectively.

Body weight, testicular weight, and plasma testosterone concentrations

Body weight (BW), testicular weight (TW) and plasma testosterone concentrations were recorded weekly throughout the study. Testicular weight was assessed by comparative palpation using an orchidometer; the same operator always performed this task (Oldham *et al.*, 1978). Blood for determining the plasma testosterone concentration was obtained by jugular venipuncture, employing vacuum tubes containing heparin. This was performed once per week at 09:00 h over the entire experimental period. Plasma was obtained by centrifuging the collected blood at 3000 g for 30 min. It was then stored at -20°C until analysis for testosterone using a commercial enzyme-linked immunoassay (ELISA) kit (Demeditec Diagnostics, Kiel-Wellsee, Germany). All plasma samples were analysed at the same time at the end of the experiment. The intra-assay coefficient of variation, estimated from plasma standards, was 8.9% for samples containing 0.5 ng/mL testosterone, 5.1% for samples with 2 ng/mL, and 7.3% for a samples containing 16 ng/mL.

Semen collection and sexual behaviour

Semen was collected weekly. On each occasion, the sexual behaviour of each buck was assessed by presenting it with an intact oestrus-induced doe, allowing 5 min for the male to ejaculate. Oestrus was induced in teaser does via a subcutaneous injection of 2 mg of oestradiol cypionate (Sigma-Aldrich Química, S.A., Spain) (Delgadillo *et al.*, 1999; Zarazaga *et al.*, 2009). The ejaculation latency, the percentage of bucks that ejaculated, and the percentage of active males (bucks that attempted to ejaculate at least twice, but did not achieve ejaculation within 5 min), were recorded. Animals were always tested in the same order and by the same handlers.

Sperm evaluation

A total of 324 ejaculates were evaluated. The volume of ejaculated semen was recorded immediately after

collection in a graduated collection vial. Overall motility was immediately assessed by transferring a drop of undiluted semen to a warm slide (35°C), placing a cover slip on it, and observing it under a microscope at 40×. Results were recorded on an arbitrary scale of 0 to 5 (0 = no motility, 5 = 100% motility) (Baril *et al.*, 1993).

Sperm concentration and kinematic motility variables were measured using a CASA system (ISAS, Proiser SL, Valencia, Spain). Sperm concentration was measured employing a Bürker chamber after diluting an aliquot of semen with a 0.05% formaldehyde saline solution (1:400) and observing at 400× magnification. The total number of spermatozoa per ejaculate was calculated from the ejaculate volume and sperm concentration. The kinematic motility variables recorded by the CASA system were: percentage of static, motile and progressive motile spermatozoa, curvilinear velocity (VCL, $\mu\text{m/s}$, *i.e.*, the velocity of the actual trajectory of the sperm), straight-line velocity (VSL, $\mu\text{m/s}$, *i.e.*, the velocity calculated using the straight-line distance between the beginning and end of the sperm track), average velocity (VAP, $\mu\text{m/s}$, *i.e.*, the velocity over the smooth calculated path), and the linearity coefficient (LIN), straightness coefficient (STR) and wobble coefficient (WOB). Sperm were classified as being of medium velocity when their VCL was between 45 and 75 $\mu\text{m/s}$ and rapid when their VCL was >75 $\mu\text{m/s}$. Sperm were deemed progressively motile when their trajectory was straight for at least 80% of the path taken, as suggested by the manufacturer of the CASA system.

Sperm processing, chilling and sperm freezing

Selected semen samples, *i.e.*, those with a sperm concentration of $>3500 \cdot 10^6$ spermatozoa/mL, and an overall motility of ≥ 4 according to the above criteria, were frozen every fortnight. These criteria determined that a total of 128 ejaculates were processed. After checking that these criteria were met, the chosen samples were diluted in washing solution at 1:10 (v:v) (250 mM Tris, 28 mM glucose, 104 mM citric acid, 0.05% streptomycin, 500 UI penicillin/mL) at 37°C, and then centrifuged once (700 g for 15 min) to eliminate the seminal plasma. The supernatant was then removed (now at room temperature [23°C]) and the pellet diluted in a Tris-yolk extender (250 mM Tris, 28 mM glucose, 104 mM citric acid, 12% egg yolk, 0.05% streptomycin, 500 UI penicillin/mL and distilled water to 100 mL). After 5 min, a similar volume of a second extender (250 mM Tris, 28 mM glucose, 104 mM citric acid, 12% egg yolk, 8% glycerol, 0.05% streptomycin,

500 UI penicillin/mL, and distilled water to 100 mL) was added at room temperature (20°C), resulting in a final sperm concentration of $800 \cdot 10^6$ spermatozoa/mL, 6% egg yolk and 4% glycerol. Lecithin in the egg yolk was inactivated by subjecting the latter to 56°C for 30 min before its use in the extenders. Both extenders were prepared in the laboratory using reagent-grade chemicals purchased from Panreac Quimica S.A. (Barcelona, Spain) and the Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). The sperm was then chilled from room temperature to 5°C in a cooler over a period of at least 3 h, before being packed in 0.25 or 0.50 mL plastic straws. Finally, the straws were placed horizontally on a rack situated 4 cm above the surface of a liquid nitrogen bath for 15 min before being plunged into the same bath. The frozen straws were then stored in liquid nitrogen.

Post-chilling and post-thawing assessment of sperm variables

Sperm quality was evaluated after the 3 h chilling period and again after freezing-thawing; thawing was performed no later than one day after freezing. The frozen straws were thawed in a water bath at 37°C for 30 s. Both the chilled and frozen-thawed sperm was transferred to a warm slide and the kinematic motility variables measured as described above.

Statistical analyses

The effect of season (spring, summer, autumn and winter) and week within the season (WWS, with 13 weeks per season) on BW, TW and plasma testosterone concentration was analysed using the repeated measures option of the General Linear Model procedure provided by the SPSS package for Windows (2008). In this model, the different seasons and WWS were taken as intra-subject factors. Significant differences in the influence of WWS were analysed using the Bonferroni test.

ANOVA including the male as fixed factor was used to examine the effect of season on all the studied variables in fresh, chilled and frozen-thawed sperm. Variables expressed as percentages (sperm motility, bucks that ejaculated, and percentage of active males), and the values for overall motility were arcsine-transformed before analysis. When differences between seasons were detected, they were examined using the Tukey t-test. ANOVA was also used to compare the effect of season on the motility variables of the rapid and medium velocity fresh, chilled and frozen-thawed sperm. Significance was set at $p < 0.05$.

Results

Body weight, testicular weight and plasma testosterone concentration

Repeated measures analysis showed season to have a significant effect on BW and plasma testosterone concentration ($p < 0.01$). The BW was higher during spring than any other season, and plasma testosterone was higher during summer and autumn than during spring or winter (Table 1). Moreover, the interaction *Season* × *WWS* had a significant ($p < 0.01$) effect on

plasma testosterone, with concentrations increasing over the weeks of summer, and decreasing over the weeks of autumn. During spring and winter, testosterone concentrations remained at low levels, during summer testosterone concentrations increased, and during autumn they decreased (Fig. 1).

Sexual behaviour and fresh sperm variables

No differences were seen (Table 2) between seasons in terms of the percentage of bucks that ejaculated

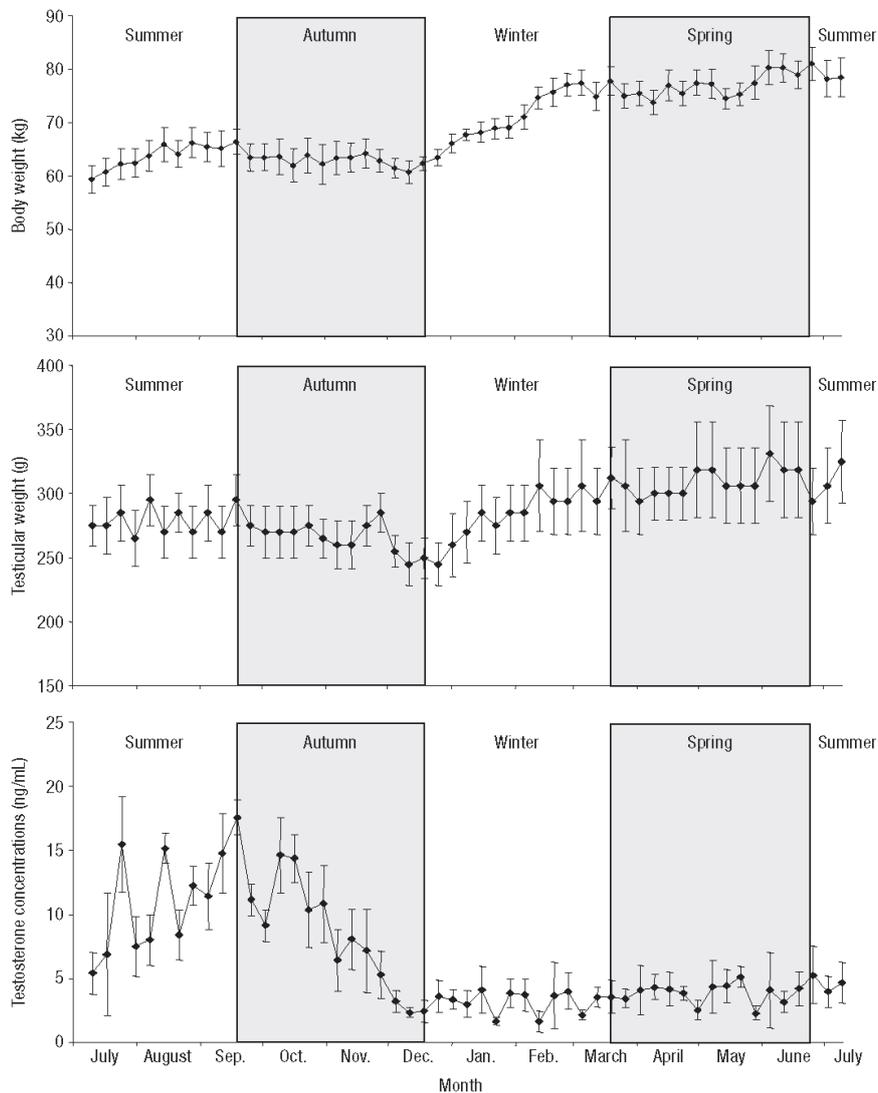


Figure 1. Weekly means (\pm SEM) over one year for body weight (kg, top), testicular weight (g, middle) and plasma testosterone concentration (bottom, ng/mL) for seven Blanca Andaluza bucks maintained under natural photoperiod conditions.

Table 1. Live weight, testicular weight and plasma testosterone concentration over the four seasons of the year. Values for each season are means \pm SEM.

	Summer	Autumn	Winter	Spring
Live weight (kg)	67.1 \pm 1.1b	62.9 \pm 0.7c	71.7 \pm 0.8d	76.8 \pm 0.7a
Testicular weight (g)	284.3 \pm 5.5	265.8 \pm 4.5	283.9 \pm 6.6	309.6 \pm 7.7
Testosterone concentration (ng/mL)	10.00 \pm 0.81a	8.11 \pm 0.73a	3.24 \pm 0.33b	3.84 \pm 0.36b

Different letters in the same row indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

Table 2. Sexual behaviour and values for fresh sperm variables over the four seasons of the year. Values for each season are means \pm SEM.

	Summer	Autumn	Winter	Spring
Bucks that ejaculate (%)	82.1	87.7	83.1	90.4
Active males (%)	89.6	93.8	93.2	96.2
Ejaculation latency (s)	51.8 \pm 6.0	43.5 \pm 6.4	55.7 \pm 5.1	36.3 \pm 3.6
Ejaculate volume (mL)	0.87 \pm 0.04	0.91 \pm 0.04	0.93 \pm 0.09	0.95 \pm 0.05
Semen concentration (10^6 sperm/mL)	7776.8 \pm 757.6a	5346.2 \pm 395.1b	3336.1 \pm 449.4c	4141.0 \pm 448.6bc
Total sperm per ejaculate (10^6 sperm/ejaculate)	6606.4 \pm 663.0a	5011.4 \pm 478.6ab	3291.7 \pm 635.2b	4382.6 \pm 617.6b
Global motility	4.52 \pm 0.15a	4.21 \pm 0.15a	3.38 \pm 0.28b	4.00 \pm 0.24ab

Different letters in the same row indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

(85.6%), the percentage of bucks considered active (93.0%), ejaculation latency (47.0 \pm 2.8 s), or ejaculate volume (0.91 \pm 0.03 mL). However, differences were seen between seasons in terms of sperm concentration and the number of sperm per ejaculate, with values lower during winter and higher in summer (at least, $p < 0.01$; Table 2). Finally, overall motility varied between seasons ($p < 0.01$; Table 2), with the lowest values recorded during winter.

Fresh sperm kinematic motility variables

The VSL, LIN, STR and WOB values, and the percentages of motile, rapid and progressive spermatozoa, varied between season, with the lowest values recorded during winter (at least $p < 0.05$; Fig. 2). For the rapid spermatozoa, only the values of VSL and LIN varied between seasons (Table 3), with the lowest values recorded in winter and the highest in summer. For the medium velocity spermatozoa, the values of all the kinematic motility variables varied between seasons, again with the lowest values recorded in winter and the highest in summer (Table 4).

Chilled sperm variables

Only the values of VCL, LIN, STR and WOB varied between seasons (at least $p < 0.05$; Fig. 3), with the highest VCL and lowest LIN, STR and WOB values recorded in autumn. For the rapid spermatozoa, VSL, LIN, STR and WOB all varied between seasons, with

the highest values recorded in spring (Table 3). For the medium velocity spermatozoa, the values of all the kinematic motility variables (except for VCL) varied between seasons, with the lowest recorded in autumn (Table 4).

Frozen-thawed sperm variables

The VCL and VAP results differed between seasons, with higher values recorded in winter than in summer. Very large differences were also observed in terms of the percentage of motile, rapid and progressive spermatozoa, with the best results recorded in winter (Fig. 4).

When examined separately, neither the rapid nor medium velocity spermatozoa differed between seasons in terms of any kinematic motility variable (Tables 3 and 4).

Discussion

The present results show that, when maintained under natural photoperiod conditions, Blanca Andaluza bucks show marked seasonal variation in their reproductive activity, as measured by the plasma testosterone concentration and fresh sperm quality and freezability. When plasma testosterone concentrations were high the bucks showed their lowest body weight and vice versa. In general the lowest values for fresh semen variables were recorded in winter. However, winter-collected sperm returned better quality results after freezing-thawing than summer-collected sperm.

Table 3. Values for kinematic motility variables for rapid velocity spermatozoa in fresh, chilled and freeze-thawed sperm over the four seasons of the year. Values for each group are means \pm SEM.

	Variable	Summer	Autumn	Winter	Spring
Fresh semen	VCL	108.3 \pm 1.3	107.2 \pm 2.5	100.0 \pm 4.3	98.7 \pm 6.0
	VSL	86.7 \pm 1.8a	78.3 \pm 2.4ab	70.1 \pm 4.4b	79.36 \pm 5.0ab
	VAP	100.6 \pm 1.6	94.2 \pm 2.7	86.8 \pm 4.3	92.4 \pm 5.7
	LIN	79.9 \pm 1.2a	71.4 \pm 2.0ab	65.8 \pm 3.8b	71.8 \pm 4.4ab
	STR	86.0 \pm 0.8	81.4 \pm 1.8	75.5 \pm 3.7	76.6 \pm 4.6
	WOB	92.8 \pm 0.6	85.9 \pm 2.2	82.0 \pm 3.6	83.3 \pm 5.0
Chilled semen	VCL	100.7 \pm 1.4	101.4 \pm 1.7	96.2 \pm 1.0	99.1 \pm 1.5
	VSL	54.6 \pm 2.4ab	51.4 \pm 2.3b	55.7 \pm 2.1ab	64.3 \pm 3.3a
	VAP	77.7 \pm 2.2	77.7 \pm 2.2	77.9 \pm 1.6	85.6 \pm 2.2
	LIN	54.2 \pm 2.4b	50.7 \pm 2.0b	57.9 \pm 2.1ab	64.8 \pm 2.9a
	STR	69.7 \pm 1.6ab	65.8 \pm 1.5b	71.2 \pm 1.5ab	74.7 \pm 2.1a
	WOB	77.1 \pm 1.9b	76.5 \pm 1.6b	81.0 \pm 1.4ab	86.3 \pm 1.6a
Frozen-thawed semen	VCL	85.1 \pm 4.5	89.3 \pm 0.6	92.6 \pm 0.9	93.6 \pm 1.0
	VSL	56.2 \pm 3.4	53.7 \pm 1.0	59.5 \pm 2.2	61.2 \pm 2.1
	VAP	69.7 \pm 3.9	71.3 \pm 1.2	77.1 \pm 1.6	79.9 \pm 1.3
	LIN	62.7 \pm 3.8	60.1 \pm 1.0	64.3 \pm 2.4	65.4 \pm 2.3
	STR	76.4 \pm 4.2	75.3 \pm 0.6	77.0 \pm 1.9	76.4 \pm 1.9
	WOB	77.8 \pm 4.3	79.8 \pm 1.0	83.3 \pm 1.4	85.4 \pm 1.1

VCL, curvilinear velocity, $\mu\text{m/s}$; VSL, straight-line velocity, $\mu\text{m/s}$; VAP, average path velocity, $\mu\text{m/s}$; LIN, linearity coefficient, %; STR, straightness coefficient, %; WOB, Wobble coefficient, %. Different letters in the same row indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

Table 4. Values for kinematic motility variables for medium velocity spermatozoa in fresh, chilled and freeze-thawed sperm over the four seasons of the year. Values for each group are means \pm SEM.

