

Las vocalizaciones de machos cabríos no estimulan la secreción de la LH ni la ovulación en las cabras anovulatorias

Vocalizations of male goats do not stimulate neither LH secretion nor ovulation on anovulatory female goats

Jesús Vielma^a, Angélica Terrazas^b, Francisco Gerardo Véliz^a, José Alfredo Flores^a, Horacio Hernández^a, Gerardo Duarte^a, Benoît Malpoux^c, José Alberto Delgado^a

RESUMEN

El objetivo fue determinar si la reproducción de las vocalizaciones del macho cabrío estimula la secreción de LH y la ovulación de cabras anéstricas. Cuarenta (40) cabras Criollas múltiparas, aisladas de machos cabríos 3 meses antes de iniciar el experimento, se dividieron en cuatro grupos (n = 10 cada uno). Un grupo fue expuesto a un macho sexualmente activo; otro fue expuesto a vocalizaciones de macho reproducidas por discos compactos; el tercero fue expuesto al ruido blanco de discos compactos vírgenes; y las hembras del cuarto grupo permanecieron aisladas, sin estímulos. Se determinó la pulsatilidad de LH 4 h antes y 4 h después de iniciar el estímulo, y la progesterona plasmática los siguientes 28 días. La introducción del macho en el grupo correspondiente incrementó ($P < 0.05$) el número de pulsos de LH de 1.0 ± 0.2 antes a 2.9 ± 0.3 postintroducción del macho. Contrariamente, ninguna modificación ($P > 0.05$) de la secreción pulsátil de LH se observó en los grupos con vocalizaciones (antes 1.0 ± 0.1 ; después 0.8 ± 0.2), ruido blanco (antes 1.0 ± 0.1 ; después 0.8 ± 0.1) y en aisladas (antes 0.6 ± 0.2 ; después 1.1 ± 0.2). Todas las cabras del grupo con macho ovularon, mientras que ninguna de los otros tres grupos, lo hicieron ($P < 0.001$). Estos resultados demuestran que en cabras anovulatorias, las vocalizaciones del macho emitidas durante el cortejo sexual, grabadas y reproducidas con discos compactos, no incrementaron la frecuencia de pulsos de la LH, ni provocaron la ovulación.

PALABRAS CLAVE: Señales auditivas, Efecto macho, LH, Actividad ovárica, Anestro.

ABSTRACT

The objective was to determine if the reproduction of goat buck vocalizations stimulate the secretion of LH and ovulation of anoestrus female goats. Forty multiparous Creole goats, isolated from male goats three months before the onset of experiment, were allocated to four groups (n = 10 each). The first group was exposed to one sexually active male. The second group was exposed to vocalizations of males reproduced by compact discs. The third group was exposed to the blank noise produced by a virgin compact disc. The females of the fourth group remained isolated. LH was measured 4 h before and 4 h after the onset of stimulus, while progesterone was determined during the next 28 d. The introduction of the male in the corresponding group increased ($P < 0.05$) LH pulses from 1.0 ± 0.2 before to 2.9 ± 0.3 after. On the contrary, no change ($P > 0.05$) in LH pulsatile secretion was observed in vocalization (before 1.0 ± 0.1 ; after 0.8 ± 0.2), blank noise (before 1.0 ± 0.1 ; after 0.8 ± 0.1), or isolated (before 0.6 ± 0.2 ; after 1.1 ± 0.2), groups. All females in the first treatment (exposed to buck) ovulated, whereas none in the other three groups did. These results show that in anovulatory female goats, reproduction of buck vocalizations recorded during sexual courtship, do not stimulate either frequency of LH pulses or ovulation.

KEY WORDS: Auditory signals, Male effect, LH, Ovarian activity, Anestrous.

INTRODUCCIÓN

Las relaciones sociales existentes en un grupo de animales de la misma especie pueden afectar su

INTRODUCTION

Social relationships among animal groups belonging to the same species can affect sexual activity. In

Recibido el 11 de septiembre de 2006 y aceptado para su publicación el 25 de junio de 2007.

^a Centro de Investigación en Reproducción Caprina, Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna, Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, 27054, Torreón, Coahuila, México; Tel: (871) 7 29 76 51 joaldesa@yahoo.com. Correspondencia al primer autor.

^b Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.

^c Physiologie de la Reproduction et des Comportements, UMR INRA-CNRS-Université de Tours-Haras Nationaux.

actividad sexual. En la mayoría de los mamíferos, el macho influye en el inicio y duración de la época de actividad reproductiva anual de las hembras^(1,2,3). Este fenómeno conocido como “efecto macho” es multisensorial y, al menos en ovinos y caprinos, la hembra utiliza los sentidos del olfato, la vista, el tacto y el oído para percibir las señales emitidas por el macho⁽⁴⁻⁸⁾. La mayor respuesta de las hembras se obtiene cuando el macho está presente^(4,9). Sin embargo, se han efectuado estudios para separar y cuantificar los efectos de diferentes señales exteroceptivas; en cabras se ha sugerido que la vista influye en la respuesta de las hembras a la estimulación por el macho, ya que cuando éstas son expuestas al olor y sonidos del macho, el porcentaje de animales que ovulan es menor que cuando se agrega la percepción visual⁽⁴⁾. Tanto en cabras como en ovejas, la sola exposición al pelo o lana de los machos induce la secreción de la LH y la ovulación de las hembras^(5,10,11), lo que demuestra que el olfato interviene de manera importante en la respuesta de las hembras a la presencia del macho.

En cabras y en ovejas el contacto directo entre machos y hembras produce una respuesta ovulatoria mayor que cuando están separados por un cerco, un pasillo o una pared sólida, lo que demuestra que el tacto es importante en la respuesta de las cabras al efecto macho^(4,12). En las cabras, el porcentaje de hembras que ovulan es mayor cuando son expuestas al olor más el sonido que cuando son expuestas solamente al olor⁽⁴⁾.

