



ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DE LA REGIÓN DE MURCIA

**LA REPRODUCCIÓN ESTACIONAL:
DESDE LA GLÁNDULA PINEAL
HASTA LA CABRA MURCIANO-GRANADINA**

DISCURSO DE INGRESO

COMO ACADÉMICO CORRESPONDIENTE DEL

DR. D. ANTONIO LÓPEZ SEBASTIÁN

Y

**DISCURSO DE PRESENTACIÓN
A CARGO DEL ACADÉMICO DE NÚMERO
ILMO. SR. D. JUAN ANTONIO CARRIZOSA DURÁN**

Murcia, 31 de mayo de 2018

EDITA:



ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA REGIÓN DE MURCIA

El texto de este volumen se corresponde con el original y correcciones efectuadas por los autores

ISBN:

Depósito Legal:

Impreso en España - Printed in Spain

Imprime: 42 líneas

42lineasdigital@gmail.com

ÍNDICE

Discurso de Presentación a cargo del Ilmo. Sr. D. Juan Antonio Carrizosa Durán	5
Discurso de Ingreso como Académico Correspondiente del Dr. D. Antonio López Sebastian:	
<i>La reproducción estacional: Desde la glándula pineal hasta la cabra murciano-granadina</i>	13
Introducción	17
Reproducción estacional para la conservación de la especie	19
El primer ensayo endocrino de estacionalidad en una raza ovina española	20
La reproducción estacional en los animales está controlada por la glándula pineal	24
Los ritmos biológicos en especies animales	25
Ritmos biológicos y secreción de melatonina en plantas	26
La glándula pineal en la historia	29
Fisiología de la glándula pineal	31
La glándula pineal controla la reproducción estacional a través de la secreción de melatonina	34
La reproducción estacional en ovinos	37
Modelo muflón-oveja para el estudio de los efectos del componente genético sobre la expresión de la estacionalidad reproductiva	40
Modelo caprino: Diferencias estacionales entre distintos componentes genéticos	43
Los primeros estudios de estacionalidad reproductiva en cabra Murciano-Granadina	46
La base del control de la reproducción en caprinos	52
Las señales socio-sexuales	55

Las feromonas: Vías neurales ligadas a las señales socio-sexuales y la secreción de GnRH	59
La respuesta al efecto macho en caprinos	61
Bibliografía	67

**DISCURSO DE PRESENTACIÓN DEL
DR. D. ANTONIO LÓPEZ SEBASTIÁN
A CARGO DEL ACADÉMICO DE NÚMERO
ILMO. SR. D. JUAN ANTONIO CARRIZOSA DURÁN**



Excmo. Sr. Presidente.

Excmos. e Ilmos. Académicos, distinguidas autoridades.

Sras. y Sres.

Compañeros y amigos.

Es tradición que el nuevo Académico que se incorpore sea presentado por un miembro de esta Academia, que a su vez conozca al aspirante. Aunque son varios los miembros de esta institución que le conocen, me ha correspondido el honor que mis compañeros me designen para esta labor, que espero no defraudar.

Cumpliendo con lo establecido en los Estatutos y Reglamento de la Academia de Ciencias Veterinarias, resaltaré los aspectos académicos y profesionales y posteriormente los aspectos de su personalidad, que le hacen digno de admiración por ser muy trabajador, competente, responsable, amable, alegre y que ha generado unas enormes amistades entre las cuales me encuentro. Es una excelente elección por parte de los Sres. Académicos, ya que acumula méritos suficientes y seguro que aportará sus conocimientos y capacidad de trabajo para engrandecer esta institución.

Antonio López Sebastián es natural de Madrid. Se licenció en la Universidad Complutense de Madrid en Veterinaria y posteriormente realizó en la misma Universidad el doctorado.

La actividad profesional la dedicó casi en exclusividad a la investigación, primero formándose como becario predoctoral en el Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas (INRA), en la Estación de Fisiología de la Reproducción de Nouzilly (Francia), durante dos años y medio. Posteriormente paso a ser investigador contratado por en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias en Madrid (INIA), ingresando posteriormente como funcionario en calidad de Técnico Facultativo Superior, como Investigador, como Científico titular y por último como Profesor de Investigación. En este

período fue coordinador de Departamento de Reproducción Animal y Director del mismo.

Su formación ha ido ampliándose desde su inicio con estancias en diversas Universidades extranjeras, entre ellas: 6 meses en la Universidad de West Virginia (USA), 3 meses en la Universidad de Florida (USA), 1 mes en la Universidad de California (USA) y 8 meses en distintos periodos en la Universidad West Virginia.

Como investigador ha participado en más de 39 proyectos de investigación, dedicados todos al estudio de la reproducción en pequeños rumiantes: ovinos, caprinos y especies silvestres de ambas géneros. Más de 15 proyectos han sido dedicados al caprino y un buen número de ellos a nuestra cabra Murciano-Granadina.

El desarrollo de todos estos proyectos ha generado una vasta información plasmada en más de 170 publicaciones científicas, siendo más de 100 de ellas publicadas en revistas de prestigio internacional con alto nivel de impacto.

Ha presentado 36 ponencias como invitado en distintos congresos y más de 130 comunicaciones en otros tantos congresos.

Ha dirigido 11 tesis doctorales y como docente ha participado en más de 79 cursos, muchos de ellos en el extranjero y como director de curso.

Ha mantenido una amplia actividad editorial como director científico y redactor en diversas revistas y ha participado activamente en gestión de la investigación siendo Coordinador del Área de Ganadería en la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP).

Como indica el Dr. López Sebastián en su Discurso de Ingreso, inicia sus investigaciones en ganado ovino con el objetivo de desentrañar los mecanismos que regulan la fisiología de la reproducción en nuestras razas y contribuir a mejora en la misma, objetivo que ha logrado.

A inicio de los años 90 empezó su actividad en el estudio del ganado caprino, en concreto con la Raza Murciana-Granadina, siendo la causa que nos encontremos hoy aquí y de la amistad que hemos venido manteniendo desde entonces e, igualmente, su cariño hacia esta tierra.

En la época mencionada la ganadería caprina se encontraba bastante denostada y el sector bastante deprimido, eran pocos los recursos que disponía, escasas las ayudas, ningún interés de las industrias farmacológicas, de nutrición o lácteas para ayudar a mejorar este sector y es “con estos mimbres” con los que inicia sus investigaciones para favorecer la mejora del sector caprino, una labor apoyada por el equipo del IMIDA y la Asociación de Criadores de la Cabra Murciana (ACRIMUR).

En el caso de la cabra Murciano-Granadina, en 1991 iniciamos el equipo del INIA y del IMIDA el primer proyecto de investigación de una serie que ha durado hasta la época actual y cuyo objetivo era el estudio de los parámetros reproductivos. Con este estudio vimos el comportamiento cíclico reproductivo de nuestra cabra a lo largo de las distintas estaciones, el uso del efecto macho en época desfavorable y tratamientos hormonales en nuestra raza para sincronizar celos y ovulaciones, así como el estudio de la pubertad En el discurso que hoy nos presenta el Dr. López Sebastián nos hace un pormenorizado estudio de la estacionalidad de las cabras españolas y en particular la Murciano-Granadina, estableciendo los aspectos que la regulan como la latitud y la genética. Igualmente hace un pormenorizado estudio de lo que se denomina “Efecto Macho” y los condicionantes para su realización con éxito en las ganaderías. Estos estudios, junto con otros posteriores han dado lugar a las aportaciones realizadas por este investigador a la mejora de la

cabra Murciano-Granadina y al resto de las razas caprinas españolas. Entre las aportaciones cabe destacar:

- Cuál es el período exacto del año que es más desfavorable la reproducción (Anoestro estacional), siendo las tasas de cubrición y fertilidad inferiores al resto del año. En este punto destacar que la cabra y macho de raza Murciano-Granadina tienen este anoestro y disminución de libido en machos menos intenso que el resto de las razas.
- Establecimiento del uso del “Efecto Macho” para mejorar la reproducción en el periodo desfavorable, convirtiendo esta técnica en herramienta indispensable en el manejo de la reproducción caprina.
- Se diseñaron los tratamientos de sincronización de celos y ovulaciones, las dosis hormonales y horas exactas para la realización de la inseminación artificial a tiempo fijo, en nuestras razas y considerando los factores medioambientales, como es la estación del año.
- Se establecieron métodos más económicos y sencillos de sincronización que posteriormente fueron patentados.
- Se crearon tratamientos de sincronización de celos y ovulaciones sin residuos en leche.
- Se diseñaron tratamientos de sincronización libres de hormonas para su uso en explotaciones ecológicas.
- Avances en la mejora de los rendimientos superovulatorios y obtención y recuperación de embriones caprinos.

Aparte de lo anteriormente expuesto, cabe resaltar el desarrollo de las técnicas utilizadas en transferencias de embriones. La primera salida de embriones de una cabra española al extranjero fue en 1999, una ONG creada por un sacerdote español en Recife (Brasil), cuyo objetivo era cuidar y formar a los denominados “niños de la calle”, se puso en contacto con el Departamento

de Reproducción de INIA con la finalidad de implantar embriones y conseguir crear un rebaño lechero para ayudar a la formación de los niños. El equipo del Dr. López Sebastián y el del IMIDA de Murcia realizaron la recuperación, congelación y transferencias en las cabras locales brasileñas. Como era la primera exportación de este tipo de material genético, fue muy complicado obtener los permisos, pasar los trámites aduaneros y otros problemas que tuvo que resolver el sacerdote para que aplicásemos los embriones y semen a las cabras.

Esta acción tuvo gran repercusión, y a raíz de esta hubo una continua demanda de embriones y semen, realizándose una segunda exportación e implantación in situ a otra ONG-Gobierno de la Baja California Sur (México) y otra a República Dominicana, esta última en colaboración con la Asociación de Criadores de Cabra Murciana (ACRIMUR). Estos trabajos han conducido a que nuestra raza sea conocida mundialmente y que en la actualidad exista una gran demanda de la misma en países como: México, Bolivia, Brasil, R. Dominicana, Venezuela y Cuba.

Otra actividad a destacar es su participación en el estudio de la actividad reproductiva y conservación de semen y embriones en especies silvestres, como es el muflón y la cabra montés. En esta última hemos colaborado en el estudio de fertilidad en nuestras cabras, aplicando espermatozoides congelados y vitrificados de machos monteses tras ser abatidos en cacerías y obtener espermatozoides del epidídimo varias horas después de muerto.

Como “pero” que hay que poner desfavorable en todas sus investigaciones en Murcia, es que la mayoría de los trabajos se realizaban en época desfavorable, coincidiendo con la primavera y en nuestra tierra con Semana Santa y Fiestas de Primavera con el consiguiente problema familiar.

Por último quisiera expresarles algunas características personales del Dr. López Sebastián. Está casado en primera y únicas nupcias con Coral, con

la que ha tenido un hijo y una hija, ninguno de los cuales ha seguido sus pasos en Veterinaria. Los tres han soportado su ausencia durante tantos viajes por España y el extranjero, aunque Antonio siempre tenía un momento, o dos, para contactar con ellos, ya que es muy familiar. Ha sido un gran deportista, fundamentalmente corriendo y participando en maratones hasta que las rodillas le dijeron ¡basta ya! En la actualidad hace ciclismo, natación y navegación. Es amante de las salidas al campo, que las aprovecha para otras de sus aficiones, recogida de setas y endrinas para hacerse su pacharán con aguardiente de Algezares.

Es un amante de la comida, lo prueba todo. Me impresionó cuando me relató lo que tuvo que comer en su viaje a regiones del interior de China, en los años 80 del siglo pasado y comisionado por el Banco Mundial, viendo sistemas ovinos y caprinos. Se considera un buen anfitrión y cocinero, siendo una de sus especialidades los arroces murcianos, entre ellos el caldero del Mar Menor, hace gala de que le sale mejor que a nuestro compañero Baltasar, aunque aún no lo hemos probado para comprobar este extremo. Otras actividades que realiza para relajarse con tanto trabajo es practicar bailes como chotis, salsa o tango, le da lo mismo. Para terminar, su última actividad que se ha integrado con entusiasmo es ser miembro de una coral en Madrid.

Creo que la disertación del recipiendario, su actividad académica, profesional y sus cualidades humanas, le hacen digno merecedor de esta distinción y seguro beneficiará a esta Academia.

En nombre de todos los académicos y en el mío propio, te damos la bienvenida a esta Academia.

He dicho.

**DISCURSO DE INGRESO COMO
ACADÉMICO CORRESPONDIENTE
DR. D. ANTONIO LÓPEZ SEBASTIÁN
LA REPRODUCCIÓN ESTACIONAL:
DESDE LA GLÁNDULA PINEAL
HASTA LA CABRA MURCIANO-GRANADINA**



Excmo. Sr. Presidente de la Academia de Ciencias Veterinarias de la Región de Murcia.

Excmos. e Ilmos. Académicos.

Compañeros, amigos, familia, señoras y señores.

Mis primeras palabras son de agradecimiento a los ilustres miembros de esta academia y especialmente a su presidente el Prof. Dr. Cándido Gutierrez Panizo, por aceptarme como académico correspondiente en esta prestigiosa Institución. Siento una enorme satisfacción al haber sido propuesto por ustedes para formar parte de esta ilustre corporación y especialmente tengo que dar las gracias a mi amigo, colega y compañero coparticipe de muchas horas de trabajo, al Ilmo. Académico D. Juan Antonio Carrizosa Duran, el cual ha sido capaz de cohesionar y animar nuestro grupo de trabajo con la inteligencia, simpatía, y visión positiva, que nos ha permitido superar muchas de las dificultades que hemos ido encontrando en nuestra trayectoria, a él también le debo su generosa actitud facilitando la colaboración de nuestros grupos, así como nuestra integración en las instituciones científicas y académicas de la región de Murcia .

A este grupo del IMIDA, con Baltasar Urrutia otro amigo y compañero de ruta, con magnífica e incansable capacidad de hacer fácil lo inviable, con Adolfo Falagán que con clara visión en aquel momento de las necesidades del sector caprino en la región, iniciamos los proyectos de investigación coordinados que se han mantenido durante casi ya 30 años, y a todos los que desde su posición, técnicos, ayudantes o colaboradores, de forma más o menos directa, con los que hemos compartido tantos momentos, quiero expresar mi mayor reconocimiento, mi agradecimiento y mi amistad, ya que muchos de los contenidos y resultados que vamos a resaltar hoy, forman parte de vuestro esfuerzo y aportación en esta andadura.