	Variable	Summer	Autumn	Winter	Spring
Fresh semen	VCL	63.0 \pm 1.2a	60.1 \pm 1.6a	50.7 \pm 3.9b	57.9 \pm 2.8ab
	VSL	50.4 \pm 1.2a	44.1 \pm 1.8ab	35.8 \pm 3.1b	46.6 \pm 2.8a
	VAP	57.9 \pm 1.2a	51.9 \pm 1.8a	42.6 \pm 3.5b	52.8 \pm 2.9a
	LIN	80.3 \pm 1.2a	72.4 \pm 2.1a	59.8 \pm 4.8b	74.6 \pm 4.1a
	STR	87.1 \pm 0.8a	84.5 \pm 1.2a	70.4 \pm 5.1b	81.8 \pm 4.0ab
	WOB	92.0 \pm 0.7a	85.4 \pm 1.8a	71.0 \pm 5.3b	84.9 \pm 4.0a
Chilled semen	VCL	62.6 \pm 0.3	62.5 \pm 0.4	65.1 \pm 2.6	61.8 \pm 0.8
	VSL	36.0 \pm 1.5ab	32.0 \pm 1.4b	38.6 \pm 1.7a	38.4 \pm 1.2a
	VAP	48.5 \pm 1.2ab	47.2 \pm 0.8b	52.4 \pm 2.3a	50.2 \pm 1.1ab
	LIN	57.4 \pm 2.3ab	51.1 \pm 2.0b	59.4 \pm 1.8ab	62.1 \pm 1.9a
	STR	73.6 \pm 1.6ab	67.3 \pm 2.0b	73.8 \pm 1.4ab	76.2 \pm 1.1a
	WOB	77.4 \pm 1.6ab	75.5 \pm 1.0b	80.3 \pm 1.1ab	81.3 \pm 1.4a
Frozen-thawed semen	VCL	59.6 \pm 0.6	60.9 \pm 0.4	61.7 \pm 0.6	60.8 \pm 0.7
	VSL	39.8 \pm 1.8	38.6 \pm 0.6	40.9 \pm 1.3	39.9 \pm 0.7
	VAP	49.3 \pm 1.4	49.7 \pm 0.5	51.4 \pm 1.0	50.8 \pm 0.6
	LIN	66.3 \pm 2.7	63.5 \pm 1.1	66.3 \pm 1.9	65.7 \pm 1.3
	STR	79.6 \pm 2.1	77.7 \pm 0.8	79.4 \pm 1.3	78.6 \pm 1.0
	WOB	82.5 \pm 1.8	81.7 \pm 0.7	83.4 \pm 1.3	83.36 \pm 0.7

VCL: curvilinear velocity, $\mu\text{m/s}$; VSL: straight-line velocity, $\mu\text{m/s}$; VAP: average path velocity, $\mu\text{m/s}$; LIN: linearity coefficient, %; STR: straightness coefficient, %; WOB: Wobble coefficient, %. Different letters in the same row indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

The plasma testosterone concentrations recorded were clearly associated with the natural photoperiod; high testosterone concentrations were recorded during summer and autumn (decreasing daylength), and low concentrations were recorded during winter and spring

(increasing daylength). These results reveal the existence of a well-defined breeding season characterised by high testosterone production in these animals. The seasonal changes in testosterone secretion seen were very similar to those reported for Payoya bucks living

Seasonality of Blanca Andaluza bucks

7

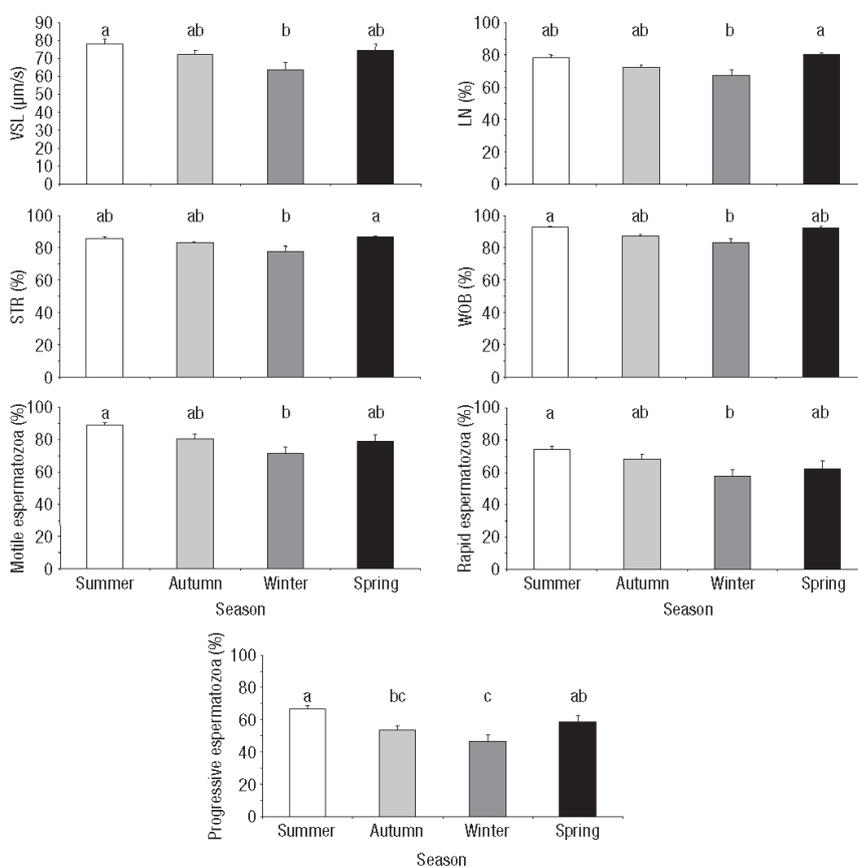


Figure 2. Mean values (±SEM) for straight-line velocity (VSL, µm/s), linearity coefficient (LIN, %), straightness coefficient (STR, %), Wobble coefficient (WOB, %), motile spermatozoa (%), rapid spermatozoa (%) and progressive spermatozoa (%) in fresh semen over the four seasons of the year (Summer: n=86; Autumn: n=80; Winter: n=76; Spring: n=82). Different letters above the histogram bars, indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

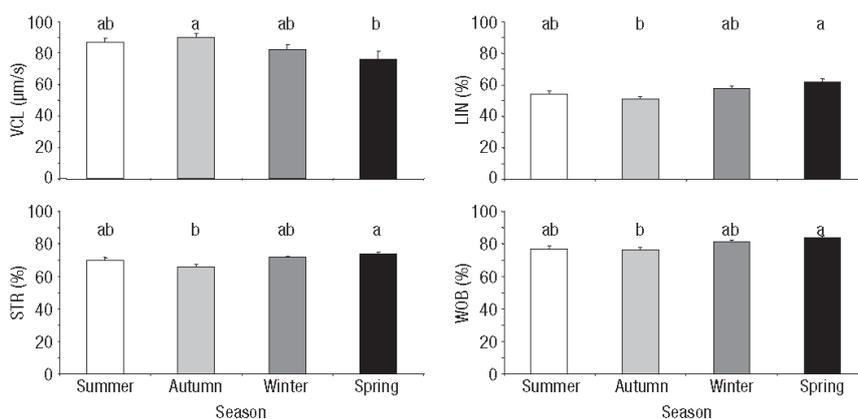


Figure 3. Mean values (±SEM) for curvilinear velocity (VCL, µm/s), linearity coefficient (LIN, %), straightness coefficient (STR, %), Wobble coefficient (WOB, %) in chilled sperm over the four seasons of the year (Summer: n=40; Autumn: n=40; Winter: n=24; Spring: n=24). Different letters above the histogram bars, indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

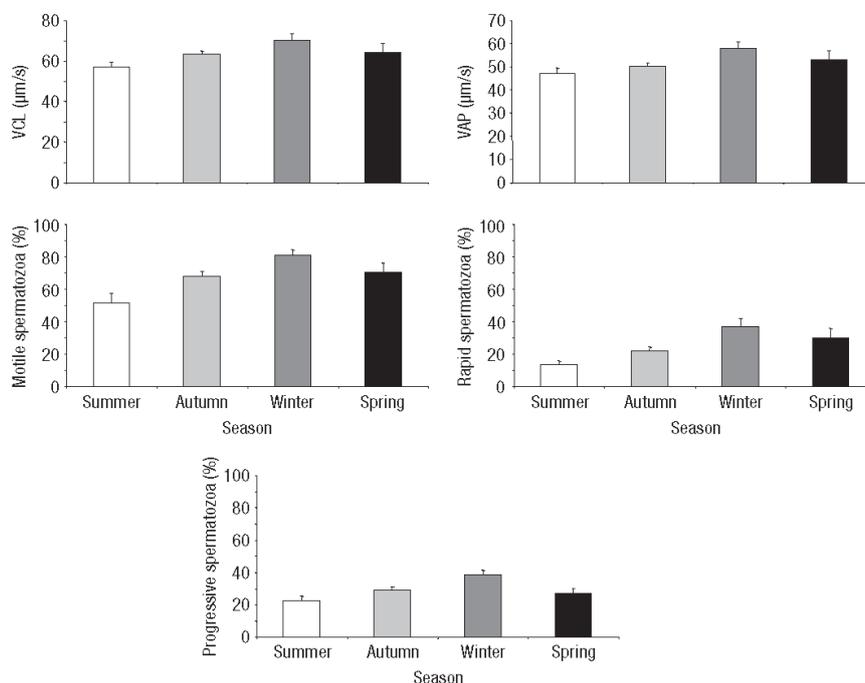


Figure 4. Mean values (\pm SEM) for curvilinear velocity (VCL, $\mu\text{m/s}$), average path velocity (VAP, $\mu\text{m/s}$), motile spermatozoa (%), rapid spermatozoa (%) and progressive spermatozoa (%) in frozen-thawed sperm over the four seasons of the year (Summer: $n=40$; Autumn: $n=40$; Winter: $n=24$; Spring: $n=24$). Different letters above the histogram bar, indicate significant differences between groups ($p<0.05$).

at the same latitude (Zarazaga *et al.*, 2009), for Creole bucks in Mexico (Delgadillo *et al.*, 1999; 2004), for Blanca Andaluza bucks under artificial photoperiod (Gallego-Calvo *et al.*, 2015) and bucks of other Mediterranean goat breeds (Todini *et al.*, 2007). However, in Alpine bucks living at 46°N , increases in plasma testosterone are delayed until late August–September (Delgadillo & Chemineau, 1992). This is probably due to a longer lag time between the perception of the photoperiodic signal and the expression of physiological responses in these animals (Delgadillo *et al.*, 2004).

The changes seen in plasma testosterone were inversely associated with changes in BW. Such BW changes have previously been reported in both sexes of this species (Delgadillo *et al.*, 1991; Walkden-Brown *et al.*, 1994a; Delgadillo *et al.*, 1999, 2004; Zarazaga *et al.*, 2009). It has been suggested that differences in food intake might explain them (Walkden-Brown *et al.*, 1994b; Argo *et al.*, 1999). It may be that, as the males show more breeding activity due to their higher testosterone concentrations (even homosexual behaviour), their browsing time is reduced.

Lower sperm concentrations, smaller total numbers of spermatozoa per ejaculate, and lower overall motility were also seen during winter when plasma testos-

terone was low. These findings are similar to those obtained by Karagiannidis *et al.* (2000) who worked with Alpine, Saanen and Damascus goats, and that reported by Roca *et al.* (1992), Pérez & Mateos (1996), Zarazaga *et al.* (2009) and Dorado *et al.* (2010) for other Spanish goat breeds. However, the seasonal changes in plasma testosterone were not associated with any variation in TW, the percentage of ejaculating bucks or active bucks, ejaculation latency, or ejaculate volume. This contrasts with results obtained by our group for Payoya bucks (Zarazaga *et al.*, 2009), and suggests that Blanca Andaluza bucks are less seasonal than other Spanish goat breeds—at least in terms of the above variables. Recently, Gallego-Calvo *et al.* (2014), working with females of this breed, reported that around 10% of does showed ovarian activity throughout the year; this has not been described for other Spanish goat breeds.

For the fresh sperm, the values for the kinematic motility variables and the percentages of motile, rapid and progressive sperms were lower during winter compared to summer, with no differences seen between the other seasons. This, along with the lower sperm concentration, suggests winter to be the worst period during which to collect Blanca Andaluza semen. This

agrees with previous results obtained by our group on Payoya bucks (Zarazaga *et al.*, 2009). In that earlier experiment, the values for VCL, VSL and VAP were at their lowest in December. It was surprising to see, therefore, that winter-collected sperm showed better post-thaw quality than summer-collected sperm. It may be that the larger number of sperms in the summer ejaculates impeded the removal of the seminal plasma by the washing solution (the same volume was used in both seasons), leading to its poorer cryopreservation. Some enzymes produced in the bulbourethral gland are responsible for the degradation of egg yolk and skimmed milk products, producing compounds toxic to sperm (Roy; 1957; Iritani & Nishikawa, 1961).

The values for the kinematic motility variables and the percentage of motile spermatozoa decreased progressively from fresh to chilled to frozen thawed-sperm. This might be expected since this kind of processing can be harmful to sperm ultrastructure, biochemistry and function (Watson, 2000), resulting in reduced motility, membrane integrity, and fertilizing capacity (Purdy, 2006).

In conclusion, the results of this work support the idea that Blanca Andaluza bucks are subjected to marked seasonality in terms of their plasma testosterone concentration, with more intense secretion occurring during summer and autumn (decreasing daylength). However, no clear changes in their sexual behaviour are seen over the year. The lowest fresh semen quality was obtained in winter, a period with very low testosterone concentrations. However, after freezing-thawing, winter-collected sperm returned better sperm quality results than summer-collected sperm.

Acknowledgments

The authors thank the *Asociación Nacional de Criadores de Ganado Caprino de Raza Blanca Andaluza* (ABLANSE) for supplying the animals used.

References

- Argo CM, Smith JS, Kay RNB, 1999. Seasonal changes of metabolism and appetite in Soay rams. *Anim Sci* 69: 191-202.
- Baril G, Chemineau P, Cognie Y, Guerin Y, Leboeuf B, Orgeur P, Vallet JC, 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO, Rome. 193 pp.
- BOE, 2009. Royal decree 2129/2008, of 26th December, about the conservation, improvement and promotion of livestock breeds National Program. *Boletín Oficial del Estado*, No. 23, 27/01/2009, pp. 9211-9242. [In Spanish].
- BOE, 2013. Royal decree 53/2013, of 1st February, about the animal protection policy for animals used in scientific experiments. *Boletín Oficial del Estado* No. 34, 8/02/2013, pp. 11370-11421. [In Spanish].
- Boue P, Corteel JM, 1992. Aptitude of male goat sperm to withstand freezing: Combined effects of season and time of sexual rest between two successive collections. In: *Recent advances in goat production*; Lokeshwar RR (ed.). pp: 1140-1143. Nutan Printers, New Delhi, India.
- Corteel JM, 1981. Collection, processing and artificial insemination of goat semen. In: *Goat production*; Gall C (ed). pp: 171-191. Academic Press, London.
- Corteel JM, Baril G, Leboeuf B, Marcellier N, 1978. Voies disponibles pour augmenter l'utilisation des meilleurs boucs. 4ème Journées Rech. Ovine et Caprine. INRA-ITOVIC, Paris, pp: 358-366.
- Delgadillo JA, Chemineau P, 1992. Abolition of the seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. *J Reprod Fertil* 94: 45-55. <http://dx.doi.org/10.1530/jrf.0.0940045>
- Delgadillo JA, 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. [http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90341-A](http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X(91)90341-A)
- Delgadillo JA, Leboeuf B, Chemineau P, 1993. Maintenance of sperm production in bucks during a third year of short photoperiodic cycles. *Reprod Nutr Dev* 33: 609-617. <http://dx.doi.org/10.1051/rnd:19930612>
- Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpoux B, 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 52: 727-737. <http://dx.doi.org/10.1051/rnd:19930612>
- Delgadillo JA, Cortez ME, Duarte G, Chemineau P, Malpoux B, 2004. Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. *Reprod Nutr Dev* 44: 183-193. <http://dx.doi.org/10.1051/rnd:2004024>
- Dorado J, Muñoz-Serrano A, Hidalgo M, 2010. The effect of cryopreservation on goat semen characteristics related to sperm freezability. *Anim Reprod Sci* 121: 115-123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.04.182>
- Gallego-Calvo L, Gatica MC, Guzmán JL, Zarazaga LA, 2014. Role of body condition score and body weight in the control of seasonal reproduction in Blanca Andaluza goats. *Anim Reprod Sci* 151: 157-163. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.10.011>
- Gallego-Calvo L, Gatica MC, Santiago-Moreno J, Guzmán JL, Zarazaga LA, 2015. Exogenous melatonin does not improve the freezability of Blanca Andaluza goat semen over exposure to two months of short days. *Anim Reprod Sci* 156: 51-57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.001>
- Iritani A, Nishikawa Y, 1961. Studies on the egg yolk coagulating factors in goat semen: II properties of the coagulating factor and influential conditions for coagulation. *Proc. Silver Jubilee Laboratory of Animal Husbandry, Kyoto University (Japan)*, pp: 97-104.

- Karagiannidis A, Varsakeli 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. [http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00272-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00272-7)
- Morand-Fehr P, Sauvant D, 1988. Goat nutrition. In: *Alimentation des bovins, ovins et caprins*; Jarrige R (ed.). pp: 281-304. INRA, Paris.
- Muduuli S, Sanford LM, Palmer WM, Howland BE, 1979. Secretory patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the male Pygmy goat. *J Anim Sci* 49: 543-553.
- Muhuyi EZ, Drobnis EZ, Nelxon EA, Lin TY, 1992. Season, breed and age influence on production and freezability of dairy goat semen. *Proc. 3rd Int Conf on Goat Production and Diseases, Tucson, AZ (USA)*. Jan 10-15. p: 283.
- Nunez JF, Corteel JM, Combamous Y, Baril G, 1982. Study of the involvement of seminal plasma constituents in the seasonal variations of goat spermatozoa motility. *Proc. 3rd Int Conf on Goat Production and Diseases, Tucson, AZ (USA)*. Jan 10-15. p: 285.
- OJEU, 2010. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, No. 276: 22-79.
- Oldham CM, Adams NR, Gherardi PB, Lindsay DR, McKintosh JB, 1978. The influence of level of food intake on sperm-producing capacity of testicular tissue in the ram. *Aust J Agric Res* 29: 173-179. <http://dx.doi.org/10.1071/AR9780173>
- Pelletier J, Chemineau P, Delgadillo JA, 1988. Seasonality of sexual activity and its photoperiodic control in the adult ram and he-goat. *Proc. 11th Int Congr Anim Reprod & A. I., Dublin (Ireland)*. June 26-30. Vol 5, pp: 211-219.
- Pérez B, Mateos E, 1996. Effect of photoperiod on semen production and quality in bucks of Verata and Malagueña breeds. *Small Ruminant Res* 22: 163-168. [http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(96\)00887-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(96)00887-5)
- Peskovatskov AP, Vasiljev GI, Dzumagahiev M, 1974. First results of artificial insemination with frozen semen. *Zhivotnovodstvo* 8: 71-72. [In Russian].
- Pintado B, Perez B, Mateos E., 1992. Effect of season on freezability of Verato buck spermatozoa. In: *Recent advances in goat production*; Lokeshwar RR (ed.). pp: 1042-1045. Nutan Printers, New Delhi, India.
- Purdy PH, 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Res* 63: 215-225. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.02.015>
- Roca J, Martínez E, Vázquez JM, Coy P, 1992. Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area. *Anim Reprod Sci* 29: 255-262. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90038-F](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320(92)90038-F)
- Rouger Y, 1974. Etude des interactions de l'environnement et des hormones sexuelles dans la régulation du comportement sexuel des Bovidae. Doctoral thesis, Université de Rennes, France.
- Roy A, 1957. Egg yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat. *Nature* 179: 318-319. <http://dx.doi.org/10.1038/179318b0>
- SPSS, 2008. *SPSS statistics base user's guide 17.0*. Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, USA. 640 pp.
- Summermatter P, Flukiger A, 1982. Buck semen processing during off breeding season. *Proc. 3rd Int Conf on Goat Production and Diseases, Tucson, AZ (USA)*. Jan 10-15. p: 284.
- Thimonier J, Terqui M, Chemineau P, 1986. Conduite de la reproduction de petits ruminants dans les différentes parties du monde. *Proc Inter Atomic Energy Agency*, pp: 135-147.
- Todini L, Malfatti A, Terzano GM, Borghese A, Pizzillo M, Debenedetti A, 2007. Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology* 67: 627-631. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.023>
- Tuli RK, Holtz W, 1995. Effect of season on the freezability of Boer goat semen in the northern temperate zone. *Theriogenology* 43: 1359-1363. [http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00120-W](http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X(95)00120-W)
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ, Martin GB, 1994a. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *J Reprod Fertil* 102: 351-360. <http://dx.doi.org/10.1530/jrf.0.1020351>
- Walkden-Brown SW, Norton BW, Restall BJ, 1994b. Seasonal variation in voluntary feed intake in Cashmere bucks fed ad libitum diets of low or high quality. *Aust J Agric Res* 45: 355-366.
- Watson PF, 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 60-61: 481-492. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00099-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3)
- Zarazaga LA, Guzmán JL, Domínguez C, Pérez MC, Prieto R, 2009. Effects of season and feeding level on reproductive activity and semen quality in Payoya buck goats. *Theriogenology* 71: 1316-1325. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.01.007>

Artículo 5. Se corresponde con el objetivo 5:

El tratamiento con melatonina exógena no mejora la congelabilidad del semen de machos cabríos de raza Blanca Andaluza respecto al tratamiento con días cortos.