En la cerda (*Sus scrofa*) las vocalizaciones de los machos tienen una acción sinérgica con el olfato y la visión para facilitar la reacción postural de inmovilización de la hembra para la monta; incluso en ausencia de la señal olfativa, las vocalizaciones pueden suplantar su efecto permitiendo la organización de la conducta de inmovilización⁽¹³⁾. En el venado rojo (*Cervus elaphus*), la sola exposición de las hembras a la reproducción de las vocalizaciones de machos sexualmente activos adelanta la fecha de inicio de la actividad sexual⁽¹⁴⁾.

La cabra (*Capra hircus*) es característicamente una especie vocalizadora⁽¹⁵⁾, y los machos cabríos

most mammals, males influence the commencement and length of the reproductive season of females^(1,2,3). This phenomenon, known as the “male effect”, is multisensorial and, at least in sheep and goats, females use smell, sight, sound and touch to become aware of signals emitted by males⁽⁴⁻⁸⁾. The greater response is obtained when males are present^(4,9). However, studies were carried out to separate and quantify the effect of diverse exteroceptive factors; in goats, it has been suggested that sight influences female response to male stimulation, because when females are exposed to male odour and sounds, the percentage of ovulating does is less than when sight is added⁽⁴⁾. In both does and ewes, exposition to male hair or wool induces LH secretion and ovulation^(5,10,11), which demonstrates that smell is an important factor in female response to male presence.

In both goats and sheep direct contact between females and males produces greater ovulation than when separated by a fence, a corridor or a wall, which helps to show that touch is of importance in female response to male effect^(4,12). In does, the ovulating percentage is greater when exposed to male odour plus sounds than when to odour alone⁽⁴⁾.

In sows (*Sus scrofa*) male sounds have synergic actions with smell and sight to help posture reaction (immobilization) for coitus; even when smell is absent, sounds can supplant its effect, allowing for immobilization conduct organization⁽¹³⁾. In red deer (*Cervus elaphus*), exposition of females to the sounds of sexually active stags advances the beginning of sexual activity in hinds⁽¹⁴⁾.

Goats (*Capra hircus*) are characteristically a vocal specie⁽¹⁵⁾ and bucks are more vocal during the season of sexual activity^(4,16,17), however, it is not known if these vocalizations alone, are enough to induce LH secretion and ovulation. Owing to this, the objective of the present study was to determine the effect of recordings of vocalizations of sexually active bucks on LH secretion and ovulation in anovulatory does.

umentan su actividad de vocalización durante la época de actividad sexual^(4,16,17); sin embargo, no se conoce si estas vocalizaciones son suficientes por sí solas para estimular la secreción de LH y la ovulación. Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la grabación y repetición de las vocalizaciones del macho cabrío sexualmente activo, sobre la secreción de la LH y la ovulación de cabras anéstricas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de machos sexualmente activos

Se utilizaron cuatro machos cabríos adultos (3 a 5 años) locales de la Comarca Lagunera, la cual se encuentra en el estado de Coahuila, México (26°23' N; 104°47' O; 1,100 a 1,400 msnm). Las características reproductivas de esos machos fueron descritas previamente⁽¹⁸⁾. El periodo natural de reposo sexual se desarrolla de enero a mayo. Los machos se mantuvieron en instalaciones abiertas y se alimentaron con 1,250 g de heno de alfalfa (17 % PC) y 300 g de concentrado comercial (18 % PC) /día/animal. El agua y las sales minerales se proporcionaron a libre acceso. Para estimular la actividad sexual de los machos, estos fueron sometidos a un tratamiento 2.5 meses de días largos artificiales (16 h luz / 8 h de oscuridad), iniciando el 1 de noviembre de 2001⁽¹⁹⁾. Los días largos se proporcionaron combinando la luz natural y la iluminación artificial. La iluminación artificial se proporcionó por medio de lámparas fluorescentes, las cuales se encendían diariamente a las 0600 y se apagaban a las 0900. Después se encendían nuevamente a las 1800 y se apagaban a las 2200. A partir del 16 de enero, los machos sólo percibieron el fotoperiodo natural de la región (13:41 h luz durante el solsticio de verano y 10:19 h luz durante el solsticio de invierno) hasta el final del estudio. Uno de estos machos tratados fue utilizado para realizar el efecto macho el 15 de marzo de 2002 (ver efecto macho).

Grabación de las vocalizaciones de los machos cabríos

Durante la estación sexual (septiembre de 2001), dos machos de 5 años de edad, fueron puestos en

MATERIALS AND METHODS

Preparation of sexually active males

Four adult male goats (3 to 5 yr) from the Comarca Lagunera, Coahuila, Mexico (26°23' N; 104°47' W; 1100 to 1400 m asl) were used. Reproductive characteristics were described previously⁽¹⁸⁾. Sexual quiescence normally takes place from January through May. These bucks were kept in open pens and fed 1,250 g alfalfa hay (17 % CP) and 300 g of commercial concentrate per day per animal. To stimulate sexual activity, they were subjected to an artificial long day treatment (16 h light – 8 h darkness) for 2 1/2 months, starting on November 1, 2001⁽¹⁹⁾. Long days were made up by natural light and artificial lighting by means of fluorescent lamps that were turned on from 0600 to 0900 h. and from 1800 to 2200 h. From January 16, 2002 onwards, males received only daylight (10:19 h in the winter solstice, 13:41 h in the summer solstice) till the study's conclusion. One of these males was used on March 15, 2002 to study male effect.