No quiero dejar de mencionar en mis agradecimientos a los dos investigadores que de forma más directa influyeron en mi formación, y sobre

todo en la activación de esos supongo yo circuitos entre neuronas, que te generan mentalidad de investigador, y una vez puesta en marcha no te abandonan en la carrera de obstáculos que supone la búsqueda del conocimiento científico: el Dr. Jean Saumande investigador del INRA en Nouzilly, supervisor de mi beca en Francia y director de mis primeros trabajos de la tesis doctoral, que me transmitió la importancia del rigor en el laboratorio y el trabajo experimental y el Prof. Keith Inskip de la West Virginia University, con quien mantengo viva la amistad y el encuentro, y me demostró la importancia de discernir en investigación, entre la rutina repetitiva de la prueba experimental y la verdadera búsqueda de lo original y desconocido, en base a la argumentación de nuevas preguntas y la calidad de las hipótesis.

También en un momento como este quiero recordar la figura del Prof. Dr. Tomas Pérez García, que como Jefe de Departamento en aquel recién formado INIA, supuso el apoyo necesario para que iniciara mi formación como investigador, su inquietud y claridad en cuanto a la importancia de nuestra formación fuera de España, permitió la formación de los grupos que posteriormente generamos las nuevas líneas de investigación del Departamento de Reproducción Animal.

Mucha de la información, datos y resultados de los que vamos a hablar hoy, se han podido generar gracias al trabajo de todo un grupo, el grupo de investigación del INIA de Fisiología y Tecnologías de la Reproducción en Pequeños Rumiantes, y del que quiero resaltar especialmente la figura de la investigadora Amelia Gomez Brunet, la cual inició conmigo su camino científico a raíz de su tesis doctoral en la estacionalidad de ovinos y posteriormente fue la más involucrada en esta línea de investigación, realizando excelentes publicaciones en sus últimos años, que desgraciadamente quedaron truncadas con su temprana desaparición.

Quiero agradecer finalmente a mi familia, a mis amigos, y especialmente a mi mujer, el apoyo y el cariño con el que han acogido siempre la dedicación,

los tiempos, y las particularidades de nuestro trabajo, y yo diría que a veces hasta las extravagancias de nuestra particular especialidad en el campo de la reproducción animal.

Para finalizar, me gustaría poner de manifiesto la importancia de que la sociedad no pierda la proximidad y la confianza en el entramado científico, como pieza fundamental de progreso y en el entorno más local y regional la resolución de los problemas que afectan directamente a la viabilidad de un determinado sector, es peligroso ese estado confortable de seguimiento a los planteamientos más pragmáticos y las pautas establecidas como intereses globales, y sin embargo la desconfianza hacia otras alternativas que nacen de propuestas más implicadas y relacionadas directamente con la problemática de un entorno determinado. Me parece muy válida la reflexión de Voltaire señalando en su conocida frase: La ignorancia afirma o niega rotundamente, la ciencia duda, como principio que debiera asumir la sociedad, para generar la suficiente confianza en las aportaciones que pueden provenir de sus propias estructuras y con ello el apoyo social e institucional que necesita el mantenimiento de la actividad científica.

INTRODUCCIÓN

La disertación en el discurso de ingreso como académico correspondiente en esta Ilustre Academia la he preparado sobre la línea de investigación que hasta ahora ha tenido un mayor recorrido en nuestro grupo del INIA de Fisiología y Tecnologías de la Reproducción en Pequeños Rumiantes, que también fue inicialmente el elemento para la conexión con el grupo de investigadores del IMIDA de Murcia, con los que hemos mantenido durante muchos años objetivos y proyectos comunes, razón por la cual y de todos los trabajos y resultados que fuimos desarrollando en el marco de la reproducción en la cabra Murciano-Granadina, estoy ahora en esta tribuna.

Los investigadores generamos nuestro trabajo sobre las hipótesis que planteamos, intentando dar respuestas a la cantidad de incógnitas que surgen en la medida que avanzamos en un determinado campo del conocimiento, y a mi uno de los procesos biológicos a los que he dedicado una buena parte de mi vida como investigador en reproducción animal, es este que forma parte de las características más llamativas e interesantes de la evolución de las especies animales, como es su adaptación a reproducirse en la época idónea del año, que les permite después tener sus crías en la estación en la que se dan las mejores condiciones medioambientales para su supervivencia, es decir el concepto de reproducción estacional.

La reproducción estacional afecta a todas las especies animales y cada una ha generado distintas estrategias que les permiten predecir esas épocas de bonanza, ya que habiendo coincidencia en la época de nacimientos, dado que los intervalos entre el periodo reproductivo y nacimientos son muy variables en función del tipo de reproducción, p. ej.: ovíparos y vivíparos, y aun dentro de los mamíferos, existen grandes variaciones en la duración de la gestación, hace que la estación reproductiva puede aparecer en distintas épocas del año para cada especie y área geográfica, sin que por esto varíe su eficacia reproductiva.

Aunque en primates y especialmente en humanos la expresión de la estacionalidad es muy reducida, debido a otros múltiples factores que afectan a su ciclo reproductivo, (dos grandes fisiólogos ingleses, Austin y Short en su tono de humor habitual lamentaban la pérdida de esta situación para nuestra especie, definiéndola como un excelente anticonceptivo natural), sin embargo, la reproducción estacional ha tenido efectos importantes en el manejo de las especies domésticas, ya que esta condición genera cambios en la oferta de algunos productos ganaderos a lo largo del año, lo que genera fluctuaciones estacionales de los precios, que dificulta el control de rendimientos en los productores, si bien se ha ido reduciendo en base a la utilización de tecnologías de control reproductivo, las más desarrolladas singularmente en los sistemas más intensivos de producción animal.

REPRODUCCIÓN ESTACIONAL PARA LA CONSERVACIÓN DE LA ESPECIE

Centrándonos en los mamíferos señalábamos que la duración de la gestación de cada especie implica diferentes intervalos entre la estación favorable reproductiva y la época de nacimientos, en las zonas climáticas templadas por encima de los 35° de latitud, la estación del año más favorable para los partos se establece en la mayoría de especies en el periodo de primavera. Así en el caso de las yeguas con 11 meses de gestación, la estación favorable reproductiva coincide con el final del invierno y primavera (llamados reproductores de días largos) mientras que en especies de pequeños rumiantes ovinos y caprinos con 5 meses de gestación la estación favorable reproductiva tiene lugar en el otoño (llamados reproductores de días cortos).

En Fisiología de la Reproducción Animal, resulta especialmente interesante el conocimiento de un sistema que a lo largo de la vida mantiene alternancia de periodos muy diferentes en su funcionamiento. Siendo un sistema que está operativo desde el nacimiento en cuanto a la actividad neuroendocrina del hipotálamo, su conexión con la hipófisis y el control gonadal por las gonadotropinas, sólo es plenamente eficaz en determinadas épocas del año, entendiéndose como tal la presencia de ciclos ovulatorios en las hembras y la producción espermática de calidad en los machos. Esta eficacia que se hace patente a partir de la pubertad, se pierde en las épocas desfavorables de reproducción, entrando los animales en un estatus endocrino similar al de la etapa prepúber, es decir de vuelta al estado exclusivamente operativo. Esta alternancia en los periodos de plena eficacia reproductiva es coincidente entre machos y hembras, que, aunque con mecanismos similares en el control endocrino si presentan ciertas diferencias en el periodo de iniciación del proceso, debido a la distinta duración de la gametogénesis entre ambos sexos.

En las especies silvestres es imperativo el establecimiento de una estricta reproducción estacional ya que de ello depende su supervivencia, en la medida que la interacción entre el medio y la especie mantiene el equilibrio del

sistema. Esto es especialmente aparente en las áreas geográficas de latitudes más septentrionales, donde los partos se tienen que concentrar en un periodo muy corto del año, lo que implica de igual forma que la estación reproductiva de estas especies sea muy reducida en algunos casos poco más de un mes al año.

La domesticación ha supuesto cambios muy significativos en estas variaciones estacionales de la actividad reproductiva, principalmente en los sistemas de producción más intensivos donde se han cambiado radicalmente las variables medioambientales, principalmente en los animales que permanecen confinados en recintos cerrados y donde la supervivencia de las crías está asegurada.

Aunque en pequeños rumiantes los sistemas de producción están asociados a una mayor relación y dependencia de los animales del medio ambiente, aún en estas especies, la domesticación a lo largo de muchos años ha influido de forma muy directa en la expresión de estos parámetros reproductivos, debido a la selección de reproductores dirigida hacia la cría con las hijas de aquellas hembras que manifiestan una mayor eficacia reproductiva en cualquier época del año. Aunque en general algunos de los caracteres reproductivos son poco heredables, las diferencias dentro del mismo género, cuando coexisten especies silvestres y domesticas como es el caso de ovinos y caprinos, son muy significativas como tendremos ocasión de comentar en algún próximo apartado.

EL PRIMER ENSAYO ENDOCRINO DE ESTACIONALIDAD EN UNA RAZA OVINA ESPAÑOLA

En los años 70 del pasado siglo en Europa, y a raíz de la descripción de las técnicas de radioinmunoanálisis que permitían determinar las bajas concentraciones de hormonas en sangre, alcanzando límites de detección (nanogramos y picogramos/ml) impensables hasta ese momento, supuso

la puesta en marcha en muchos laboratorios de reproducción en todo el mundo, de proyectos de investigación dirigidos al estudio de la estacionalidad reproductiva de sus razas locales.

En el caso de Francia, país donde la producción ovina y caprina tiene un peso económico y social relevante, siendo además la más tecnificada de Europa en los sistemas de producción de estas especies, coincidieron esas épocas con mi estancia predoctoral en el INRA de Nouzilly (Tours), donde en ese momento un elevado grupo de investigadores dedicaban su atención a estos estudios, tanto en machos como hembras y tanto desde perspectivas más básicas como su proyección más aplicada, en cuanto a desarrollo de tecnologías para controlar esa estacionalidad, dados los efectos en el mercado que supone la oferta de productos de estas especies leche y carne, con variaciones muy importantes según la época del año, lo que afecta de manera muy significativa a las fluctuaciones de precios en el mercado y por tanto a los rendimientos económicos de este tipo de industria.

A pesar de la importancia del tema, en España en ese momento no se había realizado aun ningún estudio de estas características y una vez que me incorporé como investigador a la plantilla del Departamento de Reproducción Animal del INIA en Madrid, se dieron las condiciones idóneas para comenzar a trabajar en esta línea de investigación.

En primer lugar consideraba que era un asunto de enorme interés por lo que se había ido demostrando en Francia en cuanto lo que suponían las mejoras en rendimientos cuando se aplicaban los resultados de estos estudios. Por otro lado en España no había hasta ese momento ningún estudio hecho ni de tipo experimental ni protocolizado, con base en criterios endocrinos, que diera una idea de las características reproductivas de nuestras razas ovinas y caprinas, y por último que en el Departamento disponíamos de un pequeño rebaño de ovejas Manchegas y de un laboratorio incipiente para radioinmunoanálisis que ya estaba dado de alta como instalación radiactiva.

Curiosamente las mayores dificultades para iniciar el trabajo de investigación fue el conseguir financiación para este proyecto ya que tanto desde el Ministerio de Agricultura, al que pertenecíamos en aquella época, y cuyos expertos en aquellos momentos tenían que dar su visto bueno, como por parte de otras autoridades académicas y de investigación de nuestro entorno, que basándose en el hecho de que se pudiera consumir cordero en España en cualquier época del año, consideraban que nuestras razas prácticamente no expresaban ninguna estacionalidad reproductiva y por tanto estos elementos no representaban un problema de la producción agraria a resolver, ni podían ser considerados como línea prioritaria de investigación por nuestro instituto.

La justificación para la financiación de este mi primer proyecto la conseguimos finalmente utilizando la información de las propias publicaciones mensuales del MAPA en sus anuarios estadísticos, con los que preparamos las curvas medias de los últimos cinco años en cuanto a oferta mensual de toneladas de canal de cordero lo largo del año. En la curva aparecía una clara fluctuación estacional con un máximo de oferta en el mes de mayo que casi duplicaba la del mes de noviembre, y esto significaba una plena coincidencia con el periodo de estación favorable de reproducción de esta especie. Como era lógico, esta curva de oferta tenía su correspondiente opuesta en la curva de precios que recibían los productores.

Con la incorporación de Amelia Gómez Brunet como becaria predoctoral que realizó estos primeros estudios de estacionalidad para su tesis y que luego fue la investigadora del grupo mas involucrada en esta línea de investigación, junto con las posibilidades de otras fuentes de financiación como fue el proyecto de Reproducción de Ovejas en Anastro financiado por el Comité Conjunto Hispano Norteamericano y el apoyo de Keith Inskeep de la Universidad de West Virginia con el que hice una gran amistad a raíz de este proyecto, amistad que aun mantenemos aunque recientemente se ha retirado, iniciamos los primeros estudios en estacionalidad en ovejas manchegas mediante la valoración de

los niveles plasmáticos de progesterona por radioinmunoanálisis, durante dos años consecutivos.

Los resultados de ese primer estudio basado en un diseño con hembras adultas aisladas de los machos, a las que se recogía muestras de sangre dos veces por semana para determinar niveles de progesterona y por tanto las variaciones cíclicas ovulatorias a lo largo del año, demostraron que las ovejas Manchegas presentaban un evidente periodo de anestro estacional, caracterizado por un inicio del periodo anovulatorio durante el mes de febrero y un reinicio de la actividad sexual ovulatoria durante el mes de julio. Es cierto que nuestros resultados, comparados con los estudios de estacionalidad de otras razas europeas, manifestaban una menor extensión del periodo de reposo sexual respecto de las otras razas, en las cuales el periodo se extendía desde marzo a septiembre. Además había signos de que la profundidad del anestro en esta raza (tema del que hablaremos después) no era tan patente como en las razas europeas ya que las manchegas algunas de ellas mostraban algún ciclo ovulatorio durante el periodo de anestro.

Estas diferencias en razas y áreas geográficas se hacían patentes en los diferentes sistemas de producción de carne ovina en Europa, mientras p. ej. en el Reino Unido con el mayor censo de ovino de carne europeo, no se planteaban otra producción que no fuera la basada en un sistema de un parto al año sin aplicación de tecnologías de control reproductivo, en España funcionaban bien los sistemas de tres partos en dos años, normalmente asociados a prácticas de manejo que permitían la reproducción con una cierta eficacia en las épocas más desfavorables, siempre que en el momento de la puesta en reproducción de las hembras, se dieran las condiciones idóneas en cuanto a nutrición, lactación o intervalos postparto.