Exogenous melatonin does not improve the freezability of Blanca Andaluza goat semen over exposure to two months of short days.

L. Gallego-Calvo, M.C. Gatica, J. Santiago-Moreno, J.L. Guzmán, L.A. Zarazaga

Animal Reproduction Science (2015) 157: 24-32

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

En todos los experimentos de este estudio llevados a cabo en hembras, se han estudiado diferentes aspectos de la actividad reproductiva de la raza caprina Blanca Andaluza y, dependiendo de la etapa reproductiva, la influencia de distintos factores como la nutrición-peso vivo-condición corporal y el fotoperiodo. Se ha demostrado que el inicio de la pubertad de chivas de raza Blanca Andaluza nacidas en otoño, se produjo en el siguiente periodo de actividad reproductiva (el otoño siguiente) al del nacimiento. Esto coincide con lo publicado por nuestro grupo para las chivas de raza Payoya nacidas en otoño (Zarazaga y cols., 2009c). De forma similar, Papachristoforou y cols. (2000), trabajando con cabras de raza Damasco, Freitas y cols. (2004) con cabras Anglo-nubianas y Saanen en condiciones tropicales, Devenson y cols. (1992) con cabras Saanen en Europa, Greyling y Van Niekerk (1990) con chivas Boer, y Delgadillo y cols. (2007) con chivas Criollas, observaron que la pubertad comenzaba durante la primera estación reproductiva tras el nacimiento. Conjuntamente, todos estos resultados sugieren un fuerte efecto de la época de nacimiento sobre el inicio de la pubertad en caprino, con el fotoperiodo jugando un papel clave aparentemente (Chemineau y cols., 1988a).

La media de edad para el inicio de la pubertad ($317,2 \pm 5,1$ días de edad) fue más temprana que las publicadas por Zarazaga y cols. (2009c) para chivas de raza Payoya, nacidas en la misma estación ($347,9 \pm 65,7$ días de edad). Esto podría ser explicado por diferencias raciales. En el anterior trabajo, las chivas de raza Payoya iniciaron la pubertad cuando su peso vivo (PV) fue de 28,3 kg y su condición corporal (CC) de 2,71, mientras que las hembras del grupo con bajo PV y baja CC (grupo BB) de la presente memoria, comenzaron la pubertad en una edad similar a la registrada para las chivas Payoya, pero con un menor PV (22,7 kg) y menor CC (2,48); lo que podría indicar que las chivas de raza Blanca Andaluza podrían ser más precoces que las de raza Payoya. Gordon (1975) indicó que la pubertad en animales de granja requiere un PV crítico para alcanzarla. En cabras, Smith (1980) publicó que este PV debía ser un 60-75% del PV adulto. Sin embargo, chivas autóctonas del norte de Marruecos alcanzaron la pubertad con un PV estimado de 17,6 kg, esto es un 46% del PV adulto, similar a lo observado para cabras Saanen (Freitas y cols., 2004) y Payoya (Zarazaga y cols., 2009c).

En el presente experimento, las chivas de los grupos BB y BA (bajo PV y alta CC) comenzaron la pubertad con un $59,3 \pm 1,6\%$ del peso adulto. Esto indica que, para esta raza, el PV crítico para el inicio de la pubertad está aproximadamente en un 60% del PV adulto. Las chivas del grupo AA (alto PV y alta CC) probablemente alcanzaron este peso crítico antes del inicio del experimento, pero no iniciaron la pubertad debido a que el fotoperiodo en ese momento no era favorable. Curiosamente, no se encontraron diferencias entre grupos con respecto al porcentaje del peso final adulto en el comienzo de la pubertad. Esto indica que un PV de aproximadamente un 60% del peso adulto favorece el inicio de la pubertad, pero que otros indicadores, como la condición corporal, también pueden ejercer una influencia importante sobre el inicio de la misma.

En este sentido, los animales del grupo BA alcanzaron la pubertad al mismo tiempo que los animales del grupo AA, y todos ellos antes que el grupo BB, pero todos los animales tenían el mismo porcentaje de peso vivo adulto. Estos resultados coinciden con resultados anteriores para cabras Payoyas publicados por Zarazaga y cols. (2009c). En este último trabajo, el PV no modificó el momento de inicio de la pubertad, pero las chivas de mayor CC comenzaron la actividad reproductiva antes. En ese estudio, los grupos de animales de diferente CC se establecieron independientemente del nivel nutricional. Sin embargo, en el presente experimento, los grupos se establecieron desde el principio. En consecuencia, las diferencias encontradas entre las chivas de los grupos BA/AA y BB podrían ser explicadas por determinados factores como la secreción de leptina. Así, un incremento en la leptina plasmática durante el inicio de la pubertad probablemente actúa como una señal para el paso a la madurez sexual (Vitali y cols., 2005; Foster y Jackson, 2006) y esta señal se podría producir antes en las chivas de alta CC.

No se observó ningún efecto del PV o CC sobre la tasa de ovulación en la pubertad. Esto contrasta con resultados previos obtenidos por nuestro grupo trabajando con chivas de raza Payoya nacidas en la misma estación (Zarazaga y cols., 2009c). En dicho experimento, no se observó ningún efecto de la nutrición ni la CC en la tasa de ovulación, pero sí un claro efecto del PV en esta variable. La razón podría ser que esos animales al ser más pesados estaban más desarrollados, permitiendo en ellos alcanzar una tasa de ovulación similar a la de cabras adultas. Sin embargo, en el

presente experimento, a pesar de que las chivas del grupo AA tenían un mayor PV que los animales de grupo BB, no se observó ninguna diferencia en la tasa de ovulación. Esta diferencia entre las chivas de raza Payoya y las de Blanca Andaluza, podrían ser explicadas por diferencias raciales o también porque, los animales del presente experimento, alcanzaron la pubertad a una edad más temprana que los del estudio previo y como consecuencia, su eje endocrino quizás estuviese insuficientemente desarrollado para alcanzar una mayor tasa de ovulación.

Una vez estudiada el inicio de la actividad reproductiva de las chivas de raza Blanca Andaluza, nos planteamos estudiar la fisiología de diversos eventos reproductivos y el efecto de la condición corporal y del momento de la sincronización con esponjas intravaginales de progesterona (época de anestro estacional o época de actividad reproductiva). Los resultados obtenidos muestran que las hembras de raza Blanca Andaluza responden adecuadamente a la sincronización mediante el tratamiento con esponja intravaginal de progesterona, independientemente de la estación o del nivel de CC. Pero se constató que la estación fue el factor más importante que afectó al resultado del tratamiento de sincronización, tras la retirada de la esponja; tanto el tiempo hasta la aparición del celo, como el momento del pico de LH y el momento de la ovulación fueron menores en hembras sincronizadas durante el anestro estacional.

La estación en la que se realizó la sincronización no tuvo efecto en el porcentaje de hembras que mostraron celo, lo que sugeriría que esta raza responde adecuadamente a este tratamiento. Los porcentajes registrados (88% estación reproductiva vs 97% anestro estacional) fueron similares a los publicados por otros autores usando esponjas con 20 mg de progestágeno (Leboeuf y cols., 2003).

Respecto al crecimiento y maduración folicular, se observó un mayor número de folículos ≥ 1 cm durante el anestro estacional que durante la estación reproductiva. Este resultado se podría considerar inesperado. Sin embargo, un incremento en el crecimiento folicular debería conducir a un incremento de la tasa de ovulación, bien provocada por una mayor respuesta del pool de folículos a los incrementos de gonadotropinas o a un mayor periodo de crecimiento inducido por la FSH previo al pico preovulatorio de LH (Scaramuzzi y cols., 1993). En el presente trabajo, uno de estos acontecimientos se tuvo que producir de una manera más marcada durante el

anestro estacional. La condición corporal tuvo un efecto en el número de folículos ≥ 1 cm justo antes de la ovulación, siendo el menor número el registrado en el subgrupo de $CC=2,50$. Este resultado también fue algo inesperado ya que lo normal hubiera sido que el menor número de folículos preovulatorios se hubiera observado en el grupo con $CC \leq 2,25$. No obstante, Meza-Herrera y cols. (2008) publicaron que el número de folículos preovulatorios ≥ 5 mm no era diferente en cabras con alta (3,2) o baja (2,1) condición corporal. Además, el efecto de la condición corporal sobre esta variable tampoco puede ser explicado por la secreción de LH, ya que no se vieron diferencias entre los subgrupos de CC en términos de concentración de LH en el momento del pico preovulatorio de LH. Esto sugeriría que las últimas fases del desarrollo folicular y ovulación serían independientes de la actividad hipotalámica, tal y como indicó Meza-Herrera y cols. (2008). Por lo tanto, una posible explicación para estos resultados consistiría en una variabilidad individual en la respuesta al tratamiento, o que el tratamiento con eCG podría haber enmascarado las posibles diferencias debidas a la CC.

La época del tratamiento tuvo un efecto claro sobre el momento de aparición del celo, el momento del pico preovulatorio de LH y el momento de la ovulación tras la retirada de la esponja; todos estos valores fueron menores cuando las hembras fueron sincronizadas durante el anestro estacional. Sin embargo, trabajando con cabras de raza Alpina, Baril y Vallet (1990) observaron que el intervalo entre la retirada de la esponja y el inicio del celo era menor en hembras sincronizadas durante la estación reproductiva. Esta diferencia podría ser explicada por el tratamiento usado; los últimos autores emplearon FSHp para sincronizar sus animales. Igualmente, Ritar y cols. (1984) y Pierson y cols. (2003) mostraron que el intervalo entre la retirada de la esponja y el momento del pico preovulatorio de LH era menor en hembras sincronizadas durante la estación reproductiva, al contrario que nuestros resultados. También, Ritar y cols. (1984) observaron que cuando la eCG era inyectada 48 horas antes de la retirada de la esponja, el pico preovulatorio de LH ocurría más tarde en hembras sincronizadas durante el anestro estacional que en aquellas sincronizadas durante la estación reproductiva, siendo también un resultado opuesto al nuestro. No obstante, se ha demostrado que, cuando los animales están cíclicos, las mayores concentraciones de progesterona en el momento de la luteolisis (inducida por la inyección de

prostaglandinas) pueden retrasar la aparición del pico preovulatorio de LH (Freitas y cols., 1996). Por lo tanto, se podría esperar un menor intervalo entre el momento de retirada de la esponja y el momento de salida en celo en hembras que no están cíclicas, es decir, las sincronizadas durante el anestro estacional, tal y como se observa en el presente experimento. Éstas, responderían más rápidamente a la retirada de la esponja porque no tienen unos niveles hormonales preexistentes que superar. Esto además fue confirmado examinando los valores del error estándar de la media en los resultados del presente experimento: en el anestro estacional éstos fueron menores que durante la estación reproductiva, indicando que la respuesta tras la retirada de la esponja fue más sincronizada. Además, dado que el estradiol es el responsable de la inducción del comportamiento de celo, el pico preovulatorio de LH y la ovulación, el momento de estos eventos debe ser dependiente del ritmo de crecimiento y desarrollo folicular. En este trabajo, se observaron un gran número de folículos ≥ 1 cm cuando las hembras fueron sincronizadas durante el anestro estacional, así que los intervalos estudiados deberían ser más cortos en estos animales en ese momento del año. Quedaría por determinar si esas variaciones son mediadas por mecanismos ováricos intrínsecos o simplemente por cambios estacionales en la población de folículos.

Finalmente, los niveles basales de LH fueron superiores en las hembras sincronizadas durante la estación reproductiva. Este hecho coincide con resultados previos obtenidos por nuestro grupo, en hembras ovariectomizadas y tratadas con estradiol mantenidas en un fotoperiodo artificial, de manera que las concentraciones de LH fueron mayores durante los días cortos (estación reproductiva) que durante los días largos (anestro estacional) (Zarazaga y cols., 2011a, b, c). La interacción observada en este trabajo entre la estación del año y el nivel de condición corporal podría explicarse porque un mayor nivel de condición corporal podría estimular la función hipofisaria durante el periodo de anestro estacional (Zarazaga y cols., 2011a, b, c). Sin embargo, en el presente trabajo, las mayores concentraciones basales de LH se observaron durante el anestro estacional en el grupo con la CC más baja, por lo que se necesitarían más estudios para explicar este hecho.

Respecto a la estacionalidad reproductiva de las hembras, los resultados obtenidos revelan que, mantenidas bajo fotoperiodo natural, las hembras de raza caprina Blanca Andaluza muestran actividad reproductiva entre agosto y abril, y un periodo de inactividad reproductiva entre mayo y julio. Además, esta estacionalidad está modulada por la CC y el PV, pero sin interacción o efecto compensatorio entre estos factores.

En la literatura existen publicaciones tanto en cabras (De Santiago-Miramontes y cols., 2009) como en ovejas (Forcada y cols., 1992) que sugieren una asociación entre unos bajos niveles de CC y una estación reproductiva más corta, pero en dichos estudios las hembras con un mayor PV también tenían una mejor CC, por lo que no podían diferenciar entre el efecto del PV y de la CC. De forma similar, en otros experimentos con cabras en los que se estudió el efecto de la nutrición en la actividad reproductiva (Zarazaga y cols., 2005, 2011a, b, c), el nivel de ingesta indujo diferencias en la CC y el PV, por lo que nuevamente los efectos de la CC y el PV no podían distinguirse. En el presente experimento, los animales con distinta CC fueron seleccionados así como separados en grupos de distinto PV; esto permitía diferenciar entre los efectos de ambas variables, independientemente, sobre la actividad reproductiva a lo largo del año. Con este diseño experimental, no se detectó ninguna interacción entre la CC y el PV sobre ninguna de las variables reproductivas estudiadas, indicando que el impacto que tienen sobre la reproducción es independiente la una de la otra. Este resultado supone que se debe rechazar la hipótesis de que estas variables pueden modular la reproducción de una manera compensatoria. Además, no se detectó ningún efecto sinérgico entre la CC y el PV, es decir, el grupo de hembras que tenían una mayor CC y PV no tuvo un periodo de actividad reproductiva mayor que aquellas hembras con menor CC y menor PV. Fueron, las cabras con una $CC \geq 2,75$, y aquellas con un $PV > 40$ kg las que tuvieron un periodo reproductivo más largo que las hembras con una $CC \leq 2,50$ o un $PV \leq 40$ kg ($P < 0,01$).

Quizás una menor CC o un menor PV sea traducido a nivel hipotalámico por una reducción en la secreción de GnRH (Imakawa y cols., 1987; Tanaka y cols., 2002). Además, el efecto positivo de una mayor CC o PV en la duración de la estación reproductiva, podría por tanto estar mediado por una señal de leptina. Así, Archer y cols. (2002) observaron mayores concentraciones de leptina en plasma en moruecos

castrados tratados con estradiol con una mayor CC. Asimismo, las ovejas que tenían una mayor CC, tenían mayores concentraciones de FSH y menores concentraciones de estradiol (Viñoles y cols., 2005). La reducida producción de estradiol en estos animales probablemente se asocie con mayores concentraciones de leptina en ovejas con un mayor porcentaje de grasa. Menores concentraciones de estradiol podrían reducir el *feedback* negativo a nivel del eje hipotálamo-hipofisario, y con ello, incrementar las concentraciones de LH y FSH e inducir un periodo reproductivo más largo.

Algunas de las hembras del presente estudio manifestaron ovulaciones durante el periodo de anestro estacional. En la misma latitud en la que el presente experimento se llevó a cabo pero trabajando con cabras de raza Payoya (Zarazaga y cols., 2005) no se observaron celos ni ovulaciones durante el anestro estacional. Tampoco fueron registradas ovulaciones durante el anestro estacional por Gómez-Brunet y cols. (2003) trabajando con cabras Malagueñas en una latitud similar a la del presente estudio. De Santiago-Miramontes y cols. (2009) tampoco observó ninguna ovulación ni actividad estral durante el anestro estacional en cabras Criollas en latitudes subtropicales. La razón para esta diferencia entre las cabras Blanca Andaluza y otras razas podría estar ligada a la sensibilidad al efecto del *feedback* negativo del estradiol durante el anestro estacional. Pero también, la nutrición puede modular la actividad reproductiva (Zarazaga y cols., 2011a, b, c), lo que podría explicar también porque las hembras con ovulaciones continuas en el presente estudio, fueron de los grupos con una $CC \geq 2,75$, independientemente de su PV. Esto podría indicar que la reducción de la sensibilidad del eje hipotálamo-pituitaria al efecto de *feedback* negativo del estradiol por el nivel de condición corporal podría ser suficiente para estimular la actividad reproductiva.

Se observó un gran número de ovulaciones silentes, especialmente durante el anestro estacional (entre el 4,5% y 38% de los ciclos durante mayo y junio). Idénticos resultados han sido publicados en ciertas razas ovinas con reducida estacionalidad (Thimonier y Mauleon, 1969; Wheeler y Land, 1977; Avdi y cols., 1988; Forcada y cols., 1992; Arroyo y cols., 2007), pero no en cabras situadas en latitudes similares o incluso menores (Rivera y cols., 2003; Zarazaga y cols., 2005; De Santiago-Miramontes y cols., 2009; Chentouf y cols., 2011). No obstante, resultados similares fueron publicados por Chemineau y cols. (2004) para cabras Criollas bajo condiciones simuladas de

fotoperiodo tropical. Estas ovulaciones no asociadas a comportamiento de celo, podrían estar relacionadas con variaciones estacionales a la sensibilidad del estradiol (Karsch y cols., 1978; Webster y Haresign, 1983).

En el presente experimento, ni la tasa de ovulación del primer ni del último celo de la estación reproductiva fue modificada por la CC, aunque sí fue modificada por el PV. Este resultado es similar al descrito por Zarazaga y cols. (2005) en cabras de raza Payoya. Podría ser que los animales con un $PV > 40$ kg, independientemente de la CC, tuvieron un mayor índice de masa corporal, y como consecuencia un mayor desarrollo físico, una mayor capacidad de mantener la gestación, y quizás un mayor desarrollo del eje hipotálamo-pituitaria. De hecho, los resultados presentes indican que una $CC \leq 2,50$ es suficiente para una buena capacidad reproductiva si el PV es el adecuado (alrededor de 45 kg, es decir, la media del grupo con $CC \leq 2,50$).