Recording of male goat vocalizations

In the course of the sexually active season (September 2001), two 5 yr old bucks were placed in contact with six ovariectomized female goats induced to oestrus. Each male was placed with three females in a 5 x 5 m pen. An audiocassette recorder (Sony TCM S63) provided with audio tapes (Sony HF, 2 x 45 min) was placed in the ventral area of the neck of each male. Tapes were replaced immediately after each 90 min recording. All sounds emitted for 24 h of sexual courtship were recorded. Afterwards, in an acoustics laboratory, these tapes were cleaned, using the Sound Forge 4.5, 278-XMAN program, of foreign noises (motors, human voices, etc.), so only the audible vocalizations of the bucks were left on tape. Recording and burning of CDs was made in the same manner as each male emitted sounds, without changing the timing. Different sounds were identified, operatively classified as licks (quick, noisy, repeated movements, corresponding to extension and retraction of the tongue, when slid above the lips), moans (vocal emissions which recall plaintive suffering or pleasure

contacto con seis hembras ovariectomizadas inducidas al estro. Cada macho fue alojado junto con tres hembras en un corral de 5 x 5 m. A cada macho se le colocó en la región ventral del cuello una grabadora-reproductora portátil (Sony-TCM S63) de audiocasetes (Sony, HF de 2 x 45 min) que se reemplazaban inmediatamente después de finalizar los 90 min de grabación. Se grabaron todos los sonidos producidos durante el cortejo sexual en un periodo de 24 h. Después, en el laboratorio de acústica los audiocasetes con las vocalizaciones grabadas se sometieron al programa para sonidos Sound Forge 4.5, 278-XMAN, con el cual las grabaciones se limpiaron de sonidos extraños (roces de la grabadora en el cuello del animal, ruidos de automóviles, de voces de humanos) quedando solamente todas las vocalizaciones audibles de los machos. La grabación y reproducción de los discos compactos se hizo tal como vocalizó cada macho, sin modificar el tiempo. Se identificaron sonidos diferentes, que operativamente se clasificaron como lengüeteos (movimientos rápidos, ruidosos, y repetidos, de extensión y retracción de la lengua, deslizándola por encima de los labios), gemidos (emisiones vocales que evocan los sonidos humanos quejumbrosos de dolor o de placer) y estornudos (expulsión súbita y ruidosa de aire a un tiempo por boca y nariz)^(20,21).

Características y manejo de las hembras

Se utilizaron 40 cabras multíparas que habían parido entre diciembre de 2001 y enero de 2002. Todas las hembras destetaron a sus crías a los 25 días de edad y se ordeñaron manualmente una vez por día; estuvieron aisladas de machos cabríos tres meses antes de iniciar el experimento, y se explotaban en sistema extensivo antes del inicio del estudio. Tres semanas antes del inicio del estímulo, las hembras se estabularon y se alimentaron con 750 g de heno de alfalfa (17 % PC) y 200 g de concentrado comercial (18 % PC)/día/animal, con libre acceso al agua y sales minerales hasta el final del estudio. El 23 de febrero y el 5 de marzo (días -20 y -10 del inicio del estímulo, respectivamente) se obtuvieron muestras sanguíneas para la determinación de progesterona plasmática por radioinmunoanálisis (RIA), lo que permitió distinguir las hembras que

human sounds) and sneezes (sudden, explosive breath exhalation from nose and mouth)^(20,21).

Female characteristics and management

Forty multiparous female goats, which had given birth in December 2001 and January 2002, were used. All of them were weaned when kids reached 25 d, and manually milked once daily. They were kept isolated from males three months before the beginning of the experiment and subject to extensive management. Three weeks prior to the experiment, does were placed in stables and fed until the study's conclusion 750 g (17 % CP) alfalfa hay plus 200 g commercial concentrate /d/doe, having free access to water and mineral salts. On February 23 and March 5 (-20 and -10 d prior to experiment onset, respectively) blood samples were taken to determine plasmatic progesterone through radioimmunoassay (RIA), to identify anovulatory individuals⁽²²⁾. One doe showed progesterone levels to diagnose ovulatory activity and was discarded, therefore a total of 39 anovulatory females were used. A further progesterone test was carried out just before the experiment to corroborate anovulation.

Sexually active male's vocalizations natural rhythm

Eighty percent of vocalizations of both bucks were recorded between 0800 and 2000 (Figure 1). Rhythm of vocalizations played to females was made up with the daily recordings of both males.

Male effect and vocalizations treatment

Three days prior to experiment's onset, females were set in four homogenous groups, in accordance with weight, body condition and milk production (Table 1). Stimulation began on March 15, 2002 at 1100. One group of females was exposed to a sexually active male; the second group was exposed to recorded male vocalizations; a third group was exposed to the blank noise of a virgin CD and the fourth was used as control, kept isolated with no treatment.

To provide sound in treatments 2 and 3, each pen was provided with two 100 w Mg and TW loudspeakers with 12" woofers hooked to a Gemini

permanecían anovulatorias⁽²²⁾. Una hembra mostró concentraciones plasmáticas de progesterona que reflejaron actividad ovulatoria y fue eliminada del experimento, y en consecuencia se usaron 39 cabras anéstricas. Antes de iniciar la estimulación, se colectó una muestra sanguínea más para corroborar que aún permanecían anovulatorias.

Ritmo natural de vocalizaciones del macho cabrío sexualmente activo

En cada uno de los dos machos, el 80 % de las vocalizaciones se registraron entre las 0800 y 2000 (Figura 1). El ritmo de vocalizaciones aplicado al grupo de hembras correspondiente, se construyó con las grabaciones de las vocalizaciones diarias de ambos machos.

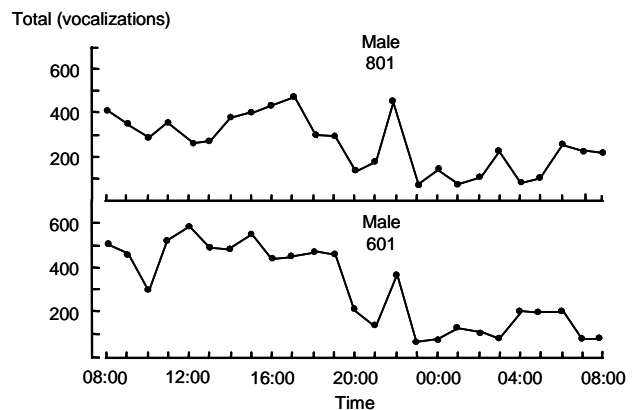
Efecto macho y aplicación de las vocalizaciones

Tres días antes del inicio del estímulo, las hembras se dividieron en cuatro grupos homogéneos, de acuerdo con su peso y condición corporal, y producción de leche (Cuadro 1). El 15 de marzo de 2002 a las 1100 inició la estimulación. Un grupo fue expuesto a un macho sexualmente activo; el segundo grupo fue expuesto a las vocalizaciones de macho reproducidas por discos compactos; el tercer grupo fue expuesto al ruido blanco que produce un disco compacto virgen y en el cuarto grupo las hembras permanecieron aisladas de machos cabríos y sin percibir vocalizaciones ni ruido blanco.