LA REPRODUCCIÓN ESTACIONAL EN LOS ANIMALES ESTÁ CONTROLADA POR LA GLÁNDULA PINEAL

La secuencia lógica de la investigación una vez que se dispone de este tipo de información con campos tan abiertos, donde un hecho biológico tan fascinante como es el periodo de reproducción de cada especie está sujeto a variables como la zona, latitud, área geográfica, clima o raza, conduce dentro de las posibilidades experimentales de cada grupo de investigación a profundizar en el conocimiento de los mecanismos que los regulan y controlan. En este caso unas respuestas biológicas predecibles a través de señales medioambientales, nos llevan directamente al conocimiento de las funciones de la glándula pineal, esta pequeña estructura del sistema endocrino de apenas medio centímetro de diámetro, situada entre los núcleos geniculados en el tercer ventrículo encefálico y cuya función consiste en sintetizar y segregar una hormona denominada melatonina exclusivamente durante la fase oscura del día, lo que permite la traducción de la señal luminosa en un cambio endocrino de la noche y el día, de cuya interpretación dependen muchas variaciones de las funciones vitales.

En todas las especies animales desde las más inferiores en la escala zoológica hasta los mamíferos, aparece esta secreción endocrina que en algunos casos ni siquiera proviene de una estructura glandular si no de un conjunto de células secretoras de melatonina asociadas a la retina o incluso debajo de la piel donde pueden percibir los cambios luminosos. Este tipo de células se han podido encontrar también en especies animales desaparecidas hace millones de años, cumpliendo con una función muy precisa como es la traducción de los periodos de luz y oscuridad del día y la noche, como señal medioambiental más segura, estable y continua, en una señal endocrina determinada por las altas concentraciones plasmáticas de melatonina durante el periodo de oscuridad.

Esta señal endocrina permite marcar los ritmos circadianos noche y día, que en las zonas subtropicales y templadas y en función de la latitud van variando

en su duración según la época del año, lo que genera los ritmos circanuales en cuanto a la evolución de los periodos de incrementos y disminución de la duración de los días y las noches con el paso de las estaciones del año, un máximo de horas luz en el solsticio de verano y mínimo en el solsticio de invierno.

El fotoperiodo actúa así como el agente sincronizador más potente y exacto de los ritmos circadianos, y gracias a su traducción en secreción endocrina por la glándula pineal, es el elemento determinante de la reproducción estacional de las especies animales, en cuanto que la secreción de melatonina tiene capacidad de acción sobre las neuronas hipotalámicas donde reside el control endocrino del sistema reproductor.

LOS RITMOS BIOLÓGICOS EN ESPECIES ANIMALES

La cronobiología es la disciplina que estudia la naturaleza y función de los ritmos biológicos, significa actualmente una gran campo de la ciencia asociado al estudio de las variaciones funcionales de los organismos, que vienen marcadas por cambios en sus relojes biológicos, a su vez adaptados a las condiciones medioambientales en las que han evolucionado. Es una ciencia donde sus conocimientos parten de la función de determinadas estructuras nerviosas con capacidad de generar ritmos biológicos y estos a su vez ser traducidos en señales endocrinas que pueden tener receptores en cualquier órgano y tejido del organismo.

El fenómeno de la ritmicidad en las funciones biológicas se extiende a todos los seres vivos, manifestándose como una respuesta a los cambios cíclicos del medio ambiente, y bajo el control de los relojes biológicos cuya naturaleza puede variar según las especies. Así han sido descritas en todas las especies animales, como insectos, peces, anfibios, aves y mamíferos, y han sido imprescindibles en sus procesos adaptativos al medio ambiente, como respuestas anticipadas a estímulos temporalmente predecibles. Tal capacidad

de predicción a los cambios medioambientales de las estaciones del año, ha sido de la máxima utilidad para la supervivencia de las especies que han condicionado su existencia, asociada a procesos tan importantes como las migraciones o la capacidad de adaptación a la temperatura como la muda del pelo y plumaje y la hibernación, o como señalábamos antes la reproducción estacional con establecimiento de los periodos fértiles de machos y hembras asociados a una determinada época del año.

La presencia de ritmos biológicos ha sido puesta en evidencia en especies animales en los periodos evolutivos más antiguos. Signos de estos ritmos aparecen identificados en especies cuya presencia en la tierra data de hace millones de años, donde aparecen signos de organización temporal por ejemplo en el ritmo de crecimiento de la concha de algunos moluscos o en los anillos de crecimiento en esqueletos coralinos. En todos los casos, las hipótesis más aceptada del origen de estos ritmos biológicos postulan que son los ciclos de luz en primer lugar, aunque también los de temperatura los agentes más importantes de su aparición.

En los estudios de cronobiología, se han podido constatar mecanismos genéticos responsables de la organización de los ritmos biológicos, desde organismos tan simples como algas y hongos hasta otros más complejos como las moscas o el hámster y en todos ellos se ha demostrado la existencia de relojes biológicos neurales, capaces de generar una ritmicidad en los ciclos biológicos, sincronizada por el elemento más constante de la señal medioambiental como es la alternancia y duración de los periodos de luz y oscuridad.

RITMOS BIOLÓGICOS Y SECRECIÓN DE MELATONINA EN PLANTAS

La melatonina es un molécula pleiotrópica con muchas y muy importantes funciones en múltiples organismos, desde las bacterias hasta los mamíferos y también como se ha demostrado más recientemente en las plantas.

Hasta hace no mucho tiempo se consideraba que la melatonina era una hormona exclusiva de los organismos animales, pero desde hace aproximadamente cuatro décadas hay evidencias de que es una molécula presente y constitutiva de las plantas.

La multiplicidad de estas funciones de la melatonina es como consecuencia de la duplicidad en los distintos tipos de acciones, unas mediadas por receptor y otras que son receptor independiente, así como las acciones biológicas de sus metabolitos.

La biosíntesis en las plantas no está tan claramente definida como en animales ya que no se ha encontrado una enzima homólogo a la AANAT. La serotonina N-acetiltransferasa ó arilalquilamina N-acetiltransferasa es una proteína codificada por el gen HGNC que cataliza la conversión de serotonina en N-acetil serotonina, utilizando el cofactor acetil-CoA como donador de grupos acetilo. Siendo la penúltima enzima de la ruta de síntesis de la melatonina, se considera la principal enzima limitadora del flujo de la ruta, inactivándose en el momento en que los animales se exponen a la luz, lo que implica la ausencia de síntesis de melatonina durante el día.

Sin embargo, el hecho de que la melatonina se encuentre cada vez más en tejidos extrapineales y como señalábamos más recientemente en las plantas, significa que estos enzimas implicados en la síntesis de melatonina pueden haber tenido origen y caminos evolutivos diferentes.

Desde el descubrimiento de altas concentraciones de melatonina en los productos residuales después de la descafeinización del café, no han parado de encontrarse concentraciones de esta hormona en mayor o menor cantidad en todo tipo de plantas, desde organismos unicelulares como los dinoflagelados luminiscentes, a bacterias primitivas fotosintéticas, plantas verdes pastables, como raigrás, festuca o alfalfa, granos de cereales como trigo, maíz, cebada y arroz, plantas medicinales como es el caso de la presencia de melatonina en un

estudio de 108 plantas de la medicina tradicional china, algunas de ellas con altas concentraciones como es el caso del hipérico (*hipericum perforatum*).

La síntesis, concentración en la planta y funciones de la melatonina no son tan definidas ni están tan determinadas con la precisión que lo están actualmente en animales, pero cada vez son más los datos que apuntan hacia una doble función, la antioxidante y un protector de las agresiones medioambientales.

Se sabe por ejemplo que las concentraciones de melatonina se incrementan en las plantas como respuesta al estrés, por ejemplo, se detectó un rápido incremento en plantas que habían estado durante tiempo a temperatura ambiente interior y fueron trasladadas bruscamente a una temperatura de 4°C.

La mayoría de estos estudios apuntan hacia funciones relacionadas con la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo, el cual es el resultado de las agresiones internas y medio ambientales. Además de esta función antioxidante para proteger a las plantas contra diferentes formas de estrés la melatonina tiene otras funciones en los procesos relacionados con la estructura de su sistema a inmunitario.

Las concentraciones de melatonina en plantas que sirven de alimento para animales, especialmente las del consumo de recursos pastables, se han planteado como elemento de gran utilidad en diversos experimentos para mejorar la productividad, debido a sus efectos antioxidantes. También en algunos rumiantes se ha planteado la posibilidad de controlar el ciclo reproductivo mediante la alimentación de estos animales, con heno de plantas recolectadas en los periodos de máxima concentración de melatonina.

Las concentraciones de melatonina en algunas plantas, están sirviendo también para el desarrollo de muchos estudios en cuanto al efecto de productos naturales antioxidantes en los alimentos de consumo para humanos, algunos

como bebidas tan populares como es el caso del café, té, cerveza y vino. En el caso del vino aunque las uvas contienen melatonina, sin embargo se considera que su alto contenido se debe también a la gran aportación que proviene de las levaduras.

Todavía hay muchas cuestiones sin contestar sobre el papel nutricional de la melatonina en la salud humana, cuando se consumen estas plantas o alimentos con altas concentraciones de melatonina, por ejemplo la leche de vacas ordeñadas al amanecer que contienen toda la melatonina segregada durante la noche. Como más evidentes, parecen los efectos relacionados con su alto poder antioxidante así como la detoxificación de radicales libres. Actualmente algunas de las investigaciones se están dirigiendo hacia los estudios sobre efectos del consumo de café, en la frecuencia de aparición de patologías hepáticas, así como sus efectos como posible anticancerígeno.

LA GLÁNDULA PINEAL EN LA HISTORIA

Son especialmente interesantes las atribuciones que aparecen descritas en la función de la glándula pineal a lo largo de la historia y como los conocimientos y estudios desde los tiempos más remotos en los humanos, han estado más bien enmarcados en la línea de la especulación metafísica y los conceptos esotéricos.

La glándula pineal fue identificada por primera vez por Herófilo de Calcedonia y Erasístrato en el año 300 AC, curiosamente mucho antes de que lo fueran la mayoría de otros órganos endocrinos, asociándola ya desde el principio con funciones relacionadas con el flujo del pensamiento.

Galeno en el siglo II AC describió su anatomía llamándola Konarium (forma de cono de piña) de donde deriva su nombre actual. Aparte de otras descripciones anatómicas posteriores en el siglo XVI, fue en el siglo XVII cuando el matemático, filósofo y fisiólogo *René Descartes* padre del racionalismo,

utilizo la glándula pineal para dar su primera explicación sistemática del dualismo metafísico entre la mente y el cuerpo.

De estas relaciones entre la mente y el cuerpo nace su famosa hipótesis sobre el asiento del alma. Para la filosofía cartesiana este lugar, el *conarium* o *glandula pinealis*, tiene un enorme interés, calificándolo como el tercer ojo en su trabajo *De homine* de 1633, que le permite interpretar el lugar donde el cuerpo se une con el alma. Dentro de su concepción dualista expuesta en su obra *Las pasiones del alma* explica la razón de este punto como lugar de comunicación alma cuerpo, porque es la región del cerebro dentro del sistema nervioso que no está constituida por pares y donde puede residir el pensamiento único ya que consiste en una sola pieza. Elige pues para esta interpretación metafísica la glándula pineal como órgano nervioso profundo desparejado, que sería el único del cerebro que no está duplicado bilateralmente.

La noción del ojo pineal y tercer ojo aparece también en algunos tratados de filosofía en Asia y religiones hinduistas, como es el sexto chacra de la tradición védica, la ventana del Brahma que nombra el hinduismo o el ojo celestial que aparece descrito en la tradición china. Aparece también en el libro tibetano de los muertos y está considerada como uno de los centros principales en el yoga tántrico y otras disciplinas místicas como elemento de la percepción sutil y los estados de expansión de la conciencia. En el esoterismo la glándula pineal sería el vínculo entre los estados objetivos y subjetivos de la conciencia y la relación entre el mundo visible e invisible.

Otras interpretaciones en el mundo occidental atribuyen a la glándula pineal la posibilidad de la entrada del alma en el cuerpo a los 49 días de la edad fetal, en la teoría del desarrollo relacionada con la cábala, donde el número 7 aparece con un gran sentido místico, en este caso el número 49, 7x7, en la escalera del sueño de Jacob.

Los estudios y aportaciones sobre las funciones extra orgánicas de esta glándula no dejan de aparecer en la literatura. Recientemente las publicaciones de Rick Strassman atribuyen a la glándula pineal la síntesis de DMT (dimetil triptamina) a la que denomina "*The spirit molecule*" como un potente enteógeno endógeno. Esta molécula actuaría como sustancia psicodélica endógena y tendría sus efectos en momentos de gran importancia neurológica como psicosis, sueños, visiones o incluso sensaciones muy determinadas que solo aparecen en los momentos cercanos a la muerte. De hecho la DMT forma parte de las drogas psicotrópicas que proceden de extractos de plantas utilizadas por muchas culturas indígenas como alucinógenos (Ayahuasca). Todos estos datos evidencian que en el caso de los humanos la visión de esta glándula se haya establecido en un terreno mucho más allá de lo meramente relacionado con el establecimiento de los ritmos biológicos.

FISIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA PINEAL

La glándula pineal ejerce su función a través de la síntesis y secreción de melatonina y esta a su vez está relacionada con la sincronización de los ritmos endógenos, y el establecimiento de los ritmos circadianos.

El reloj biológico endógeno está genéticamente programado para una duración cercana a las 24 horas y está localizado en los mamíferos en el hipotálamo ventral, concretamente en el núcleo supraquiasmático. La actividad eléctrica de las neuronas de este núcleo, presentan ritmicidad circadiana y reciben aferencias principales desde los fotoreceptores de la retina a través del tracto retino-hipotalámico, del núcleo geniculado y neuronas serotoninérgicas de los núcleos mesencefálicos, y también desde la corteza y el tallo cerebral. Este núcleo tiene eferencias nerviosas hacia el hipotálamo y la glándula pineal.

La luz se transmite desde la retina por células ganglionares hasta el núcleo supraquiasmático a través del tracto retino-hipotalámico. La síntesis de melatonina se produce de forma circadiana, no se almacena y se libera

inmediatamente después de su síntesis. El núcleo supraquiasmático se proyecta hacia el núcleo paraventricular del hipotálamo y estas neuronas preganglionares inervan el ganglio cervical superior que inerva finalmente la glándula pineal. Por la noche las neuronas postganglionares simpáticas del ganglio cervical superior, estimulan la síntesis de melatonina mediante la formación del enzima n-acetil-transferasa, iniciándose la ruta de síntesis desde el triptófano a la serotonina y finalmente melatonina. Al amanecer la luz inhibe la síntesis de n-acetil-transferasa y con ello la secreción de melatonina se mantiene exclusivamente durante la noche, siendo esta secreción la que marca el ritmo circadiano y el ritmo circanual. Durante el proceso de síntesis en los pinealocitos, tiene lugar una secuencia continua de secreción sin que haya almacenamiento en las vesículas.