Para finalizar, una vez estudiadas las hembras, se llevaron a cabo dos experimentos en machos. En el primero, se estudió la estacionalidad reproductiva así como las variaciones del semen fresco y su congelabilidad. Los resultados de este experimento muestran que cuando los machos de raza Blanca Andaluza son mantenidos bajo fotoperiodo natural, se observa una marcada variación estacional en su actividad reproductiva tal y como se registra en las concentraciones de testosterona plasmática, la calidad del semen fresco y su congelabilidad. Cuando las concentraciones de testosterona plasmática eran altas, los machos presentaban el peso vivo más bajo y viceversa. En general, los valores más bajos en las variables del semen fresco se observaron en invierno. Sin embargo, el semen recogido en esta estación presentó mejores resultados tras la congelación-descongelación que en el semen recogido en verano.

Las concentraciones de testosterona plasmática registradas estaban claramente asociadas al fotoperiodo natural. Durante el verano y otoño (días decrecientes) estas concentraciones fueron altas mientras que en invierno y primavera (días crecientes) fueron bajas. Estos resultados revelan la existencia de una estación reproductiva bien definida caracterizada por una alta producción de testosterona en estos animales, lo que confirma que el fotoperiodo es el principal factor medioambiental que controla su actividad reproductiva. Los cambios estacionales observados en la secreción de testosterona fueron similares a los publicados para machos de raza Payoya en la

misma latitud (Zarazaga y cols., 2009b), para machos Criollos en Mexico (Delgadillo y cols., 1999; 2004a), en machos Blanca Andaluza con fotoperiodo artificial (Gallego-Calvo y cols., 2015) y machos de otras razas Mediterráneas (Todini y cols., 2007). Sin embargo, en machos de raza Alpina situados en una latitud de 46° N, los aumentos en la testosterona plasmática se retrasaron hasta finales de agosto-septiembre (Delgadillo y Chemineau, 1992). Esto probablemente está asociado a un mayor retraso entre la percepción de la señal fotoperiódica y la expresión de las respuestas fisiológicas en estos animales (Delgadillo y cols., 2004a).

Los cambios observados en la testosterona plasmática estuvieron asociados de manera inversa a los cambios en el peso vivo. Estos cambios del peso vivo fueron previamente registrados en ambos sexos de estas especies (Walkden-Brown y cols., 1994b; Delgadillo y cols., 1991, 1999, 2004a; Zarazaga y cols., 2009b); Y se ha sugerido que diferencias en la ingesta podrían explicar estos hechos (Walkden-Brown y cols., 1994a; Argo y cols., 1999). Esto podría deberse a que los machos, al presentar una mayor actividad reproductiva asociada a sus altas concentraciones de testosterona (incluso comportamientos homosexuales), también ven reducido su tiempo de ingesta de alimento.

Durante el invierno, momento en el que las concentraciones de testosterona eran bajas, también se observaron menores concentraciones espermáticas, menor número de espermatozoides por eyaculado y una menor motilidad masal. Estos resultados son similares a los obtenidos por Karagiannidis y cols. (2000), trabajando con cabras Alpinas, Saanen y Damasco, y los publicados por Pérez y Mateos (1996), Roca y cols. (1992), Zarazaga y cols. (2009b) y Dorado y cols. (2010) para otras razas españolas. Sin embargo, los cambios estacionales en la testosterona plasmática no se asociaron con ninguna variación en el tamaño testicular, el porcentaje de machos que eyaculaban o machos activos, el tiempo de eyaculación o el volumen de eyaculado. Estos resultados son contradictorios con los obtenidos por nuestro grupo en los machos de raza Payoya (Zarazaga y cols., 2009b) y sugieren que los machos de raza Blanca Andaluza son menos estacionales que otras razas españolas, al menos en las variables mencionadas anteriormente. Recientemente, Gallego-Calvo y cols. (2014), trabajando con hembras de esta raza, publicaron que alrededor de un 10% de hembras

mostraron actividad ovárica a lo largo del año; esto no ha sido descrito para otras razas españolas.

En el semen fresco, los valores para las variables de motilidad, y los porcentajes de espermatozoides móviles, los espermatozoides rápidos y progresivos fueron menores durante el invierno en comparación con el verano, sin observarse diferencias con otras estaciones. Esto, junto con una menor concentración espermática, sugiere que el invierno es el peor periodo para la recogida de semen en la Blanca Andaluza. Esto coincide con los resultados obtenidos previamente por nuestro grupo en machos Payoyos (Zarazaga y cols., 2009b). En este experimento anterior, los valores para la VCL (velocidad curvilínea), VSL (velocidad rectilínea) y VAP (velocidad media) tuvieron sus valores más bajos en diciembre. Lo que fue inesperado, por tanto, es que el semen recogido en invierno presentase una mejor calidad tras la descongelación que el semen recogido en verano. Esto podría deberse a que el mayor número en espermatozoides en los eyaculados de verano impiden la retirada del plasma seminal por la solución de lavado (se usó el mismo volumen en ambas estaciones) conllevando a una peor crioconservación. Esto se debería a que, algunas enzimas producidas en las glándulas bulbouretrales son las responsables de la degradación de los productos de yema de huevo y leche desnatada, dando lugar a componentes tóxicos para el espermatozoide (Roy; 1957; Iritani y Nishikawa, 1961).

Los valores para las variables de motilidad y el porcentaje de espermatozoides móviles disminuyen progresivamente conforme el semen fue manipulado desde el semen fresco, al refrigerado y congelado. Esto podría ser lo esperado ya que este tipo de proceso puede ser perjudicial para la ultraestructura, bioquímica y función del espermatozoide (Watson, 2000), resultando en una reducción en la motilidad, en la integridad de la membrana y en la capacidad fecundante (Purdy, 2006).

El segundo experimento que se llevó a cabo en machos fue para valorar el efecto del fotoperiodo y la melatonina en la calidad seminal y congelabilidad del semen de esta raza. Este estudio ha demostrado que dos meses de tratamiento con días cortos (DC) o melatonina (MEL) proporciona resultados similares en la calidad del semen fresco. Pero sin embargo, también revela que el tratamiento con melatonina no protege a los espermatozoides del macho cabrío de los daños causados durante la crioconservación.

Los resultados de motilidad del semen fresco están en línea con los del comportamiento sexual y sin observarse diferencias entre los tratamientos con melatonina y con días cortos. Sin embargo, la VSL (velocidad rectilínea), LIN (índice de linealidad) y STR (porcentaje de rectitud), y quizás de forma más importante el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva, se incrementaron durante el tratamiento con melatonina en comparación con el tratamiento de días largos. Estos resultados contrastan con los de Casao y cols. (2010c) aunque en moruecos. Estos últimos autores observaron un incremento en la motilidad progresiva y VCL (velocidad curvilínea), pero sólo en los espermatozoides rápidos de semen obtenido durante el anestro estacional en animales tratados con melatonina (comparado con los controles). Sin embargo, no observaron otro efecto del tratamiento con melatonina en ninguna otra variable de motilidad. En el presente experimento, todas las variables de motilidad excepto el WOB (índice de oscilación) en espermatozoides rápidos, y todas las variables de motilidad excepto VCL y VAP (velocidad media) en los espermatozoides de velocidad media, fueron más altas en el periodo de tratamiento con melatonina. La explicación para este hecho podría venir de las especies utilizadas o el diseño experimental; Casao y cols. (2010c) usaron machos distintos para cada grupo, pero en el presente estudio los mismos machos se usaron para ambos tratamientos. Tuli y Holtz (1995) también observaron un mayor porcentaje de espermatozoides móviles progresivos en machos de raza Boer durante la estación reproductiva que en el anestro estacional. Abdelwahab y cols. (2006), publicaron diferencias en la VAP y LIN asociadas a la estación, sus valores fueron más altos en primavera (parcialmente similar al tratamiento con días largos del presente estudio) que en otoño (parcialmente similar al tratamiento con melatonina o días cortos del actual trabajo). Sin embargo, en el trabajo actual, no se vieron diferencias en la VAP, y el efecto sobre la LIN fue opuesto al descrito por Abdelwahab y cols. (2006); lo que podría ser explicado porque ellos usaron un menor número de animales y registraron un número más bajo de eyaculados en cada estación. El aumento en la motilidad progresiva y en la mayoría de los otros valores de motilidad inducido por la melatonina o los días cortos quizás explique (al menos en parte) la mejora en las variables reproductivas publicadas por nuestro grupo en estudios anteriores con caprinos (Zarazaga y cols., 2012a, 2012b,

2013) (en estos estudios las hembras se cubrieron alrededor de 45 días tras la colocación de implantes de melatonina en los machos).

A pesar de los resultados mostrados, ni el tratamiento con melatonina (MEL) ni con días cortos (DC) mejoró la calidad del semen refrigerado o congelado-descongelado respecto a los valores registrados durante el tratamiento con días largos. Este resultado difiere de lo publicado en la literatura en moruecos (Succu y cols., 2011). Existen otras publicaciones que exponen un efecto beneficioso de la melatonina en términos de protección del espermatozoide de los diferentes tipos de daños por manipulación en ovino (Casao y cols., 2010b). Las razones para estos controvertidos resultados podrían ser varias y no mutuamente excluyentes. Por un lado, en el plasma seminal del carnero, se ha descrito la presencia de melatonina que podría mejorar la calidad espermática (Casao y cols., 2010a) y quizás también lo podría hacer en los machos cabríos si no fuera por el hecho de que el esperma caprino necesita ser lavado, lo cual podría eliminar la mayor parte de la melatonina presente al eliminarse el plasma seminal. Además, Succu y cols. (2011) usaron sólo los eyaculados de 3 machos, y es bien conocido que la congelabilidad del semen tiene una alta variabilidad individual.

No se observaron diferencias entre los tratamientos con melatonina y los días cortos respecto al comportamiento sexual o la calidad seminal, quedando indicado claramente que ambos tratamientos estimulan la actividad reproductiva en estos machos. Por lo tanto, la sucesión de días largos y días cortos se podría considerar como una vía efectiva para estimular la actividad reproductora de machos en explotaciones de tipo ecológico, donde no se permiten los tratamientos hormonales. No obstante, los valores de concentración espermática y de número total de espermatozoides por eyaculado fueron superiores durante el tratamiento con días largos (DL). Las variaciones anuales de estas variables han sido descritas en la literatura para diferentes razas caprinas (Karagiannidis y cols., 2000; Pérez y Mateos, 1996; Roca y cols., 1992; Zarazaga y cols., 2009b), con unas mayores concentraciones espermáticas durante la primavera-verano (equivalente a los días largos del presente experimento). Sin embargo, los últimos autores observaron un menor volumen de eyaculado y una mayor concentración, durante la estación no reproductiva que durante la estación reproductiva. En el experimento actual, se observó un mayor volumen de eyaculado

durante el tratamiento con DL en comparación con el tratamiento con MEL, probablemente debido al protocolo experimental utilizado, en el que los animales eran sometidos a cambios fotoperiódicos rápidos, que indujeron a que el efecto negativo provocado por los DL no fuera suficiente para reducir el volumen y el número total de espermatozoides por eyaculado.

La concentración de testosterona plasmática estuvo claramente asociada con el tratamiento al que los machos fueron sometidos. Se registraron altas concentraciones de testosterona durante los tratamientos con MEL y DC y bajas concentraciones en el tratamiento con DL. Esto ayuda a confirmar que el fotoperiodo es el principal factor medioambiental que controla la actividad reproductiva en los machos de raza Blanca Andaluza. Sin embargo, sólo se registraron pequeñas variaciones del tamaño testicular (TT) en los cambios de DL al tratamiento con DC/MEL. Este resultado es similar al descrito por Delgadillo y cols. (1991), sometiendo a los machos a dos meses de DC seguidos de dos meses de DL. Tal y como propuso Pelletier y cols. (1985) en moruecos, los tratamientos fotoperiódicos usados en el presente estudio causaron probablemente la estimulación (DC/MEL) e inhibición (DL) del eje hipotálamo-hipófisis. Sin embargo, el efecto inhibitor de los DL pudo no haber tenido el tiempo suficiente para mostrarse con el programa de cambios de fotoperiodo usado. En consecuencia, se mantuvo un mayor TT durante el fotoperiodo no estimulador de lo que podría ser visto con los cambios de fotoperiodo natural. La ausencia de variación en el TT indica una alta actividad espermatogénica en todos los tratamientos.

Finalmente, el porcentaje de machos que eyacularon fue muy alto incluso durante el tratamiento con DL; en efecto, no se observaron diferencias entre los tratamientos. Esto sugiere que el programa de cambios rápidos de fotoperiodo quizás haya enmascarado el efecto negativo esperado de los DL, tal y como se ha indicado previamente. Este resultado indica que los machos fueron sensibles al fotoperiodo de DL, tal y como muestran sus concentraciones de testosterona, pero la reducción en su libido fue muy baja ya que más del 80% de los machos eyacularon y fueron sexualmente activos durante el tratamiento con DL. Los valores obtenidos para estas variables son similares a los publicados por nuestro grupo en machos de raza Payoya en la misma latitud (Zarazaga y cols., 2009b). En este último experimento, las

diferencias entre la estación reproductiva y el anestro estacional del segundo año de estudio fueron también escasas.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En las condiciones en las que se han llevado a cabo los experimentos presentados en esta memoria utilizando caprinos de raza Blanca Andaluza, se puede concluir lo siguiente:

1. La pubertad fue alcanzada en su primer periodo de actividad reproductiva natural tras su nacimiento.
2. La condición corporal fue un factor determinante en el inicio de la pubertad de chivas de raza Blanca Andaluza, de tal forma que se inició más tempranamente ($56,5 \pm 5,3$ días antes) en los animales que tenían una mayor condición corporal ($\geq 2,75$), independientemente de su peso vivo.
3. En hembras caprinas de raza Blanca Andaluza, el momento del año (época de actividad reproductiva o época de anestro estacionario) en la que se lleve a cabo la sincronización con esponjas vaginales, pero no la condición corporal, modificó el momento de salida en celo, el momento del pico preovulatorio de LH y el momento de ovulación tras la retirada de la esponja, siendo éstos menores en hembras sincronizadas durante el anestro estacional.
4. Las cabras de raza Blanca Andaluza muestran un periodo de actividad reproductiva desde agosto hasta febrero-marzo dependiendo de la condición corporal y de su peso vivo, siendo la influencia de ambos sobre la estacionalidad reproductiva, completamente independientes.
5. Las hembras de raza Blanca Andaluza que tuvieron una condición corporal de al menos 2,75 puntos o un peso vivo superior a 40 kg mostraron un periodo de anestro estacional más corto.
6. El 11,7% de las cabras de raza Blanca Andaluza con una condición corporal $\geq 2,75$ presentaron actividad ovulatoria regular durante el anestro estacional.
7. La tasa de ovulación del primer y último celo de las cabras de raza Blanca Andaluza, detectados durante el periodo de actividad reproductiva, fue superior en las hembras que tenían un peso vivo superior a 40 kg.

8. Los machos de la raza caprina Blanca Andaluza presentan concentraciones de testosterona estacionales, siendo mayores sus concentraciones en verano y otoño (días decrecientes).
9. El comportamiento sexual no ha sido influenciado por el fotoperiodo natural.
10. En los machos de raza caprina Blanca Andaluza, la actividad reproductiva (medida a través de las concentraciones de testosterona) estuvo asociada al tratamiento al que fueron sometidos los animales, mostrando altas concentraciones durante el periodo de días cortos o tratamiento con melatonina exógena y bajas concentraciones durante el periodo de días largos.
11. El semen fresco de peor calidad se obtuvo en invierno, coincidiendo con las concentraciones de testosterona más bajas. Sin embargo, la calidad del semen congelado-descongelado fue mejor durante dicha estación.
12. La calidad del semen fresco de los machos de raza caprina Blanca Andaluza fue mejor cuando fueron tratados con melatonina exógena en comparación con el tratamiento con días cortos o con días largos.
13. La calidad del semen refrigerado o congelado-descongelado de los machos de raza caprina Blanca Andaluza no se vio modificada cuando fueron tratados con melatonina exógena o con días cortos en comparación con el tratamiento de días largos.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

In the conditions in which the experiments presented have been implemented using Blanca Andaluza goats, it can be concluded that:

1. Puberty was reached in their first natural breeding period after their birth.
2. The body condition score was a critical factor in the onset of puberty of Blanca Andaluza female kids, so that it was earlier (56.5 ± 5.3 days) in animals with higher body condition score (≥ 2.75), independently of their body weight.
3. In Blanca Andaluza female goats, the season in which synchronisation is performed by intravaginal sponges (breeding season or anoestrus period), but not body condition score, modified the time of oestrus, the moments of preovulatory LH surge and ovulation after sponge removal, presenting lower values in does synchronised during seasonal anoestrus.
4. Blanca Andaluza does show a period of reproductive activity from August to February-March depending on their BCS and BW, being the influence of both factors entirely independent.
5. The Blanca Andaluza female goats with a body condition score of at least 2.75 points or a live weight higher than 40 kg showed a shorter seasonal anoestrus.
6. The 11.7% of Blanca Andaluza does with a body condition ≥ 2.75 had regularly ovulatory activity during seasonal anoestrus.
7. The ovulation rate of the first and last oestrus detected during breeding season of Blanca Andaluza female goats, was higher in females who had a body weight up to 40 kg.
8. The Blanca Andaluza male goats showed a clear variation of testosterone concentrations, with higher values in summer and autumn (decreasing days) than spring and winter (increasing days).
9. Sexual behaviour has not been influenced by the natural photoperiod.
10. In Blanca Andaluza bucks, reproductive activity (measured by testosterone concentrations) was associated with the treatment to which the animals were

subjected showing high testosterone concentrations during the melatonin and short days treatments and low concentrations during the long days treatment.

11. The fresh semen of poorer quality was obtained in winter, coinciding with lower testosterone concentrations. However, the quality of frozen-thawed sperm was better during this season.
12. The fresh semen quality of Blanca Andaluza males was better when bucks were treated with exogenous melatonin compared to short days or long days treatments.
13. The quality of chilled or frozen-thawed semen of Blanca Andaluza male goats was not modified when they were treated with exogenous melatonin or short days compared to long days treatment.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelwahab D, Rivera MM, Rodríguez-Gil JE, Rigau T, 2006.** Seasonality affects on sperm motility kinematic parameters of Murciano-Granadina bucks. *Reproduction in Domestic Animals*, 41: 103-125.
- Adam CL, Findlay PA, Kyle CE, Young P, 1998.** Effect of restricted nutrition on timing of puberty in female Soay sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 112: 31-37.
- Ahmad N, Noakes DE, 1995.** Seasonal variations in testis size, libido and plasma testosterone concentrations in British goats. *Animal Science*, 61: 553-559.
- Almeida OFX, Lincoln GA, 1984.** Reproductive photorefractoriness in rams and accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion. *Biology of Reproduction*, 30: 143-158.
- Amoah EA, Gelaye S, Guthrie P, Rexroad Jr CE, 1999.** Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *Journal of Animal Science*, 74: 723-728.
- Amoss M, Burgus R, Blackwell R, Vale W, Fellows R, Guillemin R, 1971.** Purification, amino acid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 44: 205-210.
- Araki K, Arai KY, Watanabe G, Taya K, 2000.** Involvement of inhibin in the regulation of follicle-stimulating hormone secretion in the young adult male Shiba goat. *Journal of Andrology*, 21: 4.
- Archer ZA, Rhind SM, Findlay PA, Kyle CE, Thomas L, Marie M, Adam CL, 2002.** Contrasting effects of different levels of food intake and adiposity on LH secretion and hypothalamic gene expression in sheep. *Journal of Endocrinology*, 175: 383-393.
- Arendt J, 1986.** Role of the pineal gland in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, Clarendon Press, Oxford, 8: 266-320.
- Arendt J, 1998.** Melatonin and pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Review of Reproduction*, 3: 3-22.