Para la reproducción de las vocalizaciones y el ruido blanco a partir de los discos compactos, se utilizaron para cada corral dos bocinas Mg y TW de 100 watts, con un woofer de 12 pulgadas. Un amplificador estéreo Gemini PVX 85 de 500 watts. Un reproductor de discos compactos Mini Hi-Fi Stereo System, tipo FW 21 / 21 de 60 watts. Las bocinas se colocaron de manera que el sonido se emitiera a la altura de la boca de un macho cabrío adulto, disimuladas para que pasaran inadvertidas para las hembras. Las vocalizaciones se aplicaron durante 14 días consecutivos, alternando cada 24 h los discos de cada macho para evitar que las hembras se habituaran a las vocalizaciones de un mismo macho. La reproducción del ruido blanco y la presencia del macho se mantuvieron durante el

Figura1. Ritmo natural de vocalizaciones durante 24 h de dos machos cabríos expuestos, durante la estación sexual (septiembre), a seis cabras ovariectomizadas inducidas al estro

Figure 1. Natural rhythm of vocalizations of two male goats for 24 h in the sexual active season (September) exposed to six ovariectomized females induced to estrus



PVX 500 w stereo amplifier and to a Mini Hi-Fi FW 21/21 60 w CD stereo deck. Loudspeakers were positioned to emit sound at the height of an adult male goat, and were disguised so as not to be noticed by the females in the pen. Vocalizations were repeated for 14 consecutive days, using the recordings of each male one day in and one day out, to prevent routine. Distance between groups subject to vocalizations, blank noise and control was more than 80 m with buildings in between to avoid the possibility of one group hearing sounds of the other treatments. The group in contact with males was placed at 1,500 m from the other three to avoid interferences.

LH release

On March 15, from 0700 blood samples were taken every 15 min in each group. Sampling was divided in two 4 h periods, one before (0700 – 1100 h) and one after (1115 – 1500) stimulation. All samples were taken in the jugular vein and placed in vacuum tubes with heparin, later these tubes were centrifuged at 2,500 xg for 20 min and plasma was kept at -15 °C until being processed to determine hormone

Cuadro 1. Peso corporal, condición corporal y producción de leche (promedio \pm SEM) de las cabras expuestas a diferentes estímulosTable 1. Body weight and condition and milk production (average \pm SEM) of female goats exposed to diverse stimuli

	n	Body weight (kg)	Body condition	Milk production (L)
Male	9	37 \pm 0.1	1.6 \pm 0.06	0.9 \pm 0.1
Vocalization	1	37 \pm 1.2	1.5 \pm 0.08	1.0 \pm 0.1
Blank	1	35 \pm 1.7	1.5 \pm 0.08	0.8 \pm 0.1
Isolate	1	36 \pm 1.7	1.6 \pm 0.10	0.8 \pm 0.1

mismo periodo. La distancia entre los grupos vocalizaciones, ruido blanco y aisladas fue de al menos 80 m y se les interponían edificios, lo que sirvió para impedir que las hembras de cada corral percibieran el sonido de los otros tratamientos. El grupo con macho se instaló a 1500 m de los otros tres grupos con el propósito de evitar que estos últimos percibieran las señales emanadas del macho.

Secreción de LH

El 15 de marzo, a las 0700 se inició un muestreo seriado de sangre para determinar la pulsatilidad de la LH. Se obtuvieron muestras cada 15 min en los cuatro grupos. El muestreo se dividió en dos periodos de 4 h: uno antes (0700 - 1100) y otro después de la introducción del macho o reproducción de las vocalizaciones y ruido blanco (1115 - 1500). Todas las muestras se obtuvieron por punción de la vena yugular en tubos al vacío con heparina; posteriormente se centrifugaron a 2,500 xg durante 20 min y el plasma fue conservado a -15° C hasta el momento de las determinaciones hormonales, las cuales se realizaron mediante RIA, según la técnica descrita por Pelletier *et al.*⁽²³⁾ validada para los caprinos por Chemineau *et al.*⁽²⁴⁾ y modificada por Montgomery *et al.*⁽²⁵⁾. La sensibilidad y el coeficiente de variación intraensayo fueron de 0.1 ng/ml y 11.5 %, respectivamente.

Determinación de la ovulación

La ovulación se infirió a partir de los niveles de la progesterona plasmática, índice de la fase luteal, durante un mes a partir del día del inicio del estímulo. Se obtuvieron muestras diariamente

content through RIA in accordance with a technique described by Pelletier *et al.*⁽²³⁾, validated for goats by Chemineau *et al.*⁽²⁴⁾ and modified by Montgomery *et al.*⁽²⁵⁾. Intra-assay sensibility and variation coefficient were 0.1 μ g/ml and 13 %, respectively.

Detection of LH pulses

LH profiles in the four groups were analyzed through the “pulsar” algorithm developed by Merriam and Wächter⁽²⁸⁾ to identify pulses. G parameters (number of standard deviations through which one or several hormone values surpass the base level to be considered a pulse) were (1) 3.799, (2) 2.597, (3) 1.900, (4) 1.500 and (5) 1.200 for one, two, three, four or five consecutive values, respectively. Baxter parameters, that describe the parabolic relationship between hormone concentration in a sample and the concentration's standard deviation were 0.05500 (b_1 interception y), 0.02500 (b_2 coefficient x) and 0.00039 (b_3 coefficient x^2).

LH pulse frequency obtained 4 h before and 4 h after stimulus onset was compared inside each group through Friedman's test. Comparison of pulse frequency between groups before and after was carried out through a U Mann-Whitney test. Pulse amplitude inside each group before and after stimulus beginning, was analyzed by means of a paired t test. Percentage of females which ovulated was compared through an exact Fisher test. Results are expressed as averages \pm average standard error. Statistical analyses were performed by means of the SYSTAT (v. 10 © SPSS Inc., 2000) software.