Al principio de la noche el incremento del neurotransmisor simpático postganglionar, noradrenalina, se une a los receptores adrenérgico β_1 y β_2 y forma serotonina (5-hidroxitriptamina ó 5-HT) a partir del triptófano. La serotonina requiere la presencia del enzima n-acetil-transferasa (NAT) para formar n-acetil-serotonina, este paso estaría inhibido durante el día ya que la activación del enzima solo tiene lugar durante la noche.

Finalmente la n-acetil-serotonina pasa a melatonina por la acción del enzima hidroxindolmetiltransferasa, (HOMT) formando así la indolamina, 5-metoxi-n-acetilriptamina o melatonina. Esta molécula fue aislada por primera vez a partir de glándulas pineales de bovino por Aaron Lerner en 1958, describiendo su estructura un año después.

Una vez liberada desde la glándula pineal la melatonina llega a la circulación general a través de la vena de Galeno, y al líquido cefalorraquídeo donde alcanza concentraciones 2 a 10 veces superiores a las de la circulación periférica.

La melatonina pasa al torrente circulatorio en forma libre y conjugada a proteínas, fundamentalmente albuminas, y también al líquido cefalorraquídeo atravesando la barrera hematoencefálica. La melatonina se libera hacia los tejidos periféricos a través del sistema circulatorio y al cerebro vía el líquido cefalorraquídeo.

Los receptores de melatonina se encuentran distribuidos por todo el organismo habiéndose descrito tres subtipos de receptores: MT1, MT2 y MT3. Son receptores de membrana acoplados a proteína G, con diferentes acciones algunas como la inhibición del AMPc como segundo mensajero. Los receptores aparecen en estructuras neurales y no neurales, y así se han asociado a múltiples funciones desde las relacionadas con el aprendizaje y memoria, los desórdenes afectivos, activación del sistema inmune, síndrome del retraso en la hora del sueño, atenuación de los radicales libres, potente antioxidante y estimulante de la hormona del crecimiento.

En animales y concretamente en los animales domésticos la importancia de las funciones de esta glándula a través de la secreción de melatonina, han sido fundamentalmente por su capacidad de control de la reproducción estacional de estas especies, regulando los ritmos circadianos y circanuales.

La evidencia de que la melatonina podía ser la señal que marcara el control neuroendocrino de la actividad gonadal, pudo ser determinada a partir de la identificación de receptores MT3 en el área preóptica y en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Estas zonas donde reside el centro generador de pulsos de GnRH estarían reguladas por la secreción de melatonina, que a su vez afectaría a la secreción de gonadotropinas hipofisarias y finalmente a la actividad gonadal y la eficacia reproductiva.

LA GLÁNDULA PINEAL CONTROLA LA REPRODUCCIÓN ESTACIONAL A TRAVÉS DE LA SECRECIÓN DE MELATONINA

Aunque la secreción nocturna de melatonina como traductor de la información fotoperiódica en un mensaje hormonal es similar en todas las especies en cuanto al mantenimiento del patrón día/noche y con los mismos efectos, existen diferencias entre especies, por ejemplo en el hámster y en el hombre el desencadenamiento de la secreción al anochecer es más lento, el pico de secreción se alcanza a mitad de la noche y a continuación va disminuyendo hasta el amanecer, sin embargo en pequeños rumiantes una vez establecido el máximo de secreción pocos minutos después del anochecer, los niveles plasmáticos se mantienen elevados con la misma amplitud de secreción hasta el amanecer, variando muy poco a lo largo de la noche lo que refleja una secreción episódica.

Cómo la secreción de melatonina controla la reproducción estacional de las diferentes especies ha sido motivo de múltiples estudios, planteándose diferentes teorías dado que partiendo de una secreción similar en todas las especies, sin embargo las preferencias estacionales de su reproducción varían enormemente así como las estrategias desarrolladas por cada una de ellas han seguido procesos evolutivos muy distintos, pero en todos los casos han permitido mantener su eficacia reproductiva y asegurar la conservación de la especie.

El fotoperiodo es el elemento sincronizador más potente del ritmo circadiano a través de la transducción de su señal en una secreción endocrina, y los cambios en esta secreción con periodos de incrementos y disminución de la duración de las noches, establecen un ritmo circanual marcado por las variaciones en el periodo de secreción nocturna de melatonina. Estas señales alcanzan finalmente los centros de control reproductivo que se establecen primariamente en la conexión hipotálamo-adenohipofisis a través de la secreción de GnRH, y después en el control gonadal por parte de las

gonadotropinas LH y FSH, afectando tanto a la función endocrina del ovario y testículo como a la gametogénesis.

Existen evidencias experimentales de que en las latitudes del planeta ubicadas en las zonas climáticas subtropicales y templadas, el ciclo reproductivo estacional de las diferentes especies es el resultado de la existencia de un ritmo endógeno circanual que no está directamente conducido por el fotoperiodo si no que realmente está sincronizado por él, a través del control del ritmo circadiano de la secreción de melatonina. Se ha demostrado que la melatonina actuando sobre la zona premamilar del hipotálamo controla la secreción pulsátil de las neuronas secretoras de LHRH, la menor duración del periodo nocturno con niveles elevados de melatonina durante los días largos de primavera y verano, provee la señal de la duración de estos días para sincronizar el ritmo circanual de actividad neuroendocrina. El acortamiento de los días entre el solsticio de verano y el equinoccio de otoño son las señales críticas que implican cambios en el establecimiento de los periodos para las especies donde se mantiene la actividad reproductiva en el final del invierno.

Es un proceso bien conocido que la actividad reproductiva, depende de la secreción pulsátil de hormonas liberadoras desde el hipotálamo como es la GnRH, lo que implica cambios en la secreción pulsátil de gonadotropinas como la LH desde la adenohipófisis. Una de las primeras cuestiones en el control de la función hipotalámica por parte de la glándula pineal, es en qué lugar se encuentran los receptores de melatonina en las diferentes áreas hipotalámicas. Los trabajos experimentales de microcirugía con la colocación de mini implantes de melatonina en diferentes zonas hipotalámicas, demostraban que en ovinos los implantes en el área mediobasal, estimulaban la secreción de LH, pero este efecto no se apreciaba cuando los implantes estaban ubicados en otras zonas neurales.

Sin embargo las neuronas secretoras de LHRH están en su mayoría localizadas en el área preóptica del hipotálamo y se proyectan hacia la

eminencia media, lo que significa la existencia de interneuronas, donde pueden jugar papeles muy significativos como intermediarios, diferentes tipos de neurotransmisores como la dopamina o la serotonina.

Se podría resumir que una compleja combinación de un ritmo endógeno circanual, conducido y sincronizado por el fotoperiodo a través de la secreción de melatonina y esta a su vez controlando la secreción pulsátil de GnRH en las neuronas del área preóptica mediobasal del hipotálamo, serían las responsables de los cambios de la actividad reproductiva de las diferentes especies.

Ahora bien, estos cambios en la frecuencia de la secreción pulsátil de LH hipofisaria que controlan la actividad gonadal en todas las especies, plantea una segunda cuestión también muy interesante, ¿qué mecanismos intervienen para que una misma señal endocrina pueda significar estímulos o inhibiciones de la actividad reproductiva según la especie? En otras palabras ¿por qué yeguas y ratones con duración de la gestación muy corta (20 días) o muy larga (11 meses) presentan su actividad reproductiva durante los días largos, mientras que especies como ovinos y caprinos con 5 meses de gestación tienen el periodo de máxima actividad reproductiva durante el otoño?.

Aunque actualmente aún no se han determinado los mecanismos que den respuestas solidas que expliquen estas diferencias entre especies, lo que sí es evidente es que la señal endocrina que proviene de un ritmo circanual de ascenso o descenso de horas luz/día, es una señal similar en todas las especies y que actúa como un mensajero químico capaz de sincronizar un ritmo reproductivo, sin que esta señal sea por si misma un estimulante o inhibidor de la actividad reproductiva en función de los periodos de mayor o menor secreción a lo largo de las estaciones del año, actuando por tanto solo como un elemento señalizador que puede ser utilizado en la generación de un ritmo reproductivo, según los diferentes procesos evolutivos de cada especie.

LA REPRODUCCIÓN ESTACIONAL EN OVINOS

Aunque para los pequeños rumiantes la explicación más simple del establecimiento de su estación reproductiva en los días cortos del año, sería el hecho de los efectos estimulantes de una mayor duración en la secreción nocturna de melatonina a partir del equinoccio de otoño y un proceso inhibitorio cuando se incrementa la duración de los días a partir del solsticio de invierno, la realidad de los mecanismos que hoy conocemos es mucho más compleja y presenta enormes espacios aun por descubrir, probablemente una de las principales aportaciones hacia la comprensión del proceso fue el establecimiento del concepto de refractariedad.

Cuando los animales son sometidos a largos fotoperiodos de luz constante de forma artificial, alcanzan una situación de refractariedad, es decir se hacen refractarios y no responden a ese fotoperiodo prevalente. Así los días largos, pasado un tiempo dejan de ser inhibitorios, de la misma forma que los días cortos dejan de ser estimulantes. La fotorefractariedad, la incapacidad de respuesta a largo plazo aunque se mantengan los días largos o días cortos de forma artificial, demuestra la existencia de un ritmo endógeno que está sincronizado por el fotoperiodo. En ovinos se ha demostrado que es suficiente la percepción de los días largos de primavera para que estos determinen el momento preciso del comienzo de la actividad sexual en el otoño, y de la misma forma la percepción de los días cortos del otoño, establecería la previsión del momento en que se va a producir el cese de la actividad cíclica ovulatoria de las hembras.

De esta forma se establecen de forma cíclica los periodos de actividad reproductiva, de forma similar en los machos y en las hembras, coincidiendo los periodos de reposo sexual de las hembras (anestro estacional) con los de los machos, si bien con características fisiológicas muy distintas en su gametogénesis. En los machos, aunque la espermatogénesis no cesa por completo, se aprecian cambios en el comportamiento sexual, una disminución

de la libido, así como una disminución del diámetro testicular asociados a los cambios en la secreción de gonadotropinas y una clara disminución de la secreción de testosterona. En algunas razas mas estacionales los incrementos de la secreción de testosterona a partir del verano y en el mes de agosto, inducen variaciones extremas en el peso testicular desde los 200 grs en marzo y la producción de 10^5 millones de espermatozoides por día, hasta los 300 grs en septiembre y producción de 5 veces más el número de células por día.

En el caso de las hembras el periodo de anestro se caracteriza por una parada de la actividad ovulatoria debido a la ausencia de ciclos ováricos con posibilidad de completar la foliculogénesis. Durante este periodo tampoco aparece la sintomatología del celo característica de los periodos previos a la ovulación.

La especie ovina está distribuida por todo el mundo con una enorme diversidad en cuanto a razas localizadas en diferentes áreas geográficas, que han evolucionado adaptándose a condiciones medio ambientales muy diferentes. Los diferentes estudios realizados en muchas de estas razas y localizaciones geográficas, demuestran que en las latitudes más septentrionales con climas y cambios estacionales mas extremos en la duración de los días según la estación del año, los animales se han adaptado mediante el establecimiento de periodos muy cortos de actividad sexual, prácticamente 2 o 3 meses al año, desde noviembre a enero asegurando la paridera en un periodo estacional favorable muy corto.

Siguiendo la línea de nuestra disertación tanto en lo que comentábamos al principio, como la secuencia que vendrá después en relación con la reproducción del caprino y concretamente de la raza Murciano-Granadina, la pregunta que nos hacemos en relación con estas diferencias de duración y profundidad del anestro estacional entre razas y localizaciones geográficas, es si estas diferencias vienen determinadas exclusivamente por las variaciones mas o menos extremas del fotoperiodo o existen componentes genéticos que

traducen el fotoperiodo de una forma determinada. Es decir, una oveja de raza Suffolk que ha permanecido en Escocia después de muchas generaciones y que manifiesta un carácter hiperestacional en su reproducción ¿se comportaría de la misma forma que la raza Manchega si la traemos a las condiciones de latitud de esta raza?.

Sabemos que la respuesta es no y que la raza Suffolk no llegará a tener las características de reducida estacionalidad que presentan las ovejas Manchegas, así como la raza Merina actualmente distribuida por todo el mundo, manifiesta un estacionalidad reproductiva menor que las razas anglosajonas con las que comparte hábitat desde hace muchos años. Sin embargo estamos lejos de poder caracterizar los elementos que expresan esas diferencias genéticas y precisar el alcance del componente genético en las variaciones de la estacionalidad reproductiva entre razas.

Hay algunos datos que indican algunas de estas diferencias genéticas, por ejemplo las concentraciones de melatonina tienen una alta heredabilidad ligada al tamaño y peso de la glándula pineal, y existen dentro de una misma raza diferencias entre individuos. También se da el caso de hembras que manifiestan espontáneamente algún ciclo ovulatorio durante la época desfavorable, cuando el resto del rebaño está en anestro profundo o el caso de machos que manifiestan una mayor libido o menores disminuciones del peso testicular en la época desfavorable.

Se han encontrado algunas diferencias entre individuos en alelos que afectan al receptor de melatonina M1, pero no aparecen en la literatura teorías más completas que hayan explorado sobre los mecanismos que explican la variabilidad genética de la estacionalidad de la actividad reproductiva en la oveja.

Por tanto no son solo las diferencias entre especies las que manifiestan esas diferencias en la interpretación de señales medioambientales que se

traducen en la estacionalidad reproductiva, si no que dentro de la especie también hay evidencias de distinta interpretación y efectos de la señal fotoperiódica, probablemente debidos a procesos evolutivos distintos y a mecanismos adaptativos que han generado cambios en el establecimiento de sus ritmos endógenos.

MODELO MUFLÓN-OVEJA PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DEL COMPONENTE GENÉTICO SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

La domesticación ha supuesto cambios muy importantes en la estacionalidad reproductiva dentro de una misma especie. El progreso genético que se ha alcanzado en base a la selección como reproductores de las hijas de aquellas hembras que manifiestan mejores tasas de fertilidad y prolificidad, han generado diferencias importantes dentro de un gran rango de razas que difieren notablemente en su fisiología reproductiva respecto de sus ancestros silvestres.

En el caso de la oveja es bien conocido que el muflón es su ancestro silvestre, habiendo permanecido en el área Mediterránea de Córcega y Cerdeña, en una latitud muy similar a la de la península ibérica, pero presenta características reproductivas que difieren de los tipos domésticos.