- Arendt J, Symons AM, Laud CA, Pryde SJ, 1983.** Melatonin can induce early onset of the breeding season in ewes. *Journal of Endocrinology*, 97: 395-400.
- Argo CM, Smith JS, Kay RNB, 1999.** Seasonal changes of metabolism and appetite in Soay rams. *Animal Science*, 69: 191-202.
- Arroyo LJ, Gallegos-Sánchez J, Villa-Godoy A, Berruecos JM, Perera G, Valencia J, 2007.** Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*, 102: 24-30.
- Avidi M, Vergos V, Alifakiotis T, Michailidis J, Driancourt MA, Chemineau P, 1988.** Seasonal variations of oestrus behaviour and ovulation rate in Chios and Serres ewes in Greece. En: *Resúmenes del 3^{er} World Congress on Sheep and Beef Cattle Breeding*, París (Francia); págs. 647-649.
- Baird DT, Scaramuzzi RJ, 1976.** Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary luteinizing hormone in the peri-ovulatory period in the ewe: the effect of progesterone. *Journal of Endocrinology*, 70: 237-245.
- Baril G, Vallet JC, 1990.** Time of ovulations in dairy goats induced to superovulate with porcine follicle stimulating hormone during and out of the breeding season. *Theriogenology*, 34: 303-311.
- Baril G, Chemineau P, Cognié Y, Guérin Y, Leboeuf B, Orgeur P, Vallet JC, 1993.** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO (Ed.). *Production et Santé Animales*, 83: 219-231.
- Barkawi AH, Elsayed EH, Ashour G, Shehata E, 2006.** Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, 66: 209-213.
- Barker CA, 1957.** Some aspects of artificial insemination in swine and goats. En: *Resúmenes del 10^o Annual Convention of the National Association of Artificial Breeders*, Toronto, págs. 127-132.

- Barrell GK, Lapwood KR, 1978/79.** Seasonality of semen production and plasma LH, testosterone and PRL levels in Romney, Merino and Polled Dorset rams. *Animal Reproduction Science*, 1: 213-228.
- Barrell GK, Moenter SM, Caraty A, Karsch FJ, 1992.** Seasonal changes of gonadotropin releasing hormone secretion in the ewe. *Biology of Reproduction*, 46: 1130-1135.
- Bartness TM, Goldman BD, 1989.** Mammalian pineal melatonin: a clock for all seasons. *Experimentia*, 45: 939-945.
- Beach FA, 1976.** Sexual Attractivity, Proceptivity, and Receptivity in Female Mammals. *Hormones and Behavior*, 7: 105-138.
- Beers WH, Strickland S, 1978.** A cell culture assay for follicle-stimulating hormone. *Journal of Biological Chemistry*, 253: 3877-3881.
- Birch EJ, Knight TW, Shaw GJ, 1989.** Separation of male goat pheromones responsible for stimulating ovulatory activity in ewes. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 32: 337-341.
- Bittman EL, 1978.** Hamster refractoriness: the role of insensitivity of pineal target tissues. *Science*, 202: 648-650.
- Bittman EL, Dempsey RJ, Karch FJ, 1983a.** Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. *Endocrinology*, 113: 2276-83.
- Bittman EL, Karsch FJ, Hopkins JW, 1983b.** Role of pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. *Endocrinology*, 113: 29-336.
- Boletín Oficial del Estado (BOE), 2013.** Real Decreto 53/2013, del 1 de febrero, sobre la política de protección animal de los animales usados en experimentación. *Boletín Oficial del Estado* 34, págs. 11370-11421.
- Bondurant RH, Darien BJ, Munro CJ, Stabendfeldt GH, Wang P, 1981.** Photoperiod induction of fertile oestrus and changes in LH and progesterone concentration

- in yearling dairy goats (*Capra hircus*). Journal of Reproduction and Fertility, 63: 1-9.
- Bono G, Cairoli F, Tamanini C, Abrate L, 1983.** Progesterone, estrogen, LH, FSH and PRL concentrations in plasma during estrous cycle in goat. Reproduction Nutrition Development, 23: 217-222.
- Boue P, Corteel JM, 1992.** Aptitude of male goat sperm to withstand freezing: Combined effects of season and time of sexual rest between two successive collections. En: Recent Advances in Goat Production. RR Lokeshwar (Ed.). Nutan Printers, New Delhi, India, págs. 1140-1143.
- Bousfield GR, Jia L, Ward DN, 2006.** Gonadotropins: Chemistry and Biosynthesis. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 3ª edición, Jimmy D. Neill (Ed.), Editorial Elsevier.
- Cabrera F, González F, Batista M, Calero P, Medrano A, Gracia A, 2005.** The effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of Canary buck (*Capra hircus*). Reproduction in Domestic Animals, 40: 191-195.
- Canedo G, Malpoux B, Delgadillo JA, 1996.** Seasonal variations in testicular weight in Creole male goats in subtropical conditions (Northern Mexico). En: Resúmenes del VI International Conference on Goats, vol. 2, Beijing, China, 6-11 May.
- Carrera C, Butterworth MH, 1968.** Preliminary study on the oestrous cycle length in goats. En: Resúmenes del II World Conference on Animal Production, pág. 368.
- Casao A, Cebrián I, Asumpção ME, Pérez-Pé R, Abecia JA, Forcada F, Cebrián-Pérez JA, Muiño-Blanco T, 2010a.** Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. Reproductive Biology and Endocrinology, 8: 59.
- Casao A, Mendoza N, Perez-Pe R, Grasa P, Abecia JA, Forcada F, Cebrian-Perez JA, Muiño-Blanco T, 2010b.** Melatonin prevents capacitation and apoptotic-like changes of ram spermatozoa and increases fertility rate. Journal of Pineal Research, 48: 39-46.

- Casao A, Vega S, Palacin I, Pérez-Pe R, Laviña A, Quintín FJ, Sevilla E, Abecia JA, Cebrián-Pérez JA, Forcada F, Muiño-Blanco T, 2010c.** Effects of melatonin implants during non-breeding season on sperm motility and reproductive parameters in Rasa Aragonesa rams. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 425-432.
- Chadio S, Pazalos A, Kotsampasi B, Kalogiannis D, Deligeorgis S, Menegatos I, 2011.** Metabolic hormones during the preripubertal period in sheep. En: *Resúmenes del 9º International Conference on Animals Physiology*, Manor-house Mojmirovce, Nitra, Eslovaquia, págs. 92-106.
- Chemineau P, 1986.** Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat, II-male mating behaviour, testis diameter, ejaculate characteristics and fertility. *Reproduction Nutrition Development*, 26: 453.
- Chemineau P, Delgadillo JA, 1994.** Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins. *INRA Productions Animales*, 7: 315-326.
- Chemineau P, Martin GB, Saumande J, Normant E, 1988a.** Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 83: 91-98.
- Chemineau P, Pelletier J, Guérin Y, Colas G, Ravault JP, Touré G, Almeida G, Thimonier J, Ortavant R, 1988b.** Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reproduction Nutrition Development*, 28: 409-422.
- Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA, 1992a.** 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, Malpoux B, Delgadillo JA, Guérin Y, Ravault JP, Thimonier J, Pelletier J, 1992b.** Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*, 30: 157-184.
- Chemineau P, Malpoux B, Delgadillo J A, Guerin Y, Ravault J P, Thimonier J, Pelletier J 1992c.** *Animal Reproduction Science* 30, 157-184. En: Chemineau P, Baril G,

Leboeuf B, Maurel M C and Cognie Y, 1996. Recent advances in the control of goat reproduction. VI International Conference on goats, 2: 6-11, Mayo 1996, Beijing, China. Págs. 776-784

Chemineau P, Malpaux B, Guérin Y, Maurice F, Daveau A, Pelletier J, 1992d. Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins. Annales de Zootechnie, 41: 247-261.

Chemineau P, Malpaux B, Pelletier J, Leboeuf B, Delgadillo JA, Deletang F, Pobel T, Brice G, 1996. Use of melatonin implants and photoperiodic treatments to control seasonal reproduction in sheep and goats. INRA Productions Animales, 9: 45-60.

Chemineau P, Malpaux B, Delgadillo JA, 1998. Photopériodisme et reproduction chez les caprins. Coloquio "Reproduction caprine: nouveaux contextes, derniers acquis", Niort 30 abril, Chambre d'Agriculture des Deux Sèvres, C1, pag. 21.

Chemineau P, Baril G, Leboeuf B, Maurel MC, Roy F, Pellicer-Rubio M, Malpaux B, Cognie Y, 1999. Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. Journal of Reproduction and Fertility, 54: 129-142.

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, Guillaume D, Migaud M, Thiéry JC, Pellicer-Rubio MT, Malpaux B, 2008. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. Reproduction in Domestic Animals, 43: 40-47.

Chemineau P, Bodin L, Migaud M, Thiéry JC, Malpaux B, 2010. Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. Reproduction in Domestic Animals, 45: 42-49.

Chentouf M, Bister JL, Boulanouarc B, 2011. Reproduction characteristics of North Moroccan indigenous goats. Small Ruminant Research, 98: 185-188.

- Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, Weigle DS, Clifton DK, Steiner RA, 1997.** Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female. *Endocrinology*, 138: 855-858.
- Clarke IJ, 1987.** GnRH and ovarian hormone feedback. *Oxford Reviews of Reproduction Biology*, 9: 54-95.
- Clarke IJ, 1995a.** Evidence that the switch from negative to positive feedback at the level of the pituitary gland is an important timing event for the onset of the preovulatory surge in LH in the ewe. *Journal of Endocrinology*, 145: 271-282.
- Clarke IJ, 1995b.** The preovulatory LH surge. A case of a neuroendocrine switch. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 6: 241-247.
- Clarke IJ, 1996.** The hypothalamo-pituitary axis. En: *Scientific Essentials of Reproductive Medicine*. Hillier SG, Kitchener HC, Neilsen JP, (Eds.). W.B. Saunders Co. Ltd., UK, págs. 120-132.
- Clarke IJ, Pompolo S, 2005.** Synthesis and secretion of GnRH. *Animal Reproduction Science*, 88: 29-55
- Clarke IJ, Thomas GB, Yao B, Cummins JT, 1987.** GnRH secretion throughout the ovine estrous cycle. *Neuroendocrinology*, 46: 82-88.
- 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.
- Combarous Y, 1992.** Molecular basis of the specificity of binding of glycoprotein hormones to their receptors. *Endocrine Reviews*, 13: 670-691.
- Corteel JM, 1974.** Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma seminal: effet du glucose. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 14: 741-745.
- Corteel JM, Baril G, Leboeuf B, Marcellier N, 1978.** Voies disponibles pour augmenter l'utilisation des meilleurs boucs. En: 4^e jornadas de la Recherche Ovine et Caprine. INRA-ITOVIC, París, págs. 358-366.

- Diario oficial de la Unión Europea, 2010.** Directiva 2010/63 del 22 septiembre de 2010, relativa a la protección e animales para fines científicos, 276: 73-79.
- Cunningham JG, 2003.** El sistema endocrino. Fisiología Veterinaria, 3ª edición. Editorial Elsevier. Pág. 331
- D'Alessandro AG, Martemucci G, 2003.** Evaluation of seasonal variations of semen freezability in Lecce ram. *Animal Reproduction Science*, 79: 93-102.
- Dagg AI, 1984.** Homosexual behaviour and female-male mounting in mammals -a first survey. *Mammal Review*, 14: 155-185.
- Daramola JO, Adeloye AA, Soladoye AO, 2006.** Effect of exogenous melatonin on sexual behaviours in West African Dwarf goat. *Livestock Research for Rural Development*, 18: 133.
- De Kretser DM, Meinhardt A, Meehan T, Phillips DJ, O'Bryan MK, Loveland KA, 2000.** The roles of inhibin and related peptides in gonadal function. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 161: 43-46.
- De Santiago-Miramontes MA, Malpoux B, Delgadillo JA, 2009.** Body condition is associated with a shorter breeding season and reduced ovulation rate in subtropical goats. *Animal Reproduction Science*, 114: 175-182.
- Delgadillo JA, 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 JA, Leboeuf B, Chemineau P, 1991.** Decrease in the seasonality of sexual behavior and total spermatozoa in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology*, 36: 755-770.
- Delgadillo JA, 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 JA, Lebouf B, Chemineau P, 1993.** Maintenance of sperm production in bucks during a third year of short photoperiodic cycles. *Reproduction Nutrition Development*, 33: 609-617.
- Delgadillo JA, Hochereau-de Reviers MT, Daveau A, Chemineau P, 1995.** Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*Capra hircus*). *Reproduction Nutrition Development*, 35: 549-558.
- Delgadillo JA, Canedo GA, 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 JA, Carrillo E, Morán J, Duarte G, Chemineau P, Malpaux B, 2001.** Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *Journal of Animal Science*, 79: 2245-2252.
- Delgadillo JA, Cortez ME, Duarte G, Chemineau P, Malpaux B, 2004a.** Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. *Reproduction Nutrition Development*, 44: 183-193.
- Delgadillo JA, Fitz-González G, Duarte G, Véliz FG, Carrillo E, Flores JA, Vielma J, Hernández H, Malpaux B, 2004b.** Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reproduction, Fertility and Development*, 16: 471-478.
- Delgadillo JA, De Santiago-Miramontes MA, Carrillo E, 2007.** Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *Animal*, 1: 858-864.
- Devendra C, Burns M, 1970.** *Goat Production in the Tropics*. Commonwealth Bureau of Animal Breeding and Genetics.
- Deveson S, Forsyth IA, Arendt J, 1992.** Retardation of pubertal development by prenatal long days in goat kids born in autumn. *Journal of Reproduction and Fertility*, 95: 629-637.

- Dorado J, Muñoz-Serrano A, Hidalgo M, 2010.** The effect of cryopreservation on goat semen characteristics related to sperm freezability. *Animal Reproduction Science*, 121: 115-123.
- Driancourt MA, 2001.** Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55: 1211-39.
- Duarte G, Nava MP, Malpaux B, Delgadillo JA, 2010.** Ovulatory activity of female goats adapted to the subtropics is responsive to photoperiod. *Animal Reproduction Science*, 120: 65-70.
- Dufour JJ, Fahmy MH, Minvielle F, 1984.** Seasonal changes in breeding scivity, testicular size, testosterone concentration and seminal characteristics in rams with long or short breeding season. *Journal of Animal Science*, 58: 416-422.
- Ebling JFP, 2005.** The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction*, 129: 675-683.
- Ebling FJP, Foster DL, 1989.** Pineal melatonin rhythms and the timing of puberty in mammals. *Experientia*, 45: 946-955.
- Ebling FJP, Lincoln GA, Wollnik F, Anderson N, 1988.** Effects of constant darkness and constant light on circadian organization and reproductive responses in the ram. *Journal of Biological Rhythms*, 3: 365-384.
- Evans AC, 2003.** Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals*, 38: 240-246.
- Fabre-Nys C, Gelez H, 2007.** Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. *Hormones and Behavior*, 52: 18–25.
- Fatet A, Pellicer-Rubio MT, Leboeuf B, 2011.** Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*, 124: 211-9.
- Fiser PS, Fairfull RW, 1983.** Effects of changes in photoperiod on freezability of ram spermatozoa. *Cryobiology*, 20: 684-9.
- Forcada F, Abecia JA, Sierra I, 1992.** Seasonal changes in oestrus activity and ovulation rate in Rasa Aragonesa ewes maintained in two different body condition levels. *Small Ruminant Research*, 8: 313-324.

- Foster DL, 1981.** Mechanism for delay of first ovulation in lambs born in the wrong season (Fall). *Biology of Reproduction*, 25: 85-92.
- Foster DL, 1983.** Photoperiod and sexual maturation of the female lamb: early exposure to short-days perturbs estradiol negative feedback inhibition of LH secretion and produces abnormal ovarian cycles. *Endocrinology*, 112: 11-17.
- Foster DL, 1984.** Preovulatory gonadotropin surge system of prepubertal female sheep is exquisitely sensitive to the stimulatory feedback action of estradiol. *Endocrinology*, 115: 1186-1189.
- Foster DL, 1994.** Puberty in the sheep. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E, Neil JD (Eds.), Raven Press, Ltd., New York, págs. 411-447.
- Foster DL, Ryan KD, 1979.** Endocrine mechanisms governing transition into adulthood: a marked decrease in inhibitory feedback action of estradiol on tonic secretion of luteinizing hormone in the lamb during puberty. *Endocrinology*, 105: 896-904.
- Foster DL, Ryan KD, 1981.** Endocrine mechanisms governing transition into adulthood in female sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 30: 75-90.
- Foster DL, Olster DH, 1985.** Effect of restricted nutrition on puberty in the lamb: patterns of tonic luteinizing hormone (LH) secretion and competency of the LH surge system. *Endocrinology*, 116: 375-381.
- Foster DL, Nagatani S, 1999.** Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biology of Reproduction*, 60: 205-215.
- Foster DL, Jackson LM, 2006.** Puberty in sheep. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E, Neill JD (Eds.), 3ª edición. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, USA, págs. 2127-2176.
- Foster DL, Yellon SM, Olster DH, 1985.** Internal and external determinants of the timing of puberty in the female. *Journal of Reproduction and Fertility*, 75: 327-344.

- Foster DL, Karsch FJ, Olster DH, Ryan KD, Yellon SM, 1986.** Determinants of puberty in a seasonal breeder. *Recent Progress in Hormone Research*, 42: 330-379.
- Foster DL, Ebling FJP, Claypool LE, Wood RL, Adel TE, Schraman W, 1989a.** Amplitude modulation of the nightly melatonin rise in the neonatal lamb and the subsequent timing of puberty. *Biology of Reproduction*, 40: 920-928.
- Foster DL, Ebling FJP, Micka AF, Vannerson LA, Bucholtz DC, Wood RI, Suttie JM, Fenner DE, 1989b.** Metabolic interfaces between growth and reproduction. I. Nutritional modulation of gonadotropins, prolactin and growth hormone secretion in the growth-limited female lamb. *Endocrinology*, 125: 342-350.
- Freitas VJF, Baril G, Bosc M, Saumande J, 1996.** The influence of ovarian status on response to estrus synchronization treatment in dairy goats during the breeding season. *Theriogenology*, 45: 1561-1567.
- Freitas VJF, Lopes-Junior ES, Rondita D, Salmito-Vanderley CSB, Salles HO, Simplicio AA, Baril G, Saumande J, 2004.** Puberty in Anglo-Nubian and Saanen female kids raised in the semi-arid of North-eastern Brazil. *Small Ruminant Research*, 53: 167-172.
- Freitas-de-Melo A, Lacuesta L, Ungerfeld R, 2014.** Homosexual behavior in male ruminants: a review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5: 91-106.
- Frisch RE, 1988.** Fatness and fertility. *Scientific American*, 258: 88-95.
- Gallego-Calvo L, Gatica MC, Guzmán JL, Zarazaga LA, 2014.** Role of body condition score and body weight in the control of seasonal reproduction in Blanca Andaluza goats. *Animal Reproduction Science*, 151: 157-163.
- Gallego-Calvo L, Gatica MC, Santiago-Moreno J, Guzmán JL, Zarazaga LA, 2015.** Exogenous melatonin does not improve the freezability of Blanca Andaluza goat semen over exposure to two months of short days. *Animal Reproduction Science*, 156: 51-57.
- Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Micheo JM, Sánchez A, González-Bulnes A, López-Sebastián A, 2003.** Variación anual de la actividad ovulatoria en la cabra

de raza Malagueña. En: Resúmenes del XXVIII Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 24-27 Septiembre, Badajoz (España), 28: 178-180.

Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Toledano Díaz A, López-Sebastián A, 2010.

Evidence that refractoriness to long and short daylengths regulates seasonal reproductive transitions in Mediterranean goats. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 338-343.

Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Toledano-Díaz A, López-Sebastián A, 2012.

Reproductive seasonality and its control in spanish sheep and goats. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15: 47-70.

Gonzalez R, Orgeur P, Poindron P, Signoret JP, 1989.

Seasonal variation in LH and testosterone responses of rams following the introduction of oestrous ewes. *Animal Reproduction Science*, 21: 249-259.

Goodman RL, 1994.

Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E, Neill JD (Eds.), Raven Press, New York. 2ª edición, vol. 2, págs. 659-709.

Goodman RL, Karsch FJ, 1981.

The hypothalamic pulse generator: a key determinant of reproductive cycles in the sheep. En: *Biological Clocks in Seasonal Reproductive Cycles*. Follet BK, Follet DE (Eds.). Wright, Bristol, págs. 223-226.

Goodman RL, Reichert LE Jr, Legan SJ, Ryan KD, Foster DL, Karsch FJ, 1981.

Role of gonadotropins and progesterone in determining the preovulatory estradiol rise in the ewe. *Biology of Reproduction*, 25: 134-142.

Gordon I, 1975.

Controlled breeding in farm animals. (Pergamon Press, Oxford, New York, Sydney).

Greyling JPC, Van Niekerk CH, 1990.

Puberty and the induction of puberty in female Boer goat kids. *South African Journal of Animal Sciences*, 20: 193-200.

- Gupta PSP, Sanwal PC, Varshney VP, 1992.** Circadian changes in testosterone levels in Black Bengal bucks. En: Resúmenes del V International Conference on Goats. Marzo, New Delhi, India, Resumen 269.
- Hafez ESE, 1952.** Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. Journal of Agricultural Science, 42: 189-265.
- Hamada T, Shimizu T, Ichikawa M, Mori Y, 1992.** Immunohistochemical study on gonadotropin-releasing hormone neurons in the Shiba goat brain. Journal of Reproduction and Development, 38: 133-142.
- Hamilton WJ, Harrison RJ, 1951.** Cyclical changes in the uterine mucosa and vagina of the goat. Journal of Anatomy, 85: 316-324.2.
- Hammerstedt RH, Graham JK, Nolan JP, 1990.** Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. Journal of Andrology, 11: 73-88.
- Henniawati, Fletcher IC, 1986.** Reproduction in Indonesian sheep and goats at two levels of nutrition. Animal Reproduction Science, 12: 77-84.
- Hill RW, Wyse GA, 2006.** Fisiología Animal. Editorial Panamericana. Págs. 468-471
- Hillbrick GC, Tucker DJ, 1996.** Effect of nutrition on lipid production and composition of cashmere buck fleece. Small Ruminant Research, 22: 225-230.
- Holeckova J, Bartos L, Tomanek M, 2000.** Inter-male mounting in fallow deer (*Dama dama*) -its seasonal pattern and social meaning. Folia Zoologica, 49: 175-181.
- Holt WV, 2000.** Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. Theriogenology, 53: 47-58.
- Howles CM, Craigon J, Haynes NB, 1982.** Long-term rhythms of testicular volume and plasma prolactin concentrations in rams reared for 3 years in constant photoperiod. Journal of Reproduction and Fertility, 65: 439-446.
- Hsueh AJW, Adashi EY, Jones PBC, Welsh TH, 1984.** Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells. Endocrine Reviews, 5: 76-127.

- Huffman LJ, Inskeep EK, Goodman RL, 1987.** Changes in episodic luteinizing hormone secretion leading to puberty in the lamb. *Biology of Reproduction*, 37: 755-761.
- l'Anson H, Quint EH, Wood RI, England BB, Foster D, 1994.** Adrenal axis and hypogonadotropism in the growth-restricted female lamb. *Biology of Reproduction*, 50: 137-143.
- l'Anson H, Terry SK, Lehman MN, Foster DL, 1997.** Regional differences in the distribution of gonadotropin-releasing hormone cells between rapidly growing and growth-restricted prepubertal female sheep. *Endocrinology*, 138: 230-236.
- Imakawa K, Day ML, Salesky DD, Clutter A, Kittok RJ, Kinder JE, 1987.** Effects of 17 beta-estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 64: 805-815.
- Iritani A, Nishikawa, 1961.** Studies on the egg yolk coagulating factors in goat semen: II properties of the coagulating factor and influential conditions for coagulation. *Proc. Silver Jubilee Laboratory of Animal Husbandry, Universidad de Kyoto (Japón)*, págs. 97-104.
- Islam ABMM, Land RB, 1977.** Seasonal variation in testis diameter and sperm output of rams of breeds of different prolificacy. *Animal Production*, 25: 311-317.
- Janett F, Thun R, Niederer K, Burger D, Hässig M, 2003.** Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. *Theriogenology*, 60: 453-61.
- Jenkinson DM, Blackburn PS, Proudfoot R, 1967.** Seasonal changes in the skin glands of the goat. *British Veterinary Journal*, 123: 541-549.
- Karagiannidis A, Varsakeli S, Karatzas G, 2000.** Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goats bucks born raised in Greece. *Theriogenology*, 53: 1285-1293.
- Karsch FJ, Legan SJ, Hauger RL, Foster DL, 1977.** Negative feedback action of progesterone on tonic luteinizing hormone secretion in the ewe: Dependence on the ovaries. *Endocrinology*, 101: 800-806.

- Karsch FJ, Legan SJ, Ryan KD, Foster DL, 1978.** The feedback effects of ovarian steroids on gonadotrophin secretion, En: Control of Ovulation. Crichton BD, Haynes NB, Foxcroft GR y Lamming GE (Eds.). Butterworths, Londres, págs. 29-48.
- Karsch FJ, Foster DL, Legan SJ, Ryan KD, Peter GK, 1979.** Control of the preovulatory endocrine events in the ewe: interrelationship of estradiol, progesterone, and luteinizing hormone. *Endocrinology*, 105: 421-426.
- Karsch FJ, Legan SJ, Ryan KD, Foster DL, 1980.** Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behavior during the sheep estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 23: 404-413.
- Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE, 1984.** Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormone Research*, 40: 185-232.
- Karsch FJ, Bittman EL, Robinson JE, Yellon SM, Wayne NL, Olster DH, Kaynard AH, 1986.** Melatonin and photorefractoriness: loss of response to the melatonin signal leads to seasonal reproductive transitions in the ewe. *Biology of Reproduction*, 34: 265-274.
- Karsch FJ, Robinson JE, Woodfill CJ, Brown MB, 1989.** Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod: Evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biology of Reproduction*, 41: 1034-1046.
- Katz LS, McDonald TJ, 1992.** Sexual behavior of farm animals. *Theriogenology*, 38: 239-53.
- Kaya A, Yildiz C, Lehimcioglu NC, Ergin A, Aksoy M, 1999.** Seasonal variation in sperm quality, testicular size and plasma testosterone concentrations in Konya Merino rams. *Hayvancilik Arastirma Dergisi*, 9: 1-5.
- Kaya A, Aksoy M, Baspınar N, Yıldız C, Ataman MB, 2001.** Effect of melatonin implantation to sperm donor rams on post-thaw viability and acrosomal integrity of sperm cells in the breeding and non-breeding season. *Reproduction in Domestic Animals*, 36: 211-215.

- Keisler DH, Inskeep EK, Dailey RA, 1983.** First luteal tissue in ewe lambs: influence on subsequent ovarian activity and response to hysterectomy. *Journal of Animal Science*, 57: 150-156.
- Kennaway DJ, Hooley RD, Seamark RF, 1980.** Effects of melatonin feeding on serum prolactin content and the onset of oestrous activity in goats. *Australian Society for Reproductive Biology*, resumen 12.
- Kennaway DJ, Gilmore TA, Seamark RF, 1982.** Effect of melatonin feeding on serum prolactin and gonadotropin levels and the onset of seasonal oestrus cyclicity in sheep. *Endocrinology*, 110: 1766-1772.
- Kile JP, Alexander BM, Moss GE, Hallford DM, Nett TM, 1991.** Gonadotropin-releasing hormone overrides the negative effect of reduced dietary energy on gonadotropin synthesis and secretion in ewes. *Endocrinology* 128: 843-849.
- Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, Yamada S, Inoue K, Ohtaki T, Matsumoto H, Maeda KI, 2005.** Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology*, 146: 4431-4436.
- Klemm WR, Sherry CJ, Schake LM, Sis RF, 1983.** Homosexual behavior in feedlot steers: an aggression hypothesis. *Applied Animal Ethology*, 11: 187-195.
- Knight TW, Lynch PR, 1980.** The pheromones from rams that stimulate ovulation in the ewe. *Resúmenes Australian Society of Animal Production*, 13: 74-76.
- Koonjaenak S, Pongpeng P, Wirojwuthikul S, Johannisson A, Kunavongkrit A, Rodriguez-Martinez H, 2007.** Seasonality affects post-thaw plasma membrane intactness and sperm velocities in spermatozoa from Thai AI swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, 67: 1424-35.
- Land RB, 1978.** Reproduction in young sheep: some genetic and environmental sources of variation. *Journal of Reproduction and Fertility*, 52: 427-436.
- Leboeuf B, Restall B, Salamon S, 2000.** Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 62: 113–141.

- Leboeuf B, Forgerit Y, Bernelas D, Pougard JL, Senty E, Driancourt MA, 2003.** Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. *Theriogenology*, 60: 1371-1378.
- Lehman MN, Karsch FJ, 1993.** Do gonadotropin-releasing hormone, tyrosine hydroxylase, and beta-endorphin-immunoreactive neurons contain estrogen receptors? A double-label immunocytochemical study in the Suffolk ewe. *Endocrinology*, 133: 887-895.
- Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W, 1958.** Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of Animal Chemistry Society*, 80: 2587-2587.
- Lincoln GA, 1988.** Regulation of LH and FSH secretion in the ram. En: Resúmenes del 11º International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, 26-30 Junio, Dublin, Irlanda, págs. 10-17.
- Lincoln GA, Peet MJ, 1977.** Photoperiodic control of gonadotrophin secretion in the ram: a detailed study of the temporal changes in plasma levels of FSH, LH and Testosterone following an abrupt switch from long to short days. *Journal of Endocrinology*, 74: 355-367.
- Lincoln GA, Short RV, 1980.** Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Progress in Hormone Research*, 36: 1-52.
- Lincoln GA, Johnston JD, Andersson H, Wagner G, Hazlerigg DG, 2005.** Photorefractoriness in Mammals: Dissociating a Seasonal Timer from the Circadian-Based Photoperiod Response. *Endocrinology*, 146: 3782-3790.
- Lindsay DR, 1991.** **Reproduction in the sheep and goat.** En: *Reproduction in Domestic Animals*. Cupps. PT (Ed.), 4ª edición, Academic Press: San Diego, págs. 491-515.
- Lindsay DR, 1996.** Environment and reproductive behaviour. *Animal Reproduction Science*, 42: 1-12.

- Loubser PG, Van Niekerk CH, 1983.** Seasonal changes in sexual activity and semen quality in the Angora ram. 2. Semen volume, quality and freezability. *South African Journal of Animal Science*, 13: 161-163.
- Malpaux B, Robinson JE, Brown MB, Karsch FJ, 1987.** Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. *Biology of Reproduction*, 36: 1333-1341.
- Malpaux B, Moenter SM, Wayne NL, Woodfill CJ, Karsch FJ, 1988.** Reproductive refractoriness of the ewe to inhibitory photoperiod is not caused by alteration of the circadian secretion of melatonin. *Neuroendocrinology*, 48: 264-270.
- Malpaux B, Robinson JE, Wayne NL, Karsch FJ, 1989.** Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *Journal of Endocrinology*, 122: 269-278.
- Malpaux B, Vigiúé C, Skinner DC, Thiery JC, Chemineau P, 1997.** Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin*, 44: 431-438.
- Mann GE, McNeilly AS, Baird DT, 1992.** Hormone production in vivo and in vitro from follicles at different stages of estrous cycle in sheep. *Journal of Endocrinology*, 132: 225-234.
- Martin GB, Walkden-Brown SW, Boukhliq R, Tjondronegoro S, Miller DW, Fisher JS, Hötzel MJ, Restall BJ, Adams NR, 1994.** Non-photoperiodic inputs into seasonal breeding in male ruminants *Canadian Journal of Zoology*, En: *Perspectives in Comparative Endocrinology*. Davey KG, Peter RE, Tobe SS (Eds.), Editorial: National Research Council of Canada, Ottawa, págs.: 574-585.
- Martin GB, Hötzel MJ, Blache D, Walkden-Brown SW, Blackberry MA, Boukhliq R, Fisher JS, Miller DW, 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.

- Mascarenhas R, Simoes A, Robalo J, 1995.** Cyclic reproductive activity and efficiency of reproduction in Serrana goats. *Animal Reproduction Science*, 38: 223-229.
- Matsuo H, Baba Y, Nair RM, Arimura A, Schally AV, 1971.** Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 43: 1334-1339.
- Mazur P, 1984.** Freezing of living cells: mechanisms and implications. *American Journal of Physiology*, 247: 125-142.
- McNatty KP, Gibb M, Dobson C, Thurley DC, 1981.** Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. *Journal of endocrinology*, 90: 375-389.
- McNeilly AS, O'Connell M, Baird DT, 1982.** Induction of ovulation and normal luteal function by pulsed injections of luteinizing hormone in anoestrous ewes. *Endocrinology*, 110: 1292-1299.
- Medan MS, Watanabe G, Sasaki K, Sharawy S, Groome NP, Taya K, 2003.** Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. *Biology of Reproduction*, 69: 57-63.
- Medan MS, Watanabe G, Sasaki K, Groome NP, Sharawy S, Taya K, 2005.** Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. *Journal of Reproduction and Development*, 51: 455-63.
- Medan MS, Watanabe G, Nagura Y, Fujita M, Taya K, 2006.** Effect of active immunization against inhibin on hormonal concentrations and semen characteristics in Shiba bucks. *Theriogenology*, 65: 691-702.
- Mellado M, Foote RH, Gomez A, 1991.** Reproductive efficiency of Nubian goats throughout the year in northern Mexico. *Small Ruminant Research*, 6: 151-157.
- Meque LC, 2004.** Diseño de un diluyente de refrigeración seminal en la especie ovina. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.

- Merry BJ, Holehan AM, 1979.** Onset of puberty and duration of fertility in rats fed a restricted diet. *Journal of Reproduction and Fertility*, 57: 253-259.
- Messenger S, Chatzidaki EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Thresher RR, Malinge I, Lomet D, Carlton MB, Colledge WH, Caraty A, Aparicio SA, 2005.** Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Resúmenes de la National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 1761-1766.
- Meza-Herrera CA, Hallford DM, Ortiz JA, Cuevas RA, Sanchez JM, Salinas H, Mellado M, Gonzalez-Bulnes A, 2008.** Body condition and protein supplementation positively affect periovulatory ovarian activity by non LH-mediated pathways in goats. *Animal Reproduction Science*, 106: 412-420.
- Moenter SM, Caraty A, Locatelli A, Karsch FJ, 1991.** Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge. *Endocrinology*, 129: 1175-1182.
- Morali G, Beyer C, 1979.** Neuroendocrine control of mammalian estrous behavior. En: *Endocrine Control of Sexual Behavior*. Beyer C (Ed.). Raven Press, New York, págs. 33-75.
- Mori Y, Nishihara M, Tanaka T, Shimizu T, Yamaguchi M, Takeuchi Y, Hoshino K, 1991.** Chronic recording of electrophysiological manifestation of the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the goat. *Neuroendocrinology*, 53: 392-395.
- Muduuli DS, Sanford LM, Palmer WM, Howland BE, 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.
- Muhuyi EZ, Drobnis EZ, Nelxon EA, Lin TY, 1992.** Season, breed and age influence on production and freezability of dairy goat semen. En: *Resúmenes de la 3ª International conference on Goat Production and Disease*, Tucson, Arizona, USA. pág. 283.

- Nowak R, Rodway RG, 1985.** Effect of intravaginal implants of melatonin on the onset of ovarian activity in adult and prepubertal ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 74: 287-294.
- Okamura H, Ohkura S, 2007.** Neuroendocrine control of reproductive function in ruminants. *Animal Science Journal*, 78: 105-111.
- Oldham CM, Lindsay DR, Martin GB, 1990.** Effects of seasonal variation of live weight on the breeding activity of Merino ewes. En: *Reproductive Physiology of Merino Sheep. Concepts and Consequences*. University of Western Australia, págs. 41-57.
- Olster DH, Foster DL, 1986.** Control of gonadotropin secretion in the male during puberty: a decrease in response to steroid inhibitory feedback in the absence of an increase in steroid-independent drive in the sheep. *Endocrinology*, 118: 2225-2234.
- Ortavant R, Pelletier J, Ravault JP, Thimonier J, Volland-Nail P, 1985.** Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxford Review of Reproduction of Biology*, 7: 305-345.
- Over R, Cohen-Tannoudji J, Dehnhard M, Claus R, Signoret JP, 1990.** Effect of pheromones from male goats on LH-secretion in anoestrous ewes. *Physiology & Behavior*, 48: 665-668.
- Papachristoforou C, Koumas A, Photiou C, 2000.** Seasonal effects on puberty and reproductive characteristics of females sheep and Damascus goats born in autumn or in February. *Small Ruminant Research*, 38: 9-15.
- Pelletier J, Ortavant R, 1975.** Photoperiodic control of LH release in the ram. I. Influence of increasing and decreasing light photoperiods. *Acta Endocrinologica (Copenhagen)*, 78: 435-441.
- Pelletier J, Almeida G, 1987.** Short light cycles induce persistent reproductive activity in Île de France rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 34: 215-226.

- Pelletier J, Brieu V, Chesneau D, Pisselet C, De Reviers M, 1985.** Abolition partielle des variations saisonnières du poids testiculaire chez les béliers par diminution de la période du cycle lumineux. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, págs. 665-668.
- Pelletier J, Chemineau P, Delgadillo JA, 1988.** Seasonality of sexual activity and its photoperiodic control in the adult ram and he-goat. En: Resúmenes del 11º International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Dublin (Irlanda). Junio 26-30, 5: 211-219.
- Pellicer-Rubio MT, Leboeuf B, Bernelas D, Forgerit Y, Pougard JL, Bonné JL, Senty E, Chemineau P, 2007.** Highly synchronous and fertile reproductive activity induced by the male effect during deep anoestrus in lactating goats subjected to treatment with artificially long days followed by a natural photoperiod. Animal Reproduction Science, 98: 241-258.
- Pérez B, Mateos E, 1994.** Influence of photoperiod on the secretion of testosterone as a response to sexual stimulus in male goats. Theriogenology, 42: 127-135.
- Pérez B, Mateos E, 1995.** Seasonal variations in plasma testosterone levels in Verata and Malagueña bucks. Small Ruminant Research, 15: 155-162.
- Pérez B, Mateos E, 1996.** Effect of photoperiod on semen production and quality in bucks of Verata and Malagueña breeds. Small Ruminant Research, 22: 163-168.
- Perry JS, 1971.** The ovarian cycle of mammals. 1ª Edición, Bell and Bain limited, Edinburgh, UK.
- Peskovatskov AP, Vasiljev GI, Dzumagahiev M, 1974.** First results of artificial insemination with frozen semen. Zhivotnovodstvo, 8: 71-72.
- Pierce JG, Parsons TF, 1981.** Glycoprotein hormones: structure and function. Annual Review of Biochemistry, 50: 465-495.
- Pierson JT, Baldassarre H, Keefer CL, Downey BR, 2003.** Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. Theriogenology, 60: 397-406.