Cuadro 2. Frecuencia y amplitud de los pulsos de LH y porcentaje de cabras que ovularon al ser expuestas a diferentes estímulos

Table 2. Frequency and amplitude of LH pulses and percentage of ovulating does when exposed to diverse stimuli

Groups	n	LH pulses (n)		Amplitude (ng/ml)		Ovulation (%)
		Before	After	Before	After	
Male	9	1.0 ± 0.2 ^a	2.9 ± 0.3 ^b	1.3 ± 0.2 ^a	1.4 ± 0.2 ^a	100 ^a
Vocalizations	10	1.0 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.3 ^a	1.4 ± 0.2 ^a	0 ^b
Blank noise	10	1.0 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.3 ^a	1.0 ± 0.1 ^a	0 ^b
Isolated	10	0.6 ± 0.2 ^a	1.1 ± 0.2 ^a	1.1 ± 0.2 ^a	1.4 ± 0.4 ^a	0 ^b

^{ab} Values with different letters within rows and columns are different ($P < 0.05$). Values with different letters within ovulation columns are different ($P < 0.05$).

durante los primeros 10 días, y posteriormente cada dos días por nueve ocasiones. Todas las muestras se obtuvieron de forma similar a las de LH. La determinación de progesterona se realizó mediante RIA⁽²⁶⁾. La sensibilidad y el coeficiente de variación interensayo fueron de 0.1 ng/ml y 11 %, respectivamente. Hembras con valores de progesterona ≥ 0.5 ng/ml en dos o más muestreos consecutivos se consideraron que habían ovulado⁽²⁷⁾.

DetECCIÓN DE PULSOS DE LH

En los cuatro grupos de hembras se analizaron los perfiles de concentración de LH mediante el algoritmo “pulsar” para la identificación de pulsos desarrollado por Merriam y Wachter⁽²⁸⁾. Los parámetros G (el número de desviaciones estándar por los cuales uno o varios valores de la hormona deben exceder el nivel basal para ser considerados como un pulso) fueron $G(1)=3.799$, $G(2)=2.597$, $G(3)=1.900$, $G(4)=1.500$, y $G(5)=1.200$, para uno, dos, tres, cuatro o cinco valores consecutivos, respectivamente. Los parámetros Baxter, los cuales describen la relación parabólica entre la concentración de la hormona en una muestra y la desviación estándar (variación del ensayo) acerca de la concentración fueron 0.05500 (b_1 , intercepción y), 0.02500 (b_2 , coeficiente x) y 0.00039 (b_3 , coeficiente x^2).

Análisis estadísticos

La frecuencia de los pulsos de LH obtenidos 4 h antes y 4 h después de iniciado el estímulo se

RESULTS

LH pulse amplitude and frequency before and after stimulus commencement (male introduction, beginning of vocalization or blank sound and control) are shown in Table 2. LH pulse frequency after stimulation, was different between groups (Kruskal-Wallis; $P < 0.001$). LH pulse frequency before stimulation between groups showed no difference ($P > 0.05$). Afterwards, an increase in pulsatility ($P < 0.05$) was observed only in the group into which a male was introduced. No group showed modification of pulse amplitude before or after stimulation ($P > 0.05$). In Figure 2, LH secretion profiles of two females in each group before and after stimulation are shown. In Table 2 the percentages of females that ovulated after stimulation are shown. All the does (100 %) in group 1 (contact with male) ovulated, while none in the other three groups did so ($P < 0.001$). Eight out of nine females in group 1 showed an increase in plasmatic progesterone concentration ($> 0.5 \mu\text{g/ml}$) 5 and 6 d and 12 to 13 d after being exposed to male contact. The first increase in progesterone levels was for a very short time period and the second was normal. One female showed an increase in plasmatic progesterone only on day 12. In Figure 3, progesterone secretion levels of two females in each group are shown.

DISCUSSION

Results of the present study show that in anovulatory goats when placed in presence of a male, LH

comparó dentro de cada grupo mediante una prueba de Friedman. La comparación entre grupos de la frecuencia de pulsos antes y después se hizo mediante una prueba de U de Mann-Withney. La amplitud de los pulsos de LH antes y después del estímulo, dentro de cada grupo se analizó con una prueba *t* apareada. Los porcentajes de las hembras que ovularon fueron comparados por una prueba exacta de Fisher. Los resultados son expresados en promedio \pm error estándar del promedio. Los análisis estadísticos se efectuaron con el paquete estadístico SYSTAT (version 10 © SPSS Inc., 2000).

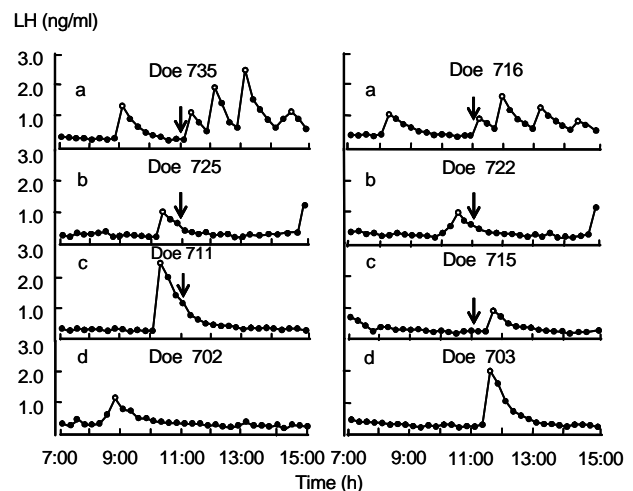
RESULTADOS

La frecuencia y amplitud de los pulsos de la LH antes y después de la introducción del macho o el inicio de las vocalizaciones o ruido blanco reproducidos con bocinas, y de las cabras aisladas se muestran en el Cuadro 2. La frecuencia de los pulsos de la LH después de la aplicación del estímulo correspondiente, fue diferente entre grupos (Kruskal-Wallis; $P < 0.001$). Antes de la aplicación del estímulo, la pulsatilidad de la LH fue similar entre los grupos ($P > 0.05$); posteriormente, un incremento ($P < 0.05$) en la frecuencia de los pulsos de LH se registró solamente en el grupo de hembras en contacto con el macho. En ningún grupo se modificó la amplitud de los pulsos antes o después del estímulo ($P > 0.05$). En la Figura 2 se muestran los perfiles de secreción de la LH de dos hembras de cada grupo obtenidos antes y después de la estimulación.