Volviendo a nuestros estudios en cuanto duración del periodo de anestro en ovejas Manchegas, sabemos ahora y tal como señalábamos antes, que esta expresión estacional de su reproducción, es el resultado de la sincronización que hace el ritmo circanual (señal fotoperiódica) propio de cada latitud, sobre el ritmo endógeno del componente genético de cada individuo. Recordemos que las ovejas Manchegas expresaban una estacionalidad reproductiva mucho más reducida que la de otras razas europeas ubicadas en latitudes más septentrionales y estas diferencias pueden alcanzar 3 o 4 meses. Mientras razas ovinas del norte de Europa manifiestan un periodo muy reducido de

actividad reproductiva desde noviembre a enero, en las ovejas mediterráneas se extiende desde febrero a julio. Estos ritmos reproductivos característicos de zonas templadas e incluso subtropicales, llegan a desaparecer en latitudes tropicales y ecuatoriales, en los cuales la ausencia de variaciones estacionales del fotoperiodo se traduce en el mantenimiento de su actividad reproductiva a todo lo largo del año.

Nuestras aportaciones en cuanto a la influencia del componente genético sobre la expresión de la estacionalidad, las realizamos sobre el planteamiento de un modelo experimental en el que comparábamos la duración y características de la estacionalidad reproductiva entre ovejas domésticas (en nuestro caso ovejas Manchegas) y muflonas, ambas con una latitud de origen similar (40°N) y mantenidas en el periodo de duración del experimento en Madrid en esa misma latitud.

Las muflonas (*Ovis orientalis musimon*) provenían del Parque Cinegético Experimental de El Hosquillo en la provincia de Cuenca, en donde se habían introducido en sucesivas ocasiones en la década de los 50 y 70 del pasado siglo, de núcleos procedentes de Córcega y por tanto se habían mantenido en esa latitud tanto en su origen primario como en su mantenimiento posterior en España.

Algunas de las particulares características reproductivas de las muflonas que ya habían sido observadas por los responsables de la reserva, se confirmaron cuando realizamos los estudios objetivos de estacionalidad en base a la determinación de las concentraciones de progesterona a lo largo del año.

Tal como se había señalado en algunas de las observaciones de campo, las muflonas manifestaban un periodo de actividad reproductiva anual que no coincidía ni con el momento de inicio, ni con la duración respecto de las ovejas domésticas. Mientras que en las ovejas el inicio de la actividad reproductiva se

establecía a principios del mes de julio, en pleno periodo de los días más largos del año, las muflonas iniciaban la actividad ovulatoria cíclica a mediados de octubre, pasado ya el equinoccio de otoño y mientras que el final de la estación reproductiva en las ovejas estaba muy sincronizado a principios de marzo, en el caso de las muflonas la entrada en el periodo de anestro estacional tenía una gran variación, desde el mes de febrero hasta el mes de abril, incluso las hembras adultas dominantes mantenían su ciclicidad hasta el mes de mayo.

Con estos resultados se demostraba la importancia del componente genético en la expresión de este ritmo reproductivo, ya que las diferencias que se habían demostrado entre razas de latitudes correspondientes al área mediterránea, con periodos de actividad cíclica muy superiores a los observados en otras razas de latitudes más septentrionales, se mantenían ahora entre la oveja doméstica y su ancestro silvestre, pero en este caso con latitudes de origen y de mantenimiento similares dentro del mismo área geográfica mediterránea.

Aunque son evidentes las influencias de este componente genético sobre la interpretación de la señal fotoperiódica, las bases que regulan estas respuestas y los mecanismos operativos que controlan la actividad reproductiva estacional son aun bastantes desconocidos. No hay duda que la variación en la respuesta no procede de la duración y amplitud del periodo de secreción de melatonina durante la noche, ya que es similar en ambos genotipos y por tanto no es la señal circadiana la que genera las diferencias entre razas. Cabría pensar que las diferencias entonces se establecen sobre los efectos que ha generado la domesticación, sobre la selección de determinados genotipos menos estacionales, como respuesta a una diferente transducción de la señal fotoperiódica.

Buscando con este modelo la expresión del ritmo endógeno para cada uno de los dos genotipos silvestre y doméstico, mediante el mantenimiento de luz constante de días largos durante dos años seguidos, pudimos apreciar como las ovejas domesticas con este tipo de fotoperiodo entraban en fase de

expresión libre de ciclos ovulatorios, donde no existía un patrón estacional y cada hembra expresaba individualmente periodos distintos de estacionalidad, unas veces con aparición de 2, 3 o 4 ciclos seguidos y otras con paradas o periodos de actividad continua sin ninguna similitud entre el grupo de hembras del experimento. Sin embargo fue muy llamativa la expresión de la estacionalidad en las muflonas sometidas al mismo fotoperiodo constante de días largos, que manifestaban periodos de actividad cíclica y anestro sin cambios significativos respecto de las hembras que permanecían en fotoperiodo natural. Era como si estos animales no sometidos a la presión de la selección por el hombre, poseyeran un ritmo endógeno fijamente implantado y sobre el cual un periodo de dos años de cambio de luz, no era suficiente para alterar su sincronización por efecto de los cambios en la señal lumínica medioambiental.

Las diferencias que aparecen por tanto entre el muflón y la oveja son debidas a una interacción entre el ritmo endógeno de su genotipo y el ciclo fotoperiódico anual. Parece evidente que los procesos de selección con tan largo recorrido en los ovinos domésticos, han tenido un efecto en los cambios de los ritmos endógenos reproductivos, que no tendrían una explicación fisiológica basada en cambios en la transducción endocrina, si no que vendrían determinados por las diferencias en la interpretación de la señal a nivel de las vías neurales.

MODELO CAPRINO: DIFERENCIAS ESTACIONALES ENTRE DISTINTOS COMPONENTES GENÉTICOS

La especie caprina es entre los animales domésticos la que está más expandida por todo el mundo y mantenida en condiciones de explotación más variadas y extremas, desde las zonas desérticas y tropicales, hasta las más frías de alta montaña, lo que ha supuesto procesos adaptativos muy exigentes para la supervivencia de la especie.

Como señalábamos en ovinos, en el caprino también son muy significativas las diferencias en estacionalidad reproductiva, que manifiestan las diferentes razas en sus diferentes zonas de explotación, con períodos muy marcados de larga duración del anestro en los animales localizados en latitudes mas extremas, y un periodo de actividad cíclica ovulatoria muy corto entre los meses de noviembre y febrero para el hemisferio norte.

En la especie caprina, también el ciclo estacional reproductivo es el resultado de un ritmo circanual no directamente conducido por el fotoperiodo, sino sincronizado por él a través del control del ritmo circadiano de secreción de melatonina. El acortamiento de los días en el paso del solsticio de verano al equinoccio de otoño provee de las señales críticas relacionadas con el momento del final de la actividad reproductiva en la mitad del invierno.

En nuestro grupo de investigación, realizamos experimentos de estacionalidad reproductiva similares a los del modelo mullón/oveja con cabras silvestres y cabras domesticas, con el fin de determinar también en esta especie los efectos del componente genético sobre la expresión de la estacionalidad reproductiva.

Utilizamos cabra domestica de raza malagueña y cabra montés (*Capra pyrenaica hispánica*) que provenían del Parque Cinegético Experimental de El Hosquillo, de la Sierra de Tejeda y Almirara en Málaga y el Parque Nacional de Sierra Nevada, así como ejemplares nacidos en las instalaciones de nuestro departamento.

La metodología experimental era la misma, en cuanto a determinación de los niveles de progesterona a lo largo del año en animales sometidos a las mismas condiciones ambientales de luz y temperatura, y los resultados demostraron de nuevo las grandes diferencias en la estacionalidad reproductiva de ambos genotipos, mientras la cabra montés presentaba solo 2 o 3 ciclos ováricos entre los meses de noviembre y enero, en las domesticas la actividad

cíclica ovulatoria se extendía desde mediados de septiembre a finales de febrero.

Las diferencias entre estos dos genotipos también se ponían de manifiesto en la expresión de su ritmo endógeno, cuando eran sometidos a fotoperiodos de luz constante de días largos, correspondientes al solsticio de verano con 16 horas de luz mantenidas a lo largo de dos años. Los resultados demostraban la existencia de ritmos endógenos reproductivos muy marcados en el caso de la especie silvestre que expresaban una estacionalidad poco dependiente del fotoperiodo al menos en el periodo del trabajo experimental.

En las cabras de raza malagueña en esta latitud mediterráneas, se pudo observar que el inicio de la actividad ovulatoria cíclica no está dirigido por la disminución de las horas luz del día a partir del solsticio de verano, y que el incremento de la duración de los días después de solsticio de invierno no es la señal requerida para el final de la estación reproductiva (inicio del anestro).

Tanto el principio como el final de la actividad reproductiva, se generan por un estado de refractariedad a los días largos inhibitorios y a los días cortos estimuladores. La refractariedad al efecto de los días largos (luz artificial) para inhibir y estimular en sus días respectivos, demuestra igualmente la existencia del ritmo endógeno circanual, tal como se había observado en la especie ovina.

Según los resultados de este modelo experimental en la latitud de 40°N, parece que las diferencias de estacionalidad entre los dos genotipos pueden estar relacionada al menos en parte, por el grado con el cual la refractariedad a los días cortos gobierna la transición hacia el anestro. La refractariedad a los días largos y cortos regula las transiciones en la estacionalidad reproductiva en cabras mediterráneas bajo condiciones de su fotoperiodo natural.

Actualmente algunas nuevas aportaciones sobre diferencias genéticas en estacionalidad reproductiva entre razas caprinas, van dirigidas hacia al

polimorfismo del gen del receptor de melatonina (MTNR1A), ya que los efectos del reconocimiento endocrino de la melatonina pasan a través del link entre esta hormona y el receptor de melatonina.

LOS PRIMEROS ESTUDIOS DE ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN CABRA MURCIANO-GRANADINA

Como se ha podido apreciar, si ya el establecimiento de un periodo determinado de actividad reproductiva estacional en cada especie y las variaciones según la latitud geográfica, tienen una compleja variabilidad, esta situación se complica aún más sobre el principio, de que no es el fotoperiodo el único que determina las fechas de inicio y final de la estación reproductiva, si no que esto obedece a un proceso de sincronización del ritmo endógeno reproductivo de cada genotipo, conducido por el ritmo circanual, a su vez generado por la señal circadiana de la secreción de melatonina.

En el caso concreto de una determinada raza en su zona de explotación, las características estacionales de ese genotipo vendrían entonces definidas por la sincronización de su ritmo endógeno según las condiciones ambientales en la región.

Los estudios sobre estacionalidad reproductiva de razas localizadas en diferentes latitudes, ponían de manifiesto estas diferencias. En razas europeas como la Alpina y Saanen, valoraciones objetivas de su estacionalidad mostraban en latitudes entre los 45°N y 48°N en Francia, unos periodos reducidos de actividad reproductiva desde noviembre a marzo, que se veían incrementados por su adelanto al mes de octubre cuando estas razas estaban localizadas en regiones más próximas a los 42°N.

Los estudios en latitudes mediterráneas con la cabra Serrana en Portugal a 41° y cabras locales griegas a 40° mostraban una reducción del 40% en el número de hembras cíclicas durante el mes de marzo, y entrada a

continuación en una situación de pleno anestro, hasta el periodo de transición hacia la actividad cíclica durante el verano, alcanzando el 100% de hembras cíclicas durante el mes de septiembre.

En las zonas subtropicales los estudios a 30°N muestran existencia de ciclicidad en cabras criollas desde agosto a febrero, e incluso en la proximidad de los trópicos entre los 26°N y 22°N, se ha descrito una marcada actividad reproductiva en el otoño y un periodo de parada ovulatoria desde abril a julio.

Solamente aparecen signos de actividad cíclica continua en latitudes más cercanas al Ecuador por debajo de los 15°N, pero incluso estas cabras cíclicas todo el año, que en el caso de Sudamérica proceden de introducciones de genotipos europeos a partir del descubrimiento, estudios en estas razas locales en el Nordeste de Brasil en latitud 3°N-4°N, mostraban que volvían rápidamente a su estacionalidad, cuando eran trasladadas a sus latitudes de origen en zonas templadas.

En nuestro grupo de investigación del INIA teníamos un gran interés en caracterizar la estacionalidad de las razas caprinas españolas más importantes y en este punto coincidimos con el grupo de investigación del CIDA de Murcia, donde a principios de los 90 se había incorporado el EMEGA, formando la Unidad de Caprino con su Granja Experimental y un rebaño de raza Murciano-Granadina.

Este grupo de investigadores de lo que luego ha sido el IMIDA, tenía muy claras las posibilidades de mejora en la productividad y rendimientos de esta raza, en base a un gran potencial de mérito genético, lo cual podía generar cambios importantes en un sector que hasta ese momento estaba en una situación de mínimos en cuanto a nivel tecnológico.

Hay que recordar que en el año 1991, en el artículo publicado por Adolfo Falagán sobre encuestas realizadas para determinar el estado de la producción

de la raza Murciano-Granadina en Murcia, los datos que caracterizaban el tipo medio del sistema de explotación hasta esas fechas, eran francamente precarios en cuanto que reflejaban ausencia de instalaciones modernas y adecuadas, menos de 100 hembras por explotación, pastoreo diario y utilización de subproductos para alimentación de baja calidad, ausencia de ordeño mecánico y tanque de refrigeración de leche, selección exclusivamente intra-rebaño sin criterios objetivos, así como falta de controles sanitarios exhaustivos y un largo etcétera. Sin embargo en el mismo artículo era muy llamativo, que en lo que respecta a ritmos de reproducción, muchos ganaderos apuntaban el interés de concentrar partos en septiembre ya que con ello conseguían lactaciones más largas y mejores precios de la leche de otoño-invierno.

Es evidente que si se conseguían parideras de septiembre, estas provenían de cubriciones del mes de abril y este mes a priori para toda el área geográfica mediterránea, se corresponde con el periodo de anestro más profundo según lo descrito en la literatura. También era evidente que aun habiendo en algunos casos cubriciones del mes de abril, la media de las explotaciones de la región si debían mantener mayoritariamente el ritmo estacional de cubrición en otoño, ya que tal como sucede en otros países europeos, la oferta de leche de cabra en los meses de primavera prácticamente duplicaban las de los meses de noviembre y diciembre.

¿Qué sucedía entonces en esta raza donde frente a una mayor oferta estacional de leche en primavera, (correspondiente a las cubriciones de la época favorable de reproducción en otoño) sí había indicios de presentar una fertilidad aceptable durante el periodo de anestro?.

Junto a estos aspectos relacionados con la capacidad reproductiva de la raza, el grupo de investigación del IMIDA se había propuesto hacer mejoras en todo el sistema de producción, desde el control lechero en animales selectos, desarrollo de la industria quesera, mejoras en la alimentación, control sanitario etc., y en ese sentido vimos grandes posibilidades de complementar

el trabajo de nuestros dos equipos y desarrollar objetivos comunes en la línea de desestacionalización de la producción de leche, siendo este uno de los elementos que más afecta a la rentabilidad de las explotaciones, por las diferencias en la oferta y por tanto de precios de la leche según la época del año.