- Pintado B, Pérez B, Mateos E, 1992.** Effect of season on freezability of Verato buck spermatozoa. En: Recent Advances in Goat Production. RR Lokeshwar (ed.). Nutan Printers, New Delhi, India, págs. 1042-1045.
- Polkowska J, Lerrant Y, Wankowska M, Wojcik-Gladysz A, Starzec A, Counis R, 2003.** The effect of dietary protein restriction on the secretion of LH and FSH in pre-pubertal female lambs. *Animal Reproduction Science*, 76: 53-66.
- Poulton AL, 1987.** Role of melatonin in seasonal breeding in sheep. En: Resúmenes del 38º Annual Meeting of the EAAP Commission on Sheep and Goat Production. Lisboa, Portugal.
- Poulton AL, English J, Symons AM, Arendt J, 1987.** Changes in plasma concentrations of LH, FSH and prolactin in ewes receiving melatonin and short photoperiod treatments to induce early onset of breeding activity. *Journal of Endocrinology*, 112: 103-111.
- Purdy PH, 2006.** A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Research*, 63: 215-225.
- Quirke JF, 1979.** Effect of body weight on the attainment of puberty and reproductive performance of Galway and Fingalway female lambs. *Animal Production*, 28: 297-307.
- Reiter RJ, 1991.** Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, 12: 151-80.
- Restall BJ, 1992.** Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Animal Reproduction Science*, 27: 305-318.
- Ritar AJ, 1991.** Seasonal changes in LH, androgens and testes in the wale angora goat. *Theriogenology*, 36: 952-972.
- Ritar AJ, Maxwell WMC, Salamon S, 1984.** Ovulation and LH secretion in the goat after intravaginal progestagen sponge PMSG treatment. *Journal of Reproduction and Fertility*, 72: 559-563.

- Rivera GM, Alanis GA, Chaves MA, Ferrero SB, Morello HH, 2003.** Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Ruminant Research*, 48: 109-117.
- Roa J, Navarro VM, Tena-Sempere M, 2011.** Kisspeptins in reproductive biology: consensus knowledge and recent developments. *Biology of Reproduction*, 85: 650-660.
- Robinson JE, Karsch FJ, 1987.** Photoperiodic history and a changing melatonin pattern can determine the neuroendocrine response of the ewe to day length. *Journal of Reproduction and Fertility*, 80: 159-165.
- Robker RL, Richards JS, 1998.** Hormonal control of the cell cycle in ovarian cells: proliferation versus differentiation. *Biology of Reproduction*, 59: 476-482.
- Roca J, Martinez E, Vazquez JM, Coy P, 1992.** Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area. *Animal Reproduction Science*, 29: 255-262.
- Rodero E, Delgado-Bermejo JV, Rodero A, Camacho-Vallejo ME, 1995.** Conservación de razas autóctonas andaluzas en peligro de extinción. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, Sevilla, España.
- Rondina D, Freitas VJF, Spinaci M, Galeati G, 2005.** Effect of nutrition on plasma progesterone levels, metabolic parameters and small follicles development in unstimulated goats reared under constant photoperiod regimen. *Reproduction in Domestic Animals*, 40: 548–552.
- Rouger Y, 1974.** Étude des interactions de l'environnement et des hormones sexuelles dans la régulation du comportement sexuel des Bovidae. Tesis doctoral en Sciences Naturelles, Universidad de Rennes, pág. 197.
- Roy A, 1957.** Egg yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat. *Nature*, 179: 318-319.
- Ryan RJ, Charlesworth MC, McCormick DJ, Milius RP, Keutmann HT, 1988.** The glycoprotein hormones: recent studies of structure-function relationships.

Federation of American Societies for Experimental Biology Journal, 2: 2661-2669.

Ryan KD, Goodman RL, Karsch FJ, Legan SJ, Foster DL, 1991. Patterns of circulating gonadotropins and ovarian steroids during the first periovulatory period in the developing sheep. *Biology of Reproduction*, 45: 471-477.

Salamon S, Ritar AJ, 1982. Deep freezing of Angora goat semen: effects of diluent composition and method and rate of dilution on survival of spermatozoa. *Australian Journal of Biological Sciences*, 35: 295-303.

Sanford LM, Howland BE, Palmer WM, 1984. Seasonal changes in the endocrine responsiveness of the pituitary and testes of male sheep in relation to their patterns of gonadotropic hormone and testosterone secretion. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 62: 827-833.

Scaramuzzi RJ, Martin GB, 2008. The importance of interaction among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 43: 129-136.

Scaramuzzi RJ, Adams NR, Baird DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GB, McNatty KP, McNeilly AS, 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, Fertility and Development*, 5: 459-478.

Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Downing JA, Kendall NR, Khalid M, Muñoz-Gutierrez M, Somchit A, 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, 46: 339-354.

Schillo KK, 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 70: 1271-1282.

Schinckel PG, 1954. The effect of the presence of the ram on the ovarian activity of the ewe. *Australian Journal of Agricultural Science*, 5: 465-469.

- Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MBL, Crowley WF, Aparicio JR, SA, Colledge WH, 2003.** The GPR54 gene as a regulator of puberty. *New England Journal of Medicine*, 349: 1614-1627.
- Shelton M, 1960.** The influence of the presence of the male on initiation of oestrus cycling and ovulation in Angora does. *Journal of Animal Science*, 19: 368-375.
- Shelton M, 1978.** Reproduction and breeding of goats. *Journal of Dairy Science*, 61: 994-1010.
- Silanikove N, 2000.** The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Ruminant Research*, 35: 181-193.
- Sisk CL, Foster DL, 2004.** The neural basis of puberty and adolescence. *Nature Neuroscience*, 7: 1040-1047.
- Smith AH, Polge C, 1950.** Survival of spermatozoa at low temperatures. *Nature*, London. 166: 668-671.
- Smith MC, 1980.** Caprine reproduction. En: *Current therapy in theriogenology diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals*. Morrow DA (Ed.), (W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, USA), págs. 971-1004.
- Steiner RA, 1987.** Nutritional and metabolic factors in the regulation of reproductive hormone secretion in the primate. *Resúmenes de la Nutrition Society*, 46: 159-175.
- Succu S, Berlinguer F, Pasciu V, Satta V, Leoni GG, Naitana S, 2011.** Melatonin protects ram spermatozoa from cryopreservation injuries in a dose-dependent manner. *Journal of Pineal Research*, 50: 310-318.
- Summermatter P, Flukiger A, 1982.** Buck semen processing during off breeding season. En: *Resúmenes de la 3ª International Conference Goat on Production and Disease*, Tucson, AZ, USA, pág. 284.

- Tanaka T, Nagatani S, Bucholtz DC, Onkura S, Tsukamura H, Maeda K, Foster DL, 2000.** Central action of insulin regulates pulsatile luteinizing hormone secretion in the diabetic sheep model. *Biology of Reproduction*, 62: 1256-1261.
- Tanaka T, Akaboshi N, Inoue Y, Kamomae H, Kaneda Y, 2002.** Fasting-induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion is related to body energy status in ovariectomized goats. *Animal Reproduction Science*, 72: 185-196.
- Thimonier J, 1989.** Contrôle photopériodique de l'activité ovulatoire chez la brebis. Existence de rythmes endogènes. Tesis doctoral, Universidad de Tours, Francia, pág. 116.
- Thimonier J, Mauléon P, 1969.** Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins (Seasonal variation of oestrus behaviour and ovarian and pituitary activity in sheep). *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 9: 233–250.
- Thurston LM, Watson PF, Holt WV, 2002.** Semen cryopreservation: a genetic explanation for species and individual variation? *Cryo Letters*, 23: 255-262.
- Tilbrook AJ, De Kretser DM, Clarke IJ, 1992.** A role for inhibin in the regulation of the secretion of follicle stimulating hormone in male domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*, 9: 243-260.
- Todaro M, Dattena M, Acciaioli A, Bonanno A, Bruni G, Caroprese M, Mele M, Sevi A, Trabalza Marinucci M, 2015.** Aseasonal sheep and goat milk production in the Mediterranean area: Physiological and technical insights. *Small Ruminant Research*, 126: 59-66.
- Todini L, Malfatti A, Terzano GM, Borghese A, Pizzillo M, Debenedetti A, 2007.** Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology*, 67: 627-31.
- Tsutsumi R, Webster NJG, 2009.** GnRH Pulsatility, the Pituitary Response and Reproductive Dysfunction. *Endocrine Journal*, 56: 729-737.

- Tuli RK, Holtz W, 1995.** Effect of season on the freezability of boer goat semen in the northern temperate zone. *Theriogenology*, 43: 1359-1363.
- Ungerfeld R, Lacuesta L, Damián JP, Giriboni J, 2013.** Does heterosexual experience matters for bucks' homosexual mating behavior? *Journal of Veterinary Behavior*, 8: 471-474.
- Urrutia-Morales J, Meza-Herrera CA, Escobar-Medina FJ, Gamez-Vazquez HG, Bertha M. Ramirez-Andrade BM, Diaz-Gomez MO, Gonzalez-Bulnes A, 2009.** Relative roles of photoperiodic and nutritional cues in modulating ovarian activity in goats. *Reproductive Biology*, 9: 283-294.
- Valasi I, Chadio S, Fthenakis GC, Amiridis GS, 2012.** Management of pre-pubertal small ruminants: Physiological basis and clinical approach. *Animal Reproduction Science*, 130: 126-134.
- Verstegen J, Iguer-Ouada M, Onclin K, 2002.** Computer assisted analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, 57: 149-79.
- Viñoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajaraville C, Repetto J, Meikle A, 2005.** Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction*, 129: 299-309.
- Vitali A, Magistrelli D, Azevedo J, Bernabucci U, Ronchi B, Rosi F, 2005.** Leptin and puberty in goat. *Italian Journal of Animal Science*, 4: 383-385.
- Walkden-Brown SW, 1991.** Environmental and social influences on reproduction in Australian Cashmere goats. Tesis doctoral, Universidad de Queensland, Australia, pág. 237.
- Walkden-Brown SW, Norton BW, Restall BJ, 1994a.** Seasonal variation in voluntary feed intake in Cashmere bucks fed ad libitum diets of low or high quality. *Australian Journal of Agriculture Research*, 45: 355-366.
- Walkden-Brown S, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ, Martin GB, 1994b.** 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 SW, Martin GB, Restall BJ, 1999. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54: 243-257.

Watson PF, 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reproduction, Fertility and Development*, 7: 871-891.

Watson PF, 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60-61: 481-492.

Watson PF, Holt WV, 2001. Cryobanking the Genetic Resource: wildlife conservation for the future? Taylor and Francis Inc., Londres.

Wayne NL, Malpaux B, Karsch FJ, 1990. Photoperiodic requirements for timing onset and duration of the breeding season in the ewe: synchronization of an endogenous rhythm of reproduction. *Journal of Comparative Physiology*, 166: 835-842.

Webster GM, Haresign W, 1983. Seasonal changes in LH and prolactin concentrations in ewes of two breeds. *Journal of Reproduction and Fertility*, 67: 465-471.

Wheeler AG, Land RB, 1977. Seasonal variation in oestrus and ovarian activity of Finnish Landrace, Tasmanian Merino and Scottish Blackface ewes. *Animal Production*, 24: 363-376.

Williams LM, Helliwell RJA, 1993. Melatonin and seasonality in sheep. *Animal Reproduction Science*, 33: 159-182.

Yelich JV, Wettemann RP, Marston TT, Spicer LJ, 1996. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin, and metabolites, before puberty in heifers fed to grain at two rates. *Domestic Animal Endocrinology*, 13: 325-338.

- Yellon SM, Foster DL, 1985.** Alternate photoperiods time puberty in the female lamb. *Endocrinology*, 116: 2090-2097.
- Yogev L, Kleiman S, Shabtai E, Botchan A, Gamzu R, Paz G, Yavetz H, Hauser R, 2004.** Seasonal variations in pre- and post-thaw donor sperm quality. *Human Reproduction*, 19: 880-885.
- Zarazaga LA, Guzmán JL, Domínguez C, Pérez MC, Prieto R, 2005.** Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Animal Reproduction Science*, 87: 253–267.
- Zarazaga LA, Gatica MC, Celi I, Guzmán JL, Malpaux B, 2009a.** Effect of melatonin implants on sexual activity in Mediterranean goat females without separation from males. *Theriogenology*, 72: 910-918.
- Zarazaga LA, Guzmán JL, Domínguez C, Pérez MC, Prieto R, 2009b.** Effects of season and feeding level on reproductive activity and semen quality in Payoya buck goats. *Theriogenology*, 71: 1316-1325.
- Zarazaga LA, Guzmán JL, Domínguez C, Pérez MC, Prieto R, Sánchez J, 2009c.** Nutrition level and season of birth do not modify puberty of Payoya goat kids. *Animal*, 3: 79-86.
- Zarazaga LA, Celi C, Guzmán JL, Malpaux B, 2010a.** Melatonin concentrations in the two jugular veins, and relationship with the seasonal reproductive activity in goats. *Theriogenology*, 74: 221-228.
- Zarazaga LA, Gatica MC, Celi I, Guzmán JL, Malpaux B, 2010b.** Effect of artificial long days and/or melatonin treatment on the sexual activity of Mediterranean bucks. *Small Ruminant Research*, 93: 110-118.
- Zarazaga LA, Celi I, Guzmán JL, Malpaux B, 2011a.** The response of luteinizing hormone secretion to photoperiod is modified by the level of nutrition in female Mediterranean goats. *Animal Reproduction Science*, 126: 83-90.
- Zarazaga LA, Celi I, Guzmán JL, Malpaux B, 2011b.** The role of nutrition in the regulation of luteinizing hormone secretion by the opioidergic, dopaminergic

and serotonergic system in female Mediterranean goat. *Biology of Reproduction*, 84: 447-454.

Zarazaga LA, Celi I, Guzmán JL, Malpoux B, 2011c. The effect of nutrition on the neural mechanisms potentially involved in melatonin-stimulated LH secretion in female Mediterranean goats. *Journal of Endocrinology*, 211: 263-272.

Zarazaga LA, Gatica MC, Celi I, Guzmán JL, Malpoux B, 2011d. Artificial long days in addition to exogenous melatonin and daily contact with bucks stimulate the ovarian and oestrous activity in Mediterranean goat females. *Animal*, 9: 1414-1419.

Zarazaga LA, Celi I, Guzmán JL, Malpoux B, 2012a. Enhancement of the male effect on reproductive performance in female Mediterranean goats with long day and/or melatonin treatment. *The Veterinary Journal*, 192: 441-444.

Zarazaga LA, Gatica MC, Celi I, Guzmán JL, 2012b. Reproductive performance is improved during seasonal anoestrus when female and male Murciano-Granadina goats receive melatonin implants and in Payoya goats when females are thus treated. *Reproduction in Domestic Animals*, 47: 436-442.

Zarazaga LA, Gatica MC, Gallego-Calvo L, Celi I, Guzmán JL, 2013. The influence of the buck effect on the reproductive performance of early postpartum Payoya goat females in seasonal anoestrous could be enhanced by melatonin implants. *Spanish Journal of Agriculture Research*, 11: 997-1003.

Zarrouk A, Souilem O, Drion PV, Beckers JF, 2001. Caractéristiques de la reproduction de l'espèce caprine. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 145: 98-105.

Zawilska JB, Nowak JZ, 1999. Melatonin: from biochemistry to therapeutic applications. *Polish Journal of Pharmacology*, 51: 3-23.

Zieba DA, Amstalden M, Williams GL, 2005. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domestic Animal Endocrinology*, 29: 166-185.

Zieba DA, Szczesna M, Klocek-Gorka B, Williams GL, 2008. Leptin as a nutritional signal regulating appetite and reproductive processes in seasonally breeding ruminants. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59: 7-18.

OTRAS PUBLICACIONES

OTRAS PUBLICACIONES

La comunicación a congreso que forma parte de este apartado ha sido retirada de la tesis debido a restricciones relativas a los derechos de autor. Dicha ponencia ha sido sustituida por su referencia bibliográfica, enlace al pdf y resumen.

GallegoCalvo, M.L., Guzmán Guerrero, J.L., Zarazaga Garcés, L.A.: "El nivel de reservas corporales es un factor determinante para el inicio de la pubertad en chivas de raza Blanca Andaluza nacidas en noviembre. En: Actas del XXXVIII Congreso Nacional y XIV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, págs.: 704-710.

Enlace al texto completo:

http://www.seoc.eu/docs/jornadas/38_jornadas_seoc.pdf

RESUMEN:

El objetivo de este estudio fue determinar si hay estacionalidad reproductiva en la raza caprina Blanca Andaluza y si ésta podría estar modulada por el nivel de reservas corporales. Para ello, se usaron 43 hembras adultas y vacías. Se distribuyeron en dos lotes homogéneos según el nivel de reservas corporales: Lote Alto (N=23) con condición corporal $\geq 2,75$ y Lote Bajo (N=20) con condición corporal $\leq 2,50$. Se les suministró un nivel de alimentación que cubría las necesidades de mantenimiento para sus pesos respectivos ($38,1 \pm 1,2$ kg vs $31,4 \pm 1,1$ kg para el Lote Alto y Bajo, respectivamente) y que permitía mantener dichas diferencias durante el experimento (mayo de 2012 a marzo de 2013). Diariamente, se realizaba detección de celos mediante machos vasectomizados con arneses marcadores; las hembras marcadas se sometían a ecografía transrectal a los 7 días para determinar la tasa de ovulación. Semanalmente, se determinaba el peso vivo y condición corporal. En el inicio de la actividad reproductiva no se observó efecto de la condición corporal. La fecha media de inicio de la actividad reproductiva fue el 7 de julio $\pm 6,1$ días. Sin embargo, en el caso del final de la actividad reproductiva, sí se observó una influencia del nivel de reservas corporales, mostrándose una finalización de la estación reproductiva posterior en los animales pertenecientes al lote Alto (31 Enero $\pm 5,1$ días) respecto al lote Bajo (14 Diciembre $\pm 10,8$ días), ($P < 0,001$). Como consecuencia, la duración de la estación reproductiva fue superior en el lote Alto frente al lote Bajo ($216,8 \pm 12,0$ días vs $148,8 \pm 13,5$ días para el lote A y B, respectivamente ($P < 0,01$)). Estos resultados demuestran la estacionalidad de la raza Blanca Andaluza y que el nivel de reservas corporales puede modular la estación reproductiva, principalmente alargando la fecha final de la misma.