En el Cuadro 2 se muestran los porcentajes de hembras que ovularon después de la aplicación del estímulo correspondiente. El 100 % de las hembras del grupo con macho ovularon, mientras que ninguna ovuló en los otros tres grupos ($P < 0.001$). Ocho de nueve cabras expuestas al macho presentaron un incremento (> 0.5 ng/ml) en la concentración de progesterona plasmática los días 5 y 6 días y 12-13 después de ser expuestas al macho. La primera elevación de progesterona fue de corta duración y la segunda manifestó una duración normal. Una hembra presentó sólo un incremento de la progesterona plasmática el día 12 después de haber sido expuesta al macho. En la Figura 3 se muestran

Figura 2. Perfiles de la secreción de LH en cabras expuestas a diferentes estímulos: a (macho); b (vocalizaciones); c (ruido blanco) y d (aisladas)

Figure 2. LH secretion profiles of female goats exposed to diverse stimuli: a (male); b (vocalizations); c (blank noise) and d (isolated)



The arrow (\downarrow) shows the starting point of diverse stimuli. Empty circles (o) indicate LH pulses.

pulsatile secretion is stimulated and, as in this case, culminates in ovulation in 100 % of the females. On the other hand, recorded male vocalizations, did not stimulate LH pulsatile secretion, nor trigger ovulation. This was also the case in the blank sound treatment and in the control group. It is widely reported that in ewes and does^(7,19,29-31) most of the anoestrous females increase immediately LH secretion when in contact with males and ovulate within three days, as happened in this experiment. Results of the present study confirm that the better response to male effect is in physical presence of males^(4,12,32). However, these results are different than in other species^(14,33,34) in which male vocalizations stimulate sexual activity in anoestrous females. Like this, in sows, male vocalizations act in synergy with smell and touch signals in their immobilization to facilitate coitus⁽¹³⁾. In red deer male vocalizations contribute to advance the dates of oestrus and ovulation in hinds⁽¹⁴⁾. In fallow deer (*Dama dama*), there is a strong correlation between

los perfiles de la secreción de progesterona de dos cabras de cada grupo.

DISCUSIÓN

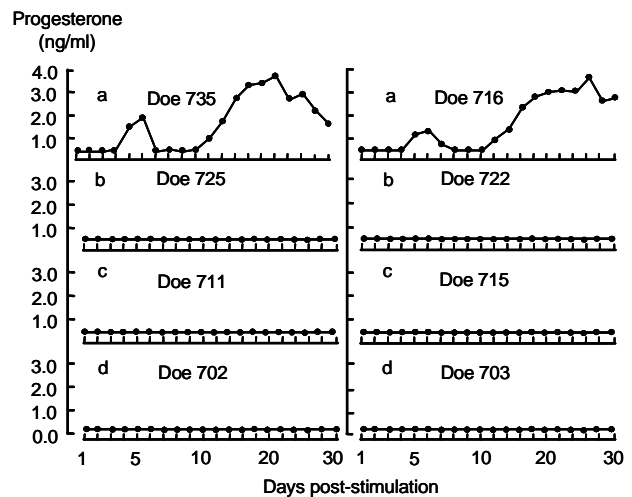
Los resultados del presente estudio demuestran que en las cabras anovulatorias la repentina introducción del macho estimuló la secreción pulsátil de LH que culminó con la ovulación en el 100 % de las hembras. En cambio, las vocalizaciones del macho, grabadas, no estimularon la secreción pulsátil de la LH, ni provocaron la ovulación en las cabras de este grupo. Lo mismo ocurrió con las cabras del grupo expuesto al ruido blanco y en el grupo aislado. En ovejas y cabras está ampliamente documentado^(7,19,29-31) que la mayoría de las hembras en anestro expuestas a los machos incrementan inmediatamente la secreción de la LH y ovulan en un lapso de tres días después del contacto con estos, como ocurrió en el grupo de hembras expuestas al macho de nuestro experimento.

Los resultados de nuestro estudio confirman que la mayor respuesta de las hembras al efecto macho se obtiene cuando están en presencia física del macho^(4,12,32). Sin embargo, no concuerdan con los resultados que demuestran en otras especies^(14,33,34) que las vocalizaciones de los machos estimulan la actividad sexual de las hembras anéstricas. En las cerdas, las vocalizaciones del macho actúan sinérgicamente con las señales olfativas y táctiles en la inmovilización de la hembra para facilitar la cópula⁽¹³⁾; en el ciervo rojo se ha demostrado que las vocalizaciones del macho hacen avanzar la fecha de estro y ovulación de las hembras⁽¹⁴⁾; estudios en gamo (*Dama dama*) han demostrado que existe una fuerte relación entre el tiempo que invierte el macho en vocalizar y su éxito en los apareamientos⁽³⁵⁾.

La ausencia de incremento en la secreción de la LH y de la ovulación en el grupo expuesto a las vocalizaciones de los machos, pudo deberse a que durante el proceso de limpieza de las grabaciones de las vocalizaciones para suprimir ruidos extraños, se hayan eliminado del sonograma algunos segmentos y armónicos de baja intensidad. Esto probablemente impidió a las hembras hacer un

Figura 3. Perfiles de secreción de progesterona en cabras expuestas a diferentes estímulos: a (macho); b (vocalizaciones); c (ruido blanco) y d (aisladas)

Figure 3. Progesterone secretion levels in female goats exposed to diverse stimuli: a (male); b (vocalizations); c (blank noise) and d (isolated)



the time spent by male in vocalizations and mating success⁽³⁵⁾.

The failure to increase LH secretion and ovulation in the group exposed to male vocalizations recording could be due to the fact that when the tapes were processed to eliminate foreign noises and sound, perhaps some low frequency sounds were erased and therefore females were not able to completely identify male vocalizations and therefore did not influence LH secretion and ovulation. In effect, in other contexts, as mother behavior, in studies carried out in emperor penguins^(36,37), dolphins⁽³⁸⁾, fur seals^(39,40) and ewes⁽⁴¹⁾, any alteration in vocalizations' sonograms inhibit recognition between individuals.