Presentamos así un primer proyecto de investigación coordinado donde se complementaban aspectos fundamentales para mejorar los rendimientos productivos y nuevas estrategias de productividad, en el contexto de las convocatorias del Plan Sectorial de Investigación del INIA de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias.

Este primer proyecto que llevaba por título “Curvas de lactación, aptitud tecnológica de la leche para su transformación en queso y parámetros reproductivos de cabras Murciano-Granadinas en la región de Murcia en función de la época de partos”, fue aprobado y financiado entre los años 1993-95 y así se inició un periodo de estrecha colaboración en el trabajo de ambos grupos de investigación, que se ha mantenido a lo largo de todos estos años y donde hemos desarrollado proyectos con financiación tanto regional, como nacionales y europeos, algunos siguiendo esta línea de investigación y otros mas relacionados con la difusión de la raza, a través de la inseminación artificial y transferencia de embriones, pero siempre bajo el marco de la puesta en evidencia de su potencial productivo y las posibilidades de mejoras en los rendimientos de un sector, con enormes dificultades para su competitividad. Sin duda todos estos años de trabajo en equipo, nuestra implicación, nuestro compromiso, nuestros resultados y por supuesto nuestra amistad, son todos ellos razones por las cuales tenemos hoy la oportunidad de recuperarlos y presentarlos.

Como muchos de ustedes seguramente conocen ha habido un antes y un después desde la situación que apuntábamos en el año 1991, y afortunadamente el nivel tecnológico de la producción, la tipificación de los productos o el nivel de selección que se ha alcanzado en esta raza, estando hoy

a la altura en muchos casos, de los sistemas europeos más cualificados y todo ello en buena parte por el esfuerzo y tesón de muchos investigadores técnicos y productores en la región de Murcia.

Siguiendo nuestra línea de la disertación en cuanto a caracterización del potencial reproductivo y expresión de la eficacia reproductiva de la raza Murciano-Granadina, nuestros primeros resultados en los estudios de estacionalidad reproductiva en hembras no lactantes aisladas de los machos, mediante la determinación de los niveles de progesterona a lo largo del año, presentaban una clara estacionalidad reproductiva caracterizada por un cese de la ciclicidad en el 100% de las hembras durante el mes de marzo y una vuelta hacia la actividad ovulatoria cíclica también en el 100% de las hembras durante el mes de septiembre. Se identificaban claramente los periodos de transición de la actividad cíclica hacia el anestro durante el mes de febrero, con aproximadamente el 50% de las hembras cíclicas, teniendo lugar el periodo de transición hacia la actividad cíclica durante los meses de julio y agosto, con porcentajes similares de ciclicidad.

Hicimos también un estudio sobre anestro post-parto, para valorar la aparición de las primeras ovulaciones después del parto en hembras lactantes y si este estatus de lactación podía significar diferencias en estacionalidad respecto del estudio anterior, que se había realizado con hembras no lactantes. Los resultados fueron bastante similares y confirmaban los primeros estudios, ya que hembras paridas entre el 2 y el 6 de noviembre tenían su primera ovulación post-parto alrededor de 35 días después y por tanto alcanzaban el 100% de ciclicidad durante el mes de diciembre. A partir de aquí entraban en el periodo de transición hacia el anestro durante el mes de febrero y ninguna presentó ciclos sexuales en el mes de marzo.

Conforme a estos datos los resultados de estacionalidad que describimos para la raza Murciano Granadida en 38°N de latitud, mostraban una menor duración del periodo de anestro estacional respecto de otras razas europeas

en latitudes más septentrionales pero bastante similares a las que presentaban otras razas mediterráneas, siendo evidente que todas las hembras del estudio presentaban un periodo claro de anestro desde los meses de marzo a junio, sin que hubiera ninguna cabra que presentara algún signo de actividad cíclica ovárica ovulatoria en ese periodo, de forma similar al resto de razas.

Como secuencia lógica vino la pregunta que nos hicimos a continuación, ¿si hay coincidencia en buena parte de los periodos de anestro, entre la raza Murciano Granadina y otras razas europeas estudiadas, por qué en las explotaciones caprinas francesas con alto nivel tecnológico solo se consigue la reproducción en la estación desfavorable, si se aplican tratamientos hormonales de estimulación ovárica y sin embargo en los sistemas de explotación en Murcia, aplicando solo el manejo reproductivo, se consiguen resultados de fertilidad aceptables cuando las hembras se ponen en reproducción en el mes de abril en pleno periodo de anestro?.

Para contestar esta pregunta iniciamos en esta raza los trabajos experimentales para llegar a determinar un concepto de gran importancia en eficacia reproductiva de las hembras como es el concepto de profundidad del anestro. Es evidente que aunque dos razas, en dos latitudes distintas, manifiesten situación anovulatoria total durante el mes de abril, el hecho de que una de ellas pueda alcanzar la fertilidad en ese periodo, significa que el estatus endocrino que sostiene esa expresión anovulatoria en el ovario, tiene que ser diferente entre ambas razas y capaz de ser alterado bajo condiciones determinadas, por otras señales que afectan al eje hipotálamo-hipófisis-gónada.

Conforme a los resultados del primer proyecto continuamos la línea de investigación, con el fin de determinar la profundidad del anestro en esta raza en la región de Murcia y explorar nuevas metodologías de estimulación, alternativas a los métodos hormonales clásicos, como fue el caso de los últimos proyectos, incluyendo un proyecto europeo, donde estaban representadas las razas más importantes de producción lechera en toda el área mediterránea.

Éramos conscientes de que disponíamos de un buen material genético sobre el cual podíamos experimentar en nuevas metodologías capaces de estimular el ciclo reproductivo, en razas con bajo nivel de profundidad en el estatus endocrino del anestro estacional y de esta forma implantar sistemas más sostenibles de desestacionalización de la oferta de productos a base de implementar los métodos no hormonales que permiten la reproducción en cualquier época del año.

LA BASE DEL CONTROL DE LA REPRODUCCIÓN EN CAPRINOS

El control de la función reproductiva en los mamíferos se basa en un circuito endocrino, que parte del nivel neural hipotalámico desde el centro generador de pulsos de LHRH, y esta hormona liberadora, induce la secreción pulsátil de LH adeno-hipofisaria. En el caso de las hembras, donde se distinguen claramente las etapas de actividad ovulatoria cíclica, respecto de las etapas de anestro, se puede observar que la secreción pulsátil de LH es marcadamente distinta en ambas etapas, apareciendo en el anestro una baja pulsatilidad de LH que no supera 1 pulso de secreción cada 4-6 horas. Con estos bajos niveles de frecuencia de pulsos de las hormonas gonadotropas, la actividad folicular ovárica se mantiene, pero no alcanza el proceso terminal, es decir, hay crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos, pero solo hasta estadios tempranos que no corresponden al nivel de maduración característico del folículo preovulatorio. Estos folículos desde el punto de vista endocrino mantienen una escasa secreción de estradiol que no llega a inducir la sintomatología del celo y desde el punto de vista funcional no consiguen completar el proceso final hasta la maduración y liberación del ovocito durante la ovulación.

Esta situación característica de los periodos de anestro, es similar a la etapa prepúber cuando el sistema reproductor se define como un sistema que está plenamente operativo, pero no llega a ser eficaz. En el caso de los machos la situación es idéntica, con la diferencia de que en los periodos

correspondientes al estado anovulatorio de las hembras, los machos sufren un descenso de la actividad espermatogénica, en términos de concentración, volumen y calidad de los espermatozoides, así como descenso de libido, pero en las zonas templadas se observa que las especies domesticas pueden conseguir aceptables grados de actividad sexual, especialmente cuando se mantienen en proximidad o en contacto con hembras.

El principio endocrino aceptado hasta la fecha de cómo se desarrolla el proceso de transición desde el anestro o el estado prepúber, hasta el establecimiento de un ciclo sexual ovulatorio, esta soportado por la evidencia de que en el periodo de anestro, las neuronas hipotalámicas del área de la eminencia media secretoras de LHRH tienen una alta sensibilidad al “feed-back negativo” (retroalimentación negativa) de los estrógenos gonadales (estradiol) y en esta situación de bloqueo una baja frecuencia de pulsos de LHRH inducen un cierto nivel de crecimiento folicular ovárico, pero no suficiente para completar la foliculogénesis. A su vez, la escasa capacidad esteroidogénica de estos folículos pequeños y medianos, genera bajos niveles de concentraciones plasmáticas de estradiol, pero como señalábamos, debido a la alta sensibilidad del hipotálamo en la situación de anestro, estos niveles plasmáticos son suficientes para mantener un estado funcional del sistema muy reducido, que alcanza el nivel operativo, pero no funcional.

Los cambios que se producen en los periodos de transición hacia el primer ciclo ovulatorio, ya sea por el desarrollo corporal en las hembras prepúberes, o los efectos de los cambios fotoperiódicos en los adultos al final del anestro estacional antes señalados, influyen de tal forma que estas neuronas hipotalámicas pierden su alta sensibilidad al bloqueo generado por los esteroides gonadales, y en la medida que se reduce la inhibición, se incrementa la frecuencia de pulsos de LHRH y LH hipofisaria y de esta forma consiguen que la foliculogénesis alcance sus estadios terminales, formando folículos preovulatorios con alta secreción de estradiol, que son capaces de estimular por un feed-back positivo, la descarga fásica preovulatoria de LH

y con ello la ovulación. Este primer ciclo ovulatorio no es fértil, ya que no manifiesta síntomas de celo, siendo además un ciclo de corta duración y baja secreción de progesterona por parte de la primera estructura luteal. A este ciclo corto y después de la primera imprimación de progesterona, le sucede la actividad cíclica ovárica, con manifestación de celo y formación de folículos ovulatorios fértiles.

Se asume que esta capacidad de control y sus variaciones en función de la situación reproductiva, la consigue el hipotálamo gracias a la presencia en sus neuronas de receptores frente a diferentes señales tanto endógenas como medioambientales capaces de alterar su función endocrina. En el caso de los rumiantes y más concretamente en los caprinos, el hipotálamo es capaz de responder a tres señales mayores, que a su vez proceden de los tres elementos fundamentales de los que depende el establecimiento de los periodos de fertilidad en las hembras. Estos tres elementos estado nutricional, fotoperiodo y relación socio-sexual, serían capaces de alcanzar a sus receptores hipotalámicos gracias a su transducción en señales endocrinas, unas endógenas como las metabólicas y nutricionales, otras medioambientales a través de la secreción de melatonina y las socio-sexuales a través de las feromonas y su paso por el tracto olfatorio.

Estos tres factores interactúan, a veces de forma sinérgica a veces antagónica, pero la precisa naturaleza de estas interacciones y su significado en la consecución de un determinado estatus reproductivo todavía no está bien comprendida. La evidencia que podemos observar es que las condiciones favorables de sinergia entre estas tres señales, inducen un estatus endocrino de alta eficacia que consigue completar la función gonadal hasta la ovulación.

Hemos dedicado una parte de esta disertación a explicar como la señal medioambiental a través de la secreción nocturna de melatonina, marca los ritmos circadianos y así el fotoperiodo y su ritmo circanual, encuentran receptores hipotalámicos mediante los que se sincroniza el ritmo endógeno,

marcando los períodos de anestro y actividad ovulatoria cíclica propia de cada raza y latitud.

Del segundo elemento de carácter endógeno, forman parte los estados nutricionales que se traducen en señales endocrinas y metabólicas. La reproducción solo se lleva a cabo en condiciones de desarrollo corporal o condición corporal adecuadas, que permitan un establecimiento normal de la gestación y posterior lactación. En este marco las señales son de distinta naturaleza y están mucho menos identificadas, se han reconocido algunas que proceden del estatus metabólico, factores de crecimiento y hormonas que identifican cambios nutricionales o en la condición corporal. Hormonas como la insulina y nutrientes como la glucosa y ácidos grasos, han demostrado su capacidad de afectar a la actividad hipotalámica de la misma forma que factores de crecimiento tipo IGF. Mas recientemente se ha prestado una gran atención a las señales que provienen del contenido de tejido adiposo, en forma de hormonas denominadas leptinas. Estos mensajeros químicos a través de sus receptores, podrían afectar a los centros de control hipotalámico del hambre y la saciedad, habiéndose demostrado también su capacidad de alterar la frecuencia pulsátil de GnRH.

La tercera señal ampliamente estudiada en muchas especies de mamíferos y singularmente en ovinos y caprinos, es la que procede de las relaciones socio-sexuales, y esta fundamentalmente consiste en un conjunto de sustancias volátiles originadas en diferentes glándulas en la piel o que aparecen en orina y heces. Estas señales que son detectadas a través del tracto olfatorio son las denominadas feromonas.

LAS SEÑALES SOCIO-SEXUALES

Las especies animales utilizan de forma muy eficaz la comunicación a través de señales olfatorias donde se incluye el reconocimiento, la señalización, estimulación e inhibición, establecimiento de jerarquía, etc. Estos sistemas de

comunicación han sido identificados en la mayoría de las especies animales y las mayores posibilidades del trabajo experimental con roedores, han aportado una gran cantidad de información sobre los mecanismos de acción de este tipo de señales. Aunque las señales identificadas son principalmente las feromonas, no son las únicas ya que otros “inputs” en la comunicación como los visuales, táctiles o auditivos son también de gran importancia.

El sistema de señales feromona/olfatorio, influencia profundamente la función neuroendocrina y regula una gran variedad de comportamientos sociales, existiendo múltiples tipos de señales en lo que respecta al comportamiento, que permiten establecer el estatus de dominancia, la agresividad entre individuos o el reconocimiento de padres y crías mediante el aprendizaje olfatorio.

En lo que respecta a las funciones reproductivas, los aspectos más conocidos son aquellos que tienen que ver con la capacidad de inhibición o estimulación, se ha identificado por ejemplo la capacidad de inhibición del ciclo reproductivo entre hembras dominantes y subordinadas, así como la sincronización de ciclos entre grupos de hembras tanto en roedores como en primates.

Sin duda en el contexto de la aplicación de estos conocimientos a la producción animal, las señales de mayor importancia en control y manejo reproductivo son las de tipo estimulatorio, capaces de inducir la actividad reproductiva en las interacciones entre machos y hembras, son los conocidos como “efecto macho” y “efecto hembra”, que consistirían en el conjunto de señales capaces de ser detectadas por los diferentes órganos de los sentidos, a través de vías nerviosas aferentes y alcanzando el hipotálamo son capaces de alterar el estatus reproductivo, induciendo cambios en la actividad gonadal.