OTRAS PUBLICACIONES

Comunicación 1. Se corresponde con el objetivo 1:

Tipo: Oral

El nivel de reservas corporales es un factor determinante para el inicio de la pubertad en chivas de raza Blanca Andaluza nacidas en noviembre.

Body condition score is a determining factor for the onset of puberty at Blanca Andaluza she-kids born in November.

Gallego-Calvo, L.; Guzmán, J.L. y Zarazaga, L.A.

En: Actas del XXXVIII Congreso Nacional y XIV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, págs.: 704-710.

**EL NIVEL DE RESERVAS CORPORALES ES UN
FACTOR DETERMINANTE PARA EL INICIO DE LA
PUBERTAD EN CHIVAS DE RAZA BLANCA
ANDALUZA NACIDAS EN NOVIEMBRE**

Gallego-Calvo, L.; Guzmán, J.L. y Zarazaga, L.A.

Universidad de Huelva, Campus de Excelencia Internacional
Agroalimentario, ceiA3, Carretera Huelva-Palos de la Frontera s/n,
21819 Palos de la Frontera, Huelva, España

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar el efecto del nivel de reservas corporales sobre el comienzo de la pubertad en chivas de la raza Blanca Andaluza. Para ello se utilizaron 42 chivas de la raza Blanca Andaluza nacidas en noviembre. Fueron distribuidas en dos lotes experimentales que se diferenciaban en función de su peso vivo y condición corporal. La media del peso y de la condición corporal fue para el lote Alto (N=21) 26,8 kg y 2,65 y para el lote Bajo (N=21) fue de 21,6 kg y 2,42, respectivamente ($P<0,05$, para las dos variables). El nivel de alimentación se ajustó semanalmente, en función de su peso vivo, para mantener las diferencias en peso vivo y condición corporal hasta el final del experimento. Diariamente, se realizó detección de celos con machos vasectomizados, portadores de arneses marcadores. La tasa de ovulación se determinó mediante ecografía transrectal a los 8 días de la detección del celo. Semanalmente, se realizaba una extracción de sangre para determinar los niveles plasmáticos de progesterona y así conocer la actividad ovárica. Igualmente, cada semana se determinaba el peso vivo y la condición corporal. Los lotes experimentales, ejercieron un claro efecto ($P<0,05$) sobre el inicio de la pubertad. La primera actividad ovárica se observó el 30 de agosto $\pm 2,2$ vs 2 de octubre $\pm 6,8$ para el grupo Alto y Bajo, respectivamente; y el primer celo se detectó el 27 de agosto $\pm 2,2$ vs 7 de octubre $\pm 7,1$ para el grupo Alto y Bajo, respectivamente. Estos resultados, demuestran que la edad a la pubertad es muy dependiente del nivel de reservas corporales en chivas de la raza Blanca Andaluza.

Comunicación 2. Se corresponde con el objetivo 3:

Tipo: Póster

El nivel de reservas corporales como factor modulador de la estacionalidad reproductiva de la raza caprina Blanca Andaluza

Body condition score as a modulating factor on reproductive seasonality of Blanca Andaluza goats

Gallego-Calvo, L.; Guzmán, J.L. y Zarazaga, L.A.

En: Actas del XXXVIII Congreso Nacional y XIV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, págs.: 697-703.

EL NIVEL DE RESERVAS CORPORALES COMO FACTOR MODULADOR DE LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA DE LA RAZA CAPRINA BLANCA ANDALUZA

Gallego-Calvo, L.; Guzmán, J.L. y Zarazaga, L.A.
Universidad de Huelva, Campus de Excelencia Internacional
Agroalimentario, ceiA3, Carretera Huelva-Palos de la Frontera s/n,
21819 Palos de la Frontera, Huelva, España

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar si hay estacionalidad reproductiva en la raza caprina Blanca Andaluza y si ésta podría estar modulada por el nivel de reservas corporales. Para ello, se usaron 43 hembras adultas y vacías. Se distribuyeron en dos lotes homogéneos según el nivel de reservas corporales: Lote Alto (N=23) con condición corporal $\geq 2,75$ y Lote Bajo (N=20) con condición corporal $\leq 2,50$. Se les suministró un nivel de alimentación que cubría las necesidades de mantenimiento para sus pesos respectivos ($38,1 \pm 1,2$ kg vs $31,4 \pm 1,1$ kg para el Lote Alto y Bajo, respectivamente) y que permitía mantener dichas diferencias durante el experimento (mayo de 2012 a marzo de 2013). Diariamente, se realizaba detección de celos mediante machos vasectomizados con arneses marcadores; las hembras marcadas se sometían a ecografía transrectal a los 7 días para determinar la tasa de ovulación. Semanalmente, se determinaba el peso vivo y condición corporal. En el inicio de la actividad reproductiva no se observó efecto de la condición corporal. La fecha media de inicio de la actividad reproductiva fue el 7 de julio $\pm 6,1$ días. Sin embargo, en el caso del final de la actividad reproductiva, sí se observó una influencia del nivel de reservas corporales, mostrándose una finalización de la estación reproductiva posterior en los animales pertenecientes al lote Alto (31 Enero $\pm 5,1$ días) respecto al lote Bajo (14 Diciembre $\pm 10,8$ días), ($P < 0,001$). Como consecuencia, la duración de la estación reproductiva fue superior en el lote Alto frente al lote Bajo ($216,8 \pm 12,0$ días vs $148,8 \pm 13,5$ días para el lote A y B, respectivamente ($P < 0,01$). Estos resultados demuestran la estacionalidad de la raza Blanca Andaluza y que

el nivel de reservas corporales puede modular la estación reproductiva, principalmente alargando la fecha final de la misma.

Palabras clave: caprino, estacionalidad, condición corporal, nutrición

INTRODUCCIÓN

La estacionalidad reproductiva es una estrategia adaptativa cuya finalidad es asegurar que el nacimiento de las crías tenga lugar en el momento más favorable del año en cuanto a condiciones climatológicas y de disponibilidad de alimentos, que habitualmente es la primavera (Karsch *et al.*, 1984). Estas variaciones de actividad reproductiva se manifiestan en la hembra mediante un periodo de inactividad reproductiva durante la primavera y el verano que puede limitar la productividad de las especies de animales de producción (Zarazaga *et al.*, 2005). Esta estacionalidad reproductiva está principalmente regulada por el fotoperiodo (Bissonnette, 1941; Chemineau *et al.*, 1988). Pero existen otros estímulos medioambientales como la disponibilidad de alimentos-nutrición y su relación con su efecto sobre el peso vivo y la condición corporal así como las interacciones sociales (Restall, 1992; Walkden-Brown *et al.*, 1993), que no pueden ser descartados como posibles moduladores de la misma.

La raza caprina Blanca Andaluza es una raza autóctona catalogada en peligro de extinción, lo que hace que se disponga de pocos datos de sus características reproductivas. Se encuentra distribuida en diferentes provincias andaluzas, eso sí, siempre en áreas de Serranía de difícil orografía, suelo pobre y clima seco y cálido.

El objetivo del presente trabajo consistió, en determinar si hay estacionalidad reproductiva en cabras de raza Blanca Andaluza y si esta estacionalidad podría ser modulada por el nivel de reservas corporales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en las instalaciones de la planta experimental de la Universidad de Huelva, latitud 37° 15' N. Se utilizaron un total de 43 hembras de raza Blanca Andaluza, todas ellas vacías y no habiendo parido previamente.

SEOC 2013

Los animales fueron distribuidos en dos lotes homogéneos en función del nivel de reservas corporales como fuente de variación: Lote Bajo, que tenía una condición corporal $\leq 2,50$ y Lote Alto, que tenía una condición corporal $\geq 2,75$ (ver tabla 1 para el número de cabras por lote). Recibían una ración de mantenimiento en función de su peso vivo ($31,4 \pm 1,1$ kg vs $38,1 \pm 1,2$ kg para el Lote Bajo y Alto, respectivamente) y que permitía mantener dichos niveles de condición corporal a lo largo del experimento, que comenzó el 4 de mayo de 2012 y finalizó el 18 de marzo de 2013. Además los animales disponían de agua fresca en bebederos de nivel constante y de bloques de minerales a su libre disposición.

Diariamente, se realizaban detecciones de celos con machos adultos y vasectomizados, provistos de arneses marcadores. Las hembras, marcadas por los machos, se sometían a una ecografía transrectal 7 días después para observar los cuerpos lúteos presentes en los ovarios y así determinar la tasa de ovulación.

Semanalmente, se determinó el peso vivo (PV) y por palpación de la zona lumbar la condición corporal (CC) de las hembras (Hervieu *et al.*, 1991).

Se consideró como inicio de la actividad reproductiva la primera vez que las cabras fueron detectadas en celo y dicho celo fue acompañado de ovulación y como final de la estación reproductiva la última fecha de detección de celo acompañado de ovulación.

Se calculó la media \pm s.e. de la fecha de aparición del primer y último celo, tasa de ovulación de ambos, PV y CC en cada uno de esos momentos, siendo el lote establecido al comienzo del experimento la fuente de variación. Para los análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS (SPSS, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra la media \pm s.e. de cada una de las variables analizadas. Como era de esperar las diferencias en el PV y la CC se mantuvieron diferentes entre ambos lotes experimentales durante todo el experimento.

Respecto al inicio de actividad reproductiva no se observó un efecto del diferente nivel de CC sobre esta variable, mostrando que el nivel de reservas corporales no permite modificar el comienzo de la estación reproductiva y que, por lo tanto, éste estaría regulado fundamentalmente por el efecto del fotoperiodo. La fecha media de inicio de la actividad reproductiva fue anterior al descrito por el mismo grupo de investigación trabajando con la raza Payoya (7 de julio \pm 6,1 días vs 9 de agosto \pm 5,5 días, para la raza Blanca Andaluza y Payoya, respectivamente) (Zarazaga *et al.*, 2005), indicando que este parámetro puede ser muy variable entre razas y tal vez dependiente de la interpretación o sensibilidad al fotoperiodo de cada raza.

En relación a la fecha de fin de actividad reproductiva, se demostró un claro efecto del nivel de CC sobre este parámetro, con una finalización de la estación reproductiva más tardía en el caso de los animales con CC alta. Este hecho indicaría que el final de anestro sí sería modificable por el nivel de reservas corporales de los animales. Esta fecha de finalización de actividad reproductiva es similar a la descrita por Zarazaga *et al.* (2005) en la raza Payoya (8 de enero \pm 6,9 días vs 17 de enero \pm 3,4 días, para la raza Blanca Andaluza y Payoya, respectivamente) y por lo tanto podría ser un parámetro que pudiera estar más controlado por el fotoperiodo que por otros factores desde un punto de vista de diferencias raciales.

Este experimento demuestra que la raza Blanca Andaluza presenta una clara estacionalidad reproductiva y que la duración de la estación reproductiva fue superior para los animales con un mayor nivel de reservas corporales (216,8 \pm 12,0 días vs 148,8 \pm 13,5 días para el lote Alto y Bajo, respectivamente, $P < 0,01$). Por otro lado, en comparación con la raza Payoya (Zarazaga *et al.*, 2005) la duración de esta estación reproductiva fue superior en la raza Blanca Andaluza (184,5 \pm 10,4 días vs 137,3 \pm 6,0 días, para la raza Blanca Andaluza y Payoya, respectivamente).

Respecto a la tasa de ovulación, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes lotes, al igual que lo obtenido por Zarazaga *et al.* (2005) en la raza Payoya, lo que indicaría que es un parámetro reproductivo difícilmente modificable.

SEOC 2013

Tabla 1: media \pm s.e. de fecha de inicio y fin de la actividad reproductiva, tasa de ovulación y peso vivo para las cabras de los lotes Alto y Bajo en función de su condición corporal (CC).

	INICIO ACTIVIDAD REPRODUCTIVA		FIN ACTIVIDAD REPRODUCTIVA	
	LOTE A (CC \geq 2,75)	LOTE B (CC \leq 2,50)	LOTE A (CC \geq 2,75)	LOTE B (CC \leq 2,50)
N	23	20	21	19
FECHA	29 Junio 2012 \pm 8,8a	16 Julio 2012 \pm 8,18a	31 Enero 2013 \pm 5,1a	14 Diciembre 2012 \pm 10,8b
TASA OVULACIÓN (cuerpos lúteos/cabra)	1,50 \pm 0,1a	1,20 \pm 0,1a	1,48 \pm 0,1a	1,17 \pm 0,1a
PESO VIVO (Kg)	40,07 \pm 1,2a	32,55 \pm 1,5b	41,85 \pm 1,4a	31,55 \pm 1,6b
CONDICIÓN CORPORAL (puntos)	3,08 \pm 0,07a	2,38 \pm 0,03b	3,17 \pm 0,08a	2,32 \pm 0,05b

Letras diferentes, dentro del mismo periodo de actividad reproductiva, indican diferencias significativas de al menos $P < 0,001$

CONCLUSIONES

Estos resultados demuestran la estacionalidad reproductiva de la raza Blanca Andaluza y, además, que un mayor nivel de reservas corporales en las cabras puede ampliar la duración de la estación reproductiva, al alargar la fecha final de este periodo, aunque sin modificar la tasa de ovulación.

AGRADECIMIENTOS

A la Asociación de Criadores de la raza Blanca Andaluza (ABLANSE) por suministrarnos los animales. Este trabajo ha sido financiado gracias al proyecto del Ministerio de Educación y Ciencia-Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA) RZ2010-00001-00-00.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BISSONNETTE TH, 1941. Experimental modification of breeding cycle in goats. *Physiol. Sool.* 14, 379-383.
- CHEMINEAU P, PELLETIER J, GUERIN Y, COLAS G, RAVAUT J.P, TOURE G, ALMEIDA G, THIMONIER J, ORTAVANT R, 1988. Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reprod. Nutr. Dev.* 28, 409-422.
- HERVIEU J, MORAND-FEHR P, SCHMIDELY PH, FEDELE V, DELFA R, 1991. Mesures anatomiques permettant d'expliquer les variations des notes sternales, lombaires et caudales utilisées pour estimer l'état corporel des chèvres laitières. *Options Méditerranéennes* 13, 43-56.
- MADGWICK S, EVANS ACO, and BEARD AP, 2005. Treating heifers with GnRH from 4 to 8 weeks of age advanced growth and the age at puberty. *Theriogenology* 63, 2323-2333.
- MALPAUX B, TRICOIRE H, MAILLIET F, DAVEAU A, MIGAUD M, SKINNER DC, PELLETIER J, WILLIAMS LM, HELLIWELL RJA, 1993. Melatonin and seasonality in the sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 33, 159-182.
- RESTALL BJ, 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim. Reprod. Sci.* 27, 305-318.
- STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES (SPSS), 2008. *SPSS Statistics Base User's Guide 17.0*. Chicago: SPSS Inc. p.640.
- WALKDEN-BROWN SW, RESTALL BJ, HENNIAWATI, 1993. The male effect in the Australian cashmere goat. 2. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous female. *Anim. Reprod. Sci.* 32, 69-84.
- ZARAZAGA LA, GUZMÁN JL, DOMÍNGUEZ C, PÉREZ MC, PRIETO R, 2005. Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Anim. Reprod. Sci.* 87, 253-267

**BODY CONDITION SCORE AS A MODULATING FACTOR ON
REPRODUCTIVE SEASONALITY OF BLANCA ANDALUZA
GOATS****SUMMARY**

The aim of this study was to determine if there is reproductive seasonality in the Blanca Andaluza goats and whether it could be modulated by the body condition score. Forty-three non-pregnant goats were allocated into two groups according to their body condition score: group A (N=23) with a body condition score (BCS) \geq 2.75 and group B with BCS \leq 2.50. The animals received a diet supporting their maintenance requirements for their respective weight (38.1 \pm 1.2 kg vs 31.4 \pm 1.1 kg for group A and B respectively) and to keep differences between both groups during the experiment (May 2012 to march 2013). Every day, oestrus was tested by vasectomized males fitted with markers harness; the females goats marked were subject to a transrectal ultrasonography at 7 days to determine the ovulation rate. The liveweight and body condition score were determined each week. No effect of the BCS was observed at the onset of reproductive activity. The mean date of the onset of reproductive activity was July 7th \pm 6.1 days. However, the end of the reproductive activity was clearly modified by the BCS, showing an end of breeding season later in group A (January 31st \pm 5.1 days) than group B (December 14th \pm 10.8 days), (P<0.001). As a result, the duration of breeding season was higher in group A compared to group B (216.8 \pm 12.0 days vs 148.8 \pm 13.5 days for group A y B, respectively, P<0.01). These results demonstrate the seasonality of Blanca Andaluza goats and that body condition score can modulate the breeding season, particularly increasing the end of reproductive activity.
Keywords: goat, seasonality, body condition score, nutrition



EL NIVEL DE RESERVAS CORPORALES ES UN FACTOR DETERMINANTE PARA EL INICIO DE LA PUBERTAD EN CHIVAS DE RAZA BLANCA ANDALUZA NACIDAS EN NOVIEMBRE

Gallego-Calvo, L.; Guzmán, J.L. y Zarazaga, L.A.

Universidad de Huelva, "Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceia3", Carretera Huelva-Palos de la Frontera s/n, 21819 Palos de la Frontera, Huelva, España

INTRODUCCIÓN

La pubertad podría ser definida como la edad a la que la hembra presenta su primer celo y éste es seguido por actividad ovárica cíclica, resultando en la capacidad para producir crías. Diferentes factores pueden modificar este inicio de la actividad reproductiva, entre los cuales se podrían destacar la nutrición y su relación sobre la condición corporal, la raza, la época del año, etc., así como la interacción entre ellos. La raza caprina Blanca Andaluza es una raza caprina autóctona que se encuentra catalogada en peligro de extinción, lo que hace que se disponga de pocos datos de las características reproductivas y más concretamente del inicio de la pubertad de esta raza.

OBJETIVOS

Determinar el inicio de la actividad reproductiva, tanto ovárica como estral, de chivas de la raza Blanca Andaluza nacidas en periodo de actividad reproductiva (noviembre) y estudiar la importancia del nivel de reservas corporales sobre el inicio de la pubertad.

MATERIAL Y MÉTODOS



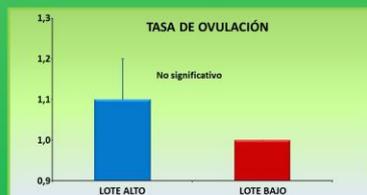
RESULTADOS

AGOSTO						
LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31		

FECHA 1º CELO
LOTE ALTO
LOTE BAJO

OCTUBRE						
LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31				

FECHA INICIO ACTIVIDAD OVÁRICA
LOTE ALTO
LOTE BAJO



CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este experimento demuestran que el nivel de reservas corporales es un factor determinante en el inicio de la pubertad de chivas de raza Blanca Andaluza, nacidas en época de actividad reproductiva, de tal forma que chivas con un mejor nivel de reservas corporales adelantaron claramente el inicio de su actividad ovárica y el primer celo, pero sin mejorar la tasa de ovulación

AGRADECIMIENTOS

A la Asociación de Criadores de la raza Blanca Andaluza (ABLANSÉ) por suministrarnos los animales. Este trabajo ha sido financiado gracias al proyecto del Ministerio de Educación y Ciencia-Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias RZ2010-00001-00-00.