Females in this study evidenced low body condition and as has been reported by other authors^(42,43), that she goats in low body condition exposed to male effect, suffer a delay in the manifestation of the first estrus and also that the percentage of females in estrus diminishes, probably due to an

completo reconocimiento de las vocalizaciones de los machos, por lo que no tuvieron efectos sobre la secreción de la LH y la ovulación. En efecto, en otros contextos como el comportamiento materno, en estudios realizados en el pingüino emperador^(36,37), delfines⁽³⁸⁾, focas^(39,40), y ovejas⁽⁴¹⁾, se ha observado que la alteración en el sonograma de sus vocalizaciones impide el reconocimiento interindividual.

Las hembras del estudio tenían una baja condición corporal, y se ha observado que en cabras en esta condición expuestas al efecto macho, se retrasa la aparición del primer estro y se reduce el porcentaje de hembras en estro^(42,43) probablemente debido a que se aumenta la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisario al efecto inhibitorio del estradiol, lo que provoca una disminución de la secreción de la LH y una anovulación⁽⁴⁴⁾. Sin embargo, la proporción de cabras con baja condición corporal que muestran un comportamiento estral se incrementa al ser expuestas a machos inducidos a una intensa actividad sexual, como los utilizados en nuestro estudio⁽⁴⁵⁾. Esto sugiere que la actividad sexual del macho y el contacto físico con las hembras, son factores primordiales en la respuesta de las hembras al efecto macho^(7,46). En nuestro estudio es probable que las vocalizaciones aisladas no fueron un estímulo suficiente para provocar la secreción de la LH y la ovulación.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los resultados demuestran que en cabras anovulatorias, la aplicación de las vocalizaciones del macho emitidas durante el cortejo sexual, grabadas y reproducidas con discos compactos, no incrementó la frecuencia de pulsos de la LH, ni provocó la ovulación. Dado que las grabaciones de las vocalizaciones de los machos fueron sometidas a eliminación de ruidos extraños en el laboratorio de acústica, y las hembras en estudio presentaban una muy baja condición corporal, sería interesante determinar si en hembras bien alimentadas, la aplicación directa de vocalizaciones en vivo de machos puede estimular la secreción de la LH y la ovulación de las cabras anéstricas.

increase of sensibility of the hypothalamus – pituitary axis to the inhibitory effect of estradiol, which causes anovulation and a decrease in LH secretion⁽⁴⁴⁾. However, the proportion of does with low body condition who show estrous behavior increases when exposed to males induces to high sexual activity, as those used in the present study⁽⁴⁵⁾. This suggests that male sexual activity and physical contact with females, are paramount factors in female response to male effect^(7,46). In this study isolated vocalizations, most probably, were not a sufficient stimulus to set off LH secretion and ovulation.

CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

Results of the present study show that in anovulatory female goats, male vocalizations emitted during sexual courtship, recorded and reproduced in compact disks, did not either increase LH pulse frequency or induce ovulation. Due to the fact that male vocalization recordings were subject to a process to eliminate foreign noises and sounds in an acoustics laboratory, and also to that does in this study showed low body condition, it should be interesting to determine if in well fed female goats, *in vivo* vocalizations of males stimulate LH secretion and ovulation in anestrous does.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank several organizations and individuals for their support in this study. Most especially the laboratory of hormonal tests in the Station de Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA, Nouzilly, France, for having determined hormonal levels. The Instituto de Neurobiología, UNAM, Juriquilla, Querétaro, Mexico, and Andrea Paredes did a fine job in processing vocalizations; Norma Serafin and staff at the Centro de Investigación en Reproducción Caprina, UAAAN – Unidad Laguna provided technical assistance. Dolores López and Esther Peña were very efficient in management and secretarial work. Sr. Martín Rodríguez of the “Ricardo Flores Magón” Ejido, Torreón, Coahuila, Mexico, lent

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al laboratorio de determinaciones hormonales de la Station de Physiologie de la Reproduction et des Comportements del INRA de Nouzilly, Francia, por realizar las determinaciones hormonales. Al Instituto de Neurobiología de Juriquilla, Querétaro, de la UNAM y a Andrea Paredes por el procesamiento de las vocalizaciones. A Norma Serafín y a los miembros del Centro de Investigación en Reproducción Caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna, por su asistencia técnica. A Dolores López y Esther Peña por su eficiente asistencia secretarial y administrativa. Al Sr. Martín Rodríguez del Ejido “Ricardo Flores Magón”, del Municipio de Torreón, Coahuila, por facilitar los animales experimentales. Al programa de cooperación científica entre México (ANUIES-SEP-CONACYT) y Francia (ECOS; M02-A04).