En ovinos y caprinos las señales de estimulación reproductiva han sido ampliamente estudiadas, estableciendo el concepto de bioestimulación, el más

conocido es el efecto de la presencia de los machos, “efecto macho”, el cual se caracteriza por la capacidad de los machos de inducir la ovulación en hembras en anestro, ya sea estacional, de lactación o superpuestos, después de un periodo de aislamiento entre hembras y machos. Este efecto de inducción y agrupamiento de los celos no aparece durante la estación sexual en hembras cíclicas o cuando los machos están permanentemente en contacto con las hembras.

También se ha identificado el “efecto hembra”, observándose como las hembras en celo inducen en los machos incrementos de la pulsatilidad de GnRH y a su vez LH y testosterona, así como el efecto hembra-hembra, en el cual las hembras en celo mejoran la inducción y sincronización de los ciclos en el rebaño. En este sentido las técnicas de bioestimulación ofrecen un potencial muy útil y práctico.

Este tercer tipo de señal socio-sexual con receptores hipotálamos, al que nos estamos refiriendo ahora, interactúa con las otras dos señales medioambientales y nutricionales y aunque puede ser estimuladora, en algunos casos puede generar la anulación del estatus conseguido a través de la predicción fotoperiódica o el estado nutricional. El grado en el cual interacciona el genotipo con el fotoperiodo, es de suma importancia, así como el control nutricional, ya que de ello depende su capacidad de respuesta a las señales socio-sexuales.

En rumiantes en estado silvestre, son muy patentes las observaciones de los procesos que siguen a la estimulación que los machos ejercen induciendo el ciclo reproductivos de las hembras. Los machos adelantan el inicio de los cambios endocrinos de control de la actividad reproductiva respecto de las hembras, con cambios marcados por el fotoperiodo, que se reflejan en el incremento de los niveles de testosterona durante ese periodo de precelo, donde se producen los combates entre machos y se establecen las jerarquías, así las primeras ovulaciones inducidas en las hembras después del periodo de

aislamiento de hembras y machos, coinciden con el mejor momento de calidad espermática de los machos.

En el ciervo rojo se ha observado que las hembras dominantes son las primeras en quedar gestantes ya que son las que primero responden al efecto macho. En muflón se ha determinado de igual forma, que el inicio del incremento de las concentraciones plasmáticas de testosterona tiene lugar en el mes de septiembre y esto precede en 45 días al comienzo de las ovulaciones en las muflonas. Esto permite que los estados previos del comportamiento agresivo para las luchas jerárquicas, den tiempo después al establecimiento de un ciclo espermatogénico completo (alrededor de 45-50 días) coincidente con el comienzo de la actividad cíclica ovulatoria en las hembras.

La cabra montés tiene una estación reproductiva muy corta, con el primer ciclo ovulatorio a principios de diciembre, las cabras viven separadas de los machos en grupos matriarcales, en los que una hembra dominante suele estar acompañada de las crías, hijas y nietas de los últimos años. La bioestimulación como interacción social, está caracterizada en esta especie por el efecto de la presencia de los machos, cuando estos se juntan y se integran con las hembras formando los grupos mixtos, después de haber establecido las jerarquías entre los machos.

Los machos por efecto del fotoperiodo inician los incrementos de testosterona en los meses de octubre y noviembre, siendo en este periodo cuando se producen los combates y el establecimiento de jerarquías. Siguiendo el ciclo de duración de la espermatogénesis (cerca de 60 días), durante el mes de diciembre hay plena coincidencia entre el inicio de la actividad ovulatoria de las hembras y alta capacidad y calidad espermática de los machos.

El contacto de las hembras con los machos después del periodo de separación, induce la ovulación en las hembras en los próximos 2-12 días, aunque

los estímulos son también visuales, táctiles y auditivos, los más significativos son los olfatorios, a través de las feromonas generadas en glándulas dérmicas, principalmente concentradas en las orbitas oculares y base de los cuernos. En cabras montés y según las observaciones de campo, está muy definido el periodo de inicio de la actividad sexual de las hembras una vez que se han formado los grupos mixtos. En años con otoños muy fríos o en los que se adelanta la oferta herbácea, se han identificado hasta 26 días de diferencia en la aparición de las primeras ovulaciones, cuando hay una mayor precocidad en la formación de los grupos mixtos.

LAS FEROMONAS: VÍAS NEURALES LIGADAS A LAS SEÑALES SOCIO-SEXUALES Y LA SECRECIÓN DE GnRH

En ovejas, las células críticas en cuanto a capacidad de cambios en la secreción de GnRH en respuesta a los inputs socio-sexuales, son las neuronas del hipotálamo mediobasal, pero se sabe poco de como las señales olfatorias y visuales llegan hasta esa región. En roedores la conexión del órgano vomeronasal con los bulbos olfatorios secundarios, continúa hasta las áreas del hipotálamo medial anterior, y en pequeños rumiantes se han determinado también esas vías aferentes y eferentes desde los bulbos olfatorios al resto de otras estructuras cerebrales.

Las feromonas se definen como sustancias químicas que son liberadas en la orina o heces o son secretadas por glándulas cutáneas y trasportadas por el aire (señales volátiles) son percibidas por el sistema olfatorio, teniendo capacidad de inducir respuestas endocrinas y de comportamiento en animales de su misma especie.

Las feromonas son las señales más potentes que pueden mediatizar el entorno social sobre la función reproductiva de muchas especies, siendo esta señal una primera imprimación que puede ser activa por si sola o asociada a otros tipos de señales. La señalización por feromonas puede tener más de

una función en cuanto alteración del comportamiento y pueden servir para atracción o para inducción de la actividad sexual.

En el caso de los machos, está demostrado que después de la olfacción ano-genital de las hembras, estos estímulos llegan al epitelio del órgano vomeronasal y desde este por vías aferentes alcanzan las neuronas del centro liberador de pulsos, alterando la secreción de GnRH.

El sistema olfatorio de los mamíferos tiene capacidad de detección de moléculas volátiles así como no volátiles, como son péptido y proteínas. Las neuronas quemosensibles están localizadas en el órgano vomeronasal (VNO) y en el epitelio del sistema olfatorio principal (MOE). Ambas poblaciones de neuronas están ubicadas en distintas localizaciones de la cavidad nasal.

La capacidad de acción de estas señales químicas alcanza desde el reconocimiento del olor de las crías, el reconocimiento social, aprendizaje neonato, transmisión de las preferencias en alimentos, aprendizaje social entre machos y hembras, etc.

En fisiología de la olfacción hay que hacer notar la existencia de dos sistemas distintos pero complementarios para la detección de estas moléculas, son los llamados sistema olfatorio principal y accesorio. Así el problema central en el conocimiento del mecanismo de acción de estas feromonas, es el papel que juega cada uno de ellos en la detección, información y respuestas del comportamiento a estas señales quimiosensitivas.

Las neuronas sensitivas del sistema olfatorio accesorio se encuentran localizadas en el órgano vomeronasal (VNO), localizado en la base del septum nasal y a través de sus conexiones con la zona medio basal del hipotálamo, sería el responsable de que estos estímulos olorosos provocaran los cambios neuroendocrinos que afectan al control de la reproducción.

La mayor parte de las investigaciones sobre feromonas han estado centradas en el órgano vomerosansal, habiéndose considerado el sistema olfatorio principal más como un analizador general, que detecta y diferencia entre señales químicas, que están presentes en el entorno físico y social de los individuos. Sin embargo más recientemente también se ha demostrado que en mamíferos habría feromonas que son detectadas directamente por el órgano principal (MOS) en las neuronas localizadas en su epitelio.

Ambos sistemas convergen en la zona de la amígdala en el procesamiento de las señales feromonas/olfato, ejerciendo así una función detectora y estimuladora hacia las vías aferentes del hipotálamo. Aunque son más evidentes las proyecciones desde el órgano vomeronasal hacia la zona anterior del hipotálamo y la secreción de GnRH, recientes estudios han demostrado que también estas neuronas reciben conexiones del órgano principal.

LA RESPUESTA AL EFECTO MACHO EN CAPRINOS

Después de un periodo de aislamiento, las cabras responden a la introducción de los machos con cambios inmediatos en la regulación hipotálamo-hipófisis-ovario, lo que se traduce en un incremento de la frecuencia de pulsos de LH y con ello el desarrollo folicular alcanza sus estadios finales, teniendo lugar la primera ovulación inducida entre 35-55 horas después de la introducción de los machos.

Este efecto, conocido como efecto macho, “male effect”, en el caso de los pequeños rumiantes es muy eficaz, provocando la ovulación en la mayor parte de las hembras puestas en reproducción, pero su efectividad viene determinada porque la situación de anestro de las hembras no sea excesivamente profunda, es decir, no se consigue ninguna respuesta al efecto macho si esta práctica de manejo reproductivo se pretende utilizar en razas y latitudes de muy marcada estacionalidad, durante los meses de anestro más profundo de primavera y verano. A esta limitación de la respuesta de las hembras en estos periodos y

latitudes, se une la escasa capacidad de estímulo de los machos en esas mismas épocas. La disminución del volumen testicular, los bajos niveles de testosterona, la escasa libido y todo ello asociado a una disminución en la secreción de feromonas, dependientes de la testosterona, no son suficientes para generar el grado de estímulo necesario para provocar el efecto macho.

Se ha definido como condición para que pueda tener lugar una respuesta adecuada, que la situación reproductiva de ambos géneros, alcance el nivel de machos activos y hembras receptivas. Esta situación, se da en las razas mas estacionales de latitudes templadas, en el periodo de transición del anestro a la estación reproductiva, que en el hemisferio norte se localizaría una vez iniciado el otoño.

De hecho la primera descripción de los resultados del efecto macho en pequeños rumiantes tanto en ovinos, Underwood (1944), como en caprinos Shelton (1960), fue realizada sobre la hipótesis de la efectividad de la introducción de los machos antes del comienzo de la estación sexual y de esa forma adelantar los periodos de cubrición fértil de esa temporada. Esta efectividad en respuestas ovulatorias en el mes anterior al inicio de las ovulaciones espontaneas en condiciones de anestro profundo, también se ha descrito en hembras en pleno periodo de anestro pero en razas y latitudes subtropicales cercanas a los 35°N donde la profundidad del anestro es manifiestamente más baja.

Las respuestas también se pueden mejorar, cuando se siguen pautas de buenas prácticas de manejo, que incluyen el aislamiento previo total de hembras y machos durante al menos dos meses en cuanto a olor y visión, así como numero de hembras por macho, tiempo de permanencia, cambios de machos etc., que comentaremos después.

Cuando se dan las condiciones adecuadas en cuanto capacidad de respuesta en las hembras en anestro (hembras receptivas) y la capacidad

de estimulación en los machos (machos activos), se produce una alteración inmediata del estatus neuroendocrino que implica una disminución de la sensibilidad del hipotálamo, al feed-back negativo de las hormonas esteroides ováricas. Esto provoca un incremento de la frecuencia de pulsos de GnRH, pulsos que puede pasar en pocas horas desde la situación de un pulso de secreción cada seis horas, hasta frecuencias de un pulso cada hora poco antes de la descarga preovulatoria de LH. Después de la entrada de los machos la descarga preovulatoria de LH, se puede producir a partir de las 30 horas y en la mayor parte de las hembras la primera ovulación se produce entre las 50-72 horas después de la introducción de los machos. Esta primera ovulación no va acompañada de sintomatología de celo y genera un cuerpo lúteo de baja calidad, con escasa producción de progesterona (ciclo corto) y tendrá una duración aproximada de 4-5 días.

Al cabo de este tiempo se produce la luteolisis y el inicio de una nueva fase folicular, que en este caso si genera un folículo preovulatorio de mayor tamaño con alta capacidad de secreción estrogénica y por tanto la ovulación va precedida de sintomatología de celo, el cual se presenta de forma muy sincronizada y característica solo del ganado caprino, en el intervalo medio de 7-9 días después de la entrada de los machos. Este ciclo ovárico, que se inicia alrededor de los 8 días después de la introducción, es plenamente fértil, ya que el proceso ovulatorio es normal así como la calidad del ovocito, y la secreción normal de progesterona segregada por el cuerpo lúteo tanto en amplitud como en concentración, asegura la supervivencia del embrión.

Desde el punto de vista de la optimización y del éxito de esta práctica de manejo reproductivo es de gran importancia seguir normas estrictas en el protocolo de trabajo, controlando factores como:

Edad de los machos: Machos adultos, entre 2 y seis años de edad, en buena condición corporal, desarrollo testicular, y en los que no haya habido tratamientos sanitarios previos.

Aislamiento: El aislamiento entre machos y hembras debe de ser total, fundamentalmente olor, pero no solo, también visión, oído o contacto. Los locales deben de estar suficientemente separados a más de 100 metros durante al menos 2 meses.

Relación macho/hembra: La relación optima es de 1 macho por cada 10 hembras y no debe de superar la relación 1: 15.

Tiempo de contacto: El contacto debe de ser efectivo y permanente con los machos circulando libremente entre las hembras sin ningún tipo de restricción.

Cambio de machos: Dada la mayor concentración de aparición de celos en las hembras al anochecer y amanecer conviene hacer cambios de machos cada 24 horas. Estos cambios ayudan también a conseguir mejores respuestas con machos más activos, en el momento que se produce la entrada en los lotes de hembras.

La respuesta al efecto macho de la cabra Murciano-Granadina es altamente eficaz en el periodo de anestro, lo que demuestra que aunque en esta cabra aislada de los machos exprese un anestro estacional como otras razas mediterráneas en esas latitudes, sin embargo, ese anestro es lo suficientemente poco profundo, como para que el estatus neuroendocrino que lo soporta se rompa con facilidad por este tipo de bioestimulación. A esta eficacia en la respuesta de las hembras, se suma que los machos de esta raza se encuentran también suficientemente activos en la estación desfavorable, y aunque con una actividad endocrina testicular inferior propia de esta época pueden generar el estímulo necesario.

En esta raza, a diferencia de lo que sucede en otras razas lecheras mediterráneas, se ha demostrado que no es necesaria la aplicación de otro tipo de tratamientos para conseguir un cierto grado de desestacionalización

antes de someter a las hembras al efecto macho. Así en otras razas europeas se hacen necesarios los tratamientos lumínicos o administración de implantes de melatonina, tanto en machos como en hembras, para alterar la situación de anestro profundo y conseguir respuestas al efecto macho.

Uno de los mayores logros del trabajo de colaboración entre nuestros grupos de investigación de Murcia y Madrid es haber podido demostrar en esta raza, tanto de forma experimental como en la práctica de las explotaciones, que es posible en esta región desestacionalizar la producción, manteniendo la oferta de leche con pocas variaciones a lo largo del año, gracias a unos sistemas de manejo reproductivo, que permiten la reproducción en cualquier época del año, sin recurrir a los tratamientos hormonales.