LITERATURA CITADA

- Shelton M. The influence of the presence of the male goat on the initiation of oestrous and ovulation in Angora does. *J Anim Sci* 1960;19:368-375.
- Whitten WK, Bronson FH, Greenstein JA. Estrus-inducing pheromone of male mice: transport by movement of air. *Science* 1968;161(841):584-585.
- Craig JV. Socialization. In: Craig JV, editor. *Domestic animal behavior: causes and implications for animal care and management*. New Jersey: Prentice-Hall; 1981:110-125.
- Shelton M. Goats: influence of various exteroceptive factors on initiation of oestrus and ovulation. *Int Goat Sheep Res* 1980;1:156-162.
- Knight TW, Lynch PR. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1980;3:133-136.
- Cohen-Tannoudji J, Locatelli A, Signoret JP. Non pheromonal stimulation by the male on LH release in the anoestrous ewe. *Physiol Behav* 1986;36:921-924.
- Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987;17:135-147.
- Perkins A, Fitzgerald JA. The behavioural component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J Anim Sci* 1994;72:51-55.
- Rosa HJD, Bryant MJ. The ‘ram effect’ as a way of modifying the reproductive activity in the ewe: a review. *Small Rumin Res* 2002;45:1-16.
- Claus R, Over R, Dehnhard M. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim Reprod Sci* 1990;22:27-38.
- Cohen-Tannoudji J, Einhorn J, Signoret JP. Ram sexual pheromone: first approach of chemical identification. *Physiol Behav* 1994;56:955-961.
- Pearce GP, Oldham DM. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1988;84:333-339.
- Signoret JP. Rôle des différentes informations sensorielles dans l’attraction de la femelle en oestrus par le mâle chez les porcins. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 1974;14:747-755.
- McComb K. Roaring by red deer stags advances the date of oestrus in hinds. *Nature* 1987;330:648-649.
- Lenhardt ML. Vocal contour cues in maternal recognition of goat kids. *Appl Anim Ethol* 1977;3:211-219.
- Shackleton DM, Shank CC. A review of the social behavior of feral and wild sheep and goats. *J Anim Sci* 1984;58(2):500-509.
- Fabre-Nys C. Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. *INRA Prod Anim* 2000;13(1):11-23.
- Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpoux B. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male goats in subtropical Northern Mexico. *Theriogenology* 1999;52:727-737.
- Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Hernández HF, Duarte G, Vielma J, *et al*. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *J Anim Sci* 2002;80:2780-2786.
- Paredes A. Caracterización de las vocalizaciones emitidas por el macho cabrío durante el cortejo sexual y su participación en el “efecto macho” [tesis licenciatura]. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 2003.
- Paredes A, Delgadillo JA, Terrazas A, Véliz G, Flores JA, Poindron P. Characterization of male goats vocalizations during courtship [abstract]. *Encart of Abstracts of XXVIII International Ethological Conference; 2003 August 20-27; Florianópolis Brazil*. 2003:6.
- Thimonier J. Détermination de l’état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progesterone. *INRA Prod Anim* 2000;13(3):177-183.
- Pelletier J, Garnier DH, de Reviere MM, Terqui M, Ortavant R. Seasonal variation in LH and testosterone release in rams of two breeds. *J Reprod Fertil* 1982;64:341-346.
- Chemineau P, Gauthier D, Poirier JC, Saumande J. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol-17 beta and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat. *Theriogenology* 1982;17:313-323.
- Montgomery GW, Martin GB, Pelletier J. Changes in pulsatile LH secretion after ovariectomy in the Ile-de-France ewes in two seasons. *J Reprod Fertil* 1985;73:173-183.

End of english version

26. Saumande J, Tamboura D, Chupin D. Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationships with number of ovulations and embryos collected. *Theriogenology* 1985;23:719-731.
27. Chemineau P, Pellicer-Rubio MT, Lassoued N, Khaldi G, Monniaux D. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reprod Nutr Dev* 2006;46:417-429.
28. Merriam GR, Wachter KN. Algorithms for the study of episodic hormone secretion. *Am J Physiol* 1982;243:310-318.
29. Poindron P, Cognié Y, Gayerie F, Orgeur P, Oldham CM, Ravault JP. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiol Behav* 1980;25:227-237.
30. Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P, *et al.* Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol Reprod* 2000;62:1409-1414.
31. Véliz FG, Moreno S, Duarte G, Vielma J, Chemineau P, Poindron P, *et al.* Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. *Anim Reprod Sci* 2002;72(3-4):197-207.
32. Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in Australian cashmere goats. 2. Role of olfactory cues from the male. *Anim Reprod Sci* 1993;32:55-67.
33. Brockway BF. Stimulation of ovarian development and egg laying by male courtship vocalization in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Anim Behav* 1965;13:575-578.
34. Hinde RA, Steele E. The influence of day length and male vocalizations on the estrogen-dependent behavior of female canaries and budgerigars, with discussion of data from other species. In: Rosenblatt JS, Hinde RA, Beer C, Bunsel M, editors. *Advances in the study of animal behavior*. New York: Academic Press, 1978:39-73.
35. McElligott AG, O'Neill KP, Hayden TJ. Cumulative long-term investment in vocalization and mating success of fallow bucks, *Dama dama*. *Anim Behav* 1999;57:1159-1167.
36. Aubin T, Jouventin P. How to vocally identify kin in a crowd: the penguin model. *Adv Study Behav* 2002;31:243-277.
37. Jouventin P, Aubin T. Acoustic systems are adapted to breeding ecologies: individual recognition in nesting penguins. *Anim Behav* 2002;64:747-757.
38. Caldwell MC, Caldwell DK, Tyack PL. Review of the signature-whistle hypothesis for the Atlantic bottlenose dolphin. In: Leatherwood S, Reeves RR, editors. *The bottlenose dolphin*. New York, USA: Academic Press; 1990:199-234.
39. Charrier I, Mathevon N, Jouventin P. How does a fur seal mother recognize the voice of her pup? An experimental study of *Arctocephalus tropicalis*. *J Experim Biol* 2002;205:603-612.
40. Charrier I, Mathevon N, Jouventin P. Vocal signature recognition of mothers by fur seal pups. *Anim Behav* 2003;65:543-550.
41. Searby A, Jouventin P. Mother-lamb acoustic recognition in sheep: a frequency coding. *Proc R Soc Lond B* 2003;270:1765-1771.
42. Mellado M, Vera A, Loera H. Reproductive performance of crossbred goats in good and poor body condition exposed to bucks before breeding. *Small Rumin Res* 1994;14:45-48.
43. Urrutia J, Gámez G, Ramírez BM. Influencia del pastoreo restringido en el efecto macho en cabras en baja condición corporal durante la estación de anestro. *Téc Pecu Méx* 2003; 41(3):251-260.
44. Rhind SM, McMillen S, McKelvey WAC. Effects of level of food intake and body condition on the sensitivity of the hypothalamus and pituitary to ovarian steroid feedback in ovariectomized ewes. *Anim Prod* 1991;52:115-125.
45. Rivas-Muñoz R, Fitz-Rodríguez G, Poindron P, Malpoux B, Delgadillo JA. Stimulation of estrous behavior in grazing female goats by continuous or discontinuous exposure to males. *J Anim Sci* 2007;85:1257-1263.
46. Delgadillo JA, Fitz-Rodríguez, Duarte G, Véliz FG, Carrillo E, Flores JA, *et al.* Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reprod Fertil Dev* 2004;16(4):471-478.