Con el proyecto europeo denominado con el acrónimo Flock-Reprod, “Hormone-free non seasonal or seasonal goat reproduction for a sustainable European goat-milk market” donde participaban centros de investigación y asociaciones de ganaderos de los 7 países europeos del área mediterránea con mayor importancia en producción de leche de cabra y que incluían 11 razas distintas, pudimos dejar constancia después de años de trabajo y resultados de fertilidad en miles de hembras manejadas de todas estas razas, que solo la Murciano-Granadina tenía una respuesta eficaz al efecto macho en plena época desfavorable y no necesitaba los tratamientos lumínicos previos para su desestacionalización, como intervención previa a la bioestimulación, tal como sucede en el resto de razas europeas. Dentro del contexto de este proyecto de protocolos de control reproductivo libres de hormonas, quedaron reflejadas en las publicaciones de sus resultados, tanto en las guías prácticas como videos ilustrativos para el manejo, las posibilidades de nuevas tecnologías más limpias y sostenibles, cuando se dispone de componentes genéticos bien identificados, con menor carácter estacional en su reproducción.

He dicho.



BIBLIOGRAFÍA

Alonso de Miguel M. 1979. El empleo de la presencia de machos como técnica de inducción y sincronización de celos durante el periodo de anoestro estacionario en la oveja "Rasa Aragonesa". En: Symposium Reproducción de Ovinos y Bovinos. INIA. I. 83-94.

Amoah EA, Gelaye S, Guthrie P, Rexroad Jr CE. 1996. Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *J. Anim. Sci.* 74: 723-28.

Almeida G., Pelletier P. 1988. Abolition of seasonal testis changes in the Ile-de-France ram by short light cycles. Relationships with the LH and testosterone releases. *Theriogenology*. 24: 681-691.

Asher, G.W., Monfort, S.L., Wemmer, C., 1999. Comparative reproductive function in cervids: implications for management of farm and zoo populations. *J. Reprod. Fertil.* 54 (suppl), 143-156.

Auldish MJ, Turner SA, McMahon CD, Prosser CG. 2007. Effects of melatonin on the yield and composition of milk from grazing dairy cows in New Zealand. *J. Dairy Res.* 74: 52-57.

Barrell, G.K., Thrun, L.A., Brown, M.E., Vigué, C., Karsch, F.J., 2000. Importance of photoperiodic signal to entrainment of the circannual reproductive rhythm of the ewe. *Biol. Reprod.* 63: 769-774.

Berthelot X., Laurentie M., Ravault JP, Ferney J., Toutain PL. 1990. Circadian profile and production rate of melatonin in the cow. *Dom. Anim. End.* 7:315-322.

BonDurant RH, Darien BJ., Munro CJ, Stabenfeldt GH, Wang P. 1981. Photoperiod induction of fertile estrus and changes in LH and progesterone concentrations in yearling dairy goats (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fert.* 63: 1-9.

Bossis N., Caramelle E., Cremoux R., Guinamard C. 2008. Maîtrise de la saisonnalité: produire du lait au bon moment pour reprendre aux attentes des entreprises et éleveurs. Compte rendu 120855016. Collection resultat. Institut de l'élevage. France. 44 pp.

Bronson, F.H., 1989. Seasonal Strategies: Ultimate Factors. In: Bronson FH (Ed). *Mammalian Reproductive Biology*, London, pp. 28-59.

Carlomagno G, Nordio M, Chiu TT, Unfer V. 2011. Contribution of myo-inositol and melatonin to human reproduction. *Europ. J. Obst. Gyn. Reprod. Biol.* 159: 267-272.

Carrizosa J.A., Coloma M.A., Toledano A., Urrutia B., Lopez Sebastián A. 2013. Tecnologías asociadas al uso de la inseminación artificial en ganado caprino. *Tierras Caprino.* 4: 26-33.

Castel J.M., Ruiz F.A., Mena Y., Sanchez M. 2010. Present situation and future perspectives for goat production systems in Spain. *Sm. Rum. Res.* 89: 207-210.

Chemineau P., 1983. Effect of oestrus and ovulation of exposing creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fert.* 67: 65-72.

Chemineau P. 1986. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behavior and ovarian activity. *Reprod. Nutr. Dev.* 26: 441-452.

Chemineau P, Normant E, Ravault JP and Thimonier J 1986. Induction and persistence of pituitary and ovarian activity in the out-of-season lactating dairy goats after a treatment combining a skeleton photoperiod, melatonin and the male effect. *J. Reprod. Fert.* 78: 497-504.

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

Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Sm. Rum. Res.* 8: 299-312.

Chemineau P., Baril G., Leboeuf B., Maurel M.C., Roy F., Pellicer M.T., Malpaux B., Cognié Y. 1999. Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. *J. Reprod. Fert. (Suppl)* 54: 129-142.

Chemineau P., Daveau A., Cognie 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 Physiol.* 27:1-11.

Chemineau P, Pellicer-Rubio MT, Lassoued N, Khaldi G and Monniaux D 2006. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 417-429.

Chemineau P, Malpaux B, Brillard JP Fostier A. 2007. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal.* 1: 419-432.

Chemineau P., Guillaume D., Migaud M, Thiery JC, Pellicer MT., Malpaux B. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: Intimate regulatory mechanism and practical implications. *Reprod. Dom. Anim.* 43 (Suppl.2). 40-47.

Chemineau P., Bodin L., Migaud M., Thiery J.C., Malpaux B. 2010. Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reprod. Dom. Anim.* 45 (Suppl. 3). 42-49.

Cognié Y., Gray S.J., Lindsay D.R., Oldham C.M., Pearce D.T., Signoret J.P. 1982. A new approach to controlled breeding in sheep using the "ram effect". *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 14: 519-522.

Contreras I., Diaz T., Lopez G., Caigua A., Gonzalez Bulnes A. Lopez Sebastian A 2008. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 104: 47-55.

Cushwa WT, Bradford GE, Stabenfeldt GH, Berger YM, Dally MR. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrus ewes: Effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *J. Anim. Sci.* 70: 1195-1200.

Delgadillo JA, Chemineau P. 1992. Abolition of seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. *J. Reprod. Fert.* 94: 45-55.

Delgadillo JA, Malpoux B, Chemineau P. 1997. La reproduction des caprins dans les zones tropicales et subtropicales. *INRA. Prod. Anim.* 10 (1). 33-41.

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.

Delgadillo JA, Carrillo E, Morán J, Duarte G, Chemineau P, Malpoux B. 2001. Induction of sexual activity of male creole goats in Subtropical Northern Mexico using long days and melatonin. *J. Anim. Sci.* 79: 2245-2252.

Delgadillo JA, Flores JA, Véliz FG, Hernández HF, Duarte G, Vielma J, Poindron P, Chemineau P, Malpoux B. 2002. Induction of sexual activity of lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificial long days. *J. Anim. Sci.* 80: 2780-2786.

Delgadillo J.A, Fitz G., Duarte G., Véliz F.G., Carrillo E., Flores J.A., Vielma J., Hernandez H., Malpaux B. 2004. Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reprod. Fert. Dev.* 16: 471-478.

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

Delgadillo J.A. 2010. Environmental and social cues can be used in combination to develop sustainable breeding techniques for goat reproduction in the subtropics. *Animal.* 10: 1-8.

Delgadillo JA, Flores JA, Duarte G, Vielma J, Hernández H, Bedos M, Fitz-Rodríguez G, Fernández IG, López-Sebastián A, Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Zarazaga LA, Keller M, Chemineau P. 2014. Out-of-season control of reproduction in subtropical goats without exogenous hormonal treatments. *Sm. Rum. Res.* 121: 7-11.

Descartes R. 1954. The inter-relation of soul and body. In the: *Way of Philosophy*. Ed. by P. Wheelright (New York: Odyssey). 357 pp.

Diaz Delfa C., Gonzalez A., Haba E., Guirao J., Lobera J., Urrutia B., Carrizosa J., Lopez Sebastián A. 2002. Inducción y sincronización de ovulaciones en cabras de raza Murciano-Granadina mediante la utilización del efecto macho y progesterona. *SEOC* 27: 1017-1021.

Duarte G, Flores JA, Malpaux B, Delgadillo JA. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Dom. Anim. End.* 35: 362-370.

Dun-Xian T., Hardeland R., Manchester LC., Korkmaz A., Ma S., Rosales-Corral S., Reiter RJ. 2012. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural sciences. *J. Exp. Bot.* 63: 577-597.

Eriksson L, Valtonen M, Laitinen JT, Puananen M, Kaikkonen M. 1998. Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk: Pharmacokinetics of exogenous melatonin in lactating cows and goats. *Acta Vet. Scand.* 39: 301-310.

Falagán A., Gonzalez C., Lopez-Sebastian A. 1989. Periodos de anestro de la cabra Murciano-Granadina en la región de Murcia. *ITEA.* 9. 298–300.

Falagán A. 1991. Ganado caprino de raza Murciana-Granadina. *Mundo Ganadero.* 4: 67-72.

Fatet A., Pellicer M.T., Leboeuf B. (2011). Reproductive cycle of goats. *Anim. Reprod. Sci.* 124:211-219.

Fatet A., Tuauden M., (Flock-Reprod Consortium). 2013. Practical guide: All-season goat reproduction. Flock-Reprod a sustainable solution. EU 7th Framework Program. Capacities. 23 pp.

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

García, A.J., Landete-Castillejos, T., Garde, J.J., Gallego, L., 2002. Reproductive seasonality in female Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). *Theriogenology* 58: 1553–1562.

Gebbie FE, Fprsyth IA, Arendt J. 1999. Effects of maintaining solstice light and temperature on reproductive activity, coat growth, plasma prolactin and melatonin in goats. *J. Reprod. Fert.* 116: 25-33.

Gelez H., Fabre C., 2006. Role of the olfactory systems and importance of learning in the ewes response to rams or their odours. *Rep. Nut. Dev.* 46:401-415.

Gómez-Brunet A., López Sebastián A. 1991. Effect of season on plasma concentrations of prolactin and cortisol in pregnant, nonpregnant and lactating ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 26: 251-268.

Gómez-Brunet A., López Sebastián A., Picazo R.A., Cabellos B., Goddard S. 1995. Reproductive response and LH secretion in ewes treated with melatonin implants and induced to ovulate with the ram effect. *Anim. Reprod. Sci.* 39: 23-34.

Gómez-Brunet, A., Santiago-Moreno, J., Micheo, J.M., Sanchez, A., Gonzalez-Bulnes A., López-Sebastian A. 2003. Variación anual de la actividad ovulatoria en la cabra de raza Malagueña. *SEOC.* 28: 178-180.

Gómez-Brunet, A., Santiago-Moreno, J., del Campo, A., Malpoux, B., Chemineau, P., Tortonese, D., González-Bulnes, A., López-Sebastián, A. 2008. Endogenous circannual cycles of ovarian activity and changes in prolactin and melatonin secretion in wild and domestic female sheep maintained under a long day photoperiod. *Biol. Reprod.* 78: 552-562.

Gómez-Brunet, A., Santiago-Moreno, J., López-Sebastián A. 2010. Estacionalidad reproductiva en los ungulados silvestres. In: *Ungulados silvestres de España: biología y tecnologías reproductivas para su conservación y aprovechamiento cinegético.* Monografías INIA. Serie Medioambiental. 2, 63-84.

Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Chemineau P, Malpoux B, López-Sebastián A. 2010. Melatonin secretion during postnatal development in wild domestic female lambs *Anim. Reprod. Sci.* 119: 24-30.

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. *Reprod. Dom. Anim.* 45: 338-343.

Gomez-Brunet A., Santiago Moreno J., Malpoux B., Chemineau P., Tortonese D., Lopez Sebastian A. 2012. Ovulatory activity and plasma prolactin concentrations in wild and domestic ewes exposed to artificial photoperiods between the winter and summer solstices. *Anim. Reprod. Sci.* 132: 36-43.

Gomez-Brunet A., Santiago Moreno J., Toledano A., Lopez Sebastián A. 2012. Reproductive seasonality and its control in Spanish sheep and goats. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 15. Suppl.1:47-70.

González de Bulnes A., Santiago J., Cocero M.J., López Sebastián A. 2000. Effects of FSH commercial preparations and follicular status on follicular growth and superovulatory response in Spanish Merino ewes. *Theriogenology*. 54: 1055-1064.

Gonzalez de Bulnes A., Diaz Delfa C., Urrutia B., Carrizosa J.A., Lopez-Sebastián A. 2004. Ultrasonography screening of the ovulatory process in goats. *Sm. Rum. Res.* 52: 165-168.

Gonzalez de Bulnes A., Lopez-Sebastián A., Garcia R.M., Veiga A., Souza C.J.H., Mc Neilly A. S. 2005. Restoration of endocrine and ovarian function after stopping GnRH antagonist treatment in goats. *Theriogenology*. 63: 83-91.

Gonzalez de Bulnes, A.; Carrizosa, J.A.; Urrutia, B.; Lopez-Sebastian, A. 2006. Oestrous behaviour and development of preovulatory follicles in goats induced to ovulate using the male effect with and without progesterone priming. *Rep. Fert. Develop.* 18: 745–750.

Hafez, E.S.E., 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agr. Sci.* 42: 189–265.

Hardeland R., Pandi-Perumal SR. 2005. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutr. Metab.* 2: 1-15

Hiendleder, S., Mainz, K., Plante, Y., Levalski, H., 1998. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence from contribution from urial and argali sheep. *J. Hereditary*. 89: 113–120.

Jackson, G.L., Jansen, H.T., Kuehl, D.E., Shanks, R.D., 1989. Time of sidereal year affects responsiveness to the phase-resetting effects of photoperiod in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 85:221-227.

Khalid, M., Jackson, G.L., 1991. Exposure of ewes to long day photoperiods before the winter solstice can disrupt refractoriness to short days. *Anim. Reprod. Sci.* 25: 225-232.

Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Rec. Prog. Horm. Res.* 40: 185-232.

Karsch, F.J., Robinson, J.E., Woodfill, C.J.I., Brown, M.B., 1989. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod: evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biol. Reprod.* 41: 1034-1046.

Keller M., Baum MJ, Brock O, Brennan PA, Bakker J.2009. The main and the accessory systems interact in the control of mate recognition and sexual behavior. *Behav. Brain Res.* 200: 268-276.

Lincoln GA, Short RV. 1980. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Rec. Prog. Horm. Res.* 36: 1-52.

López-Sebastián A. , Gómez A. , Inskip E.K. 1984. Effects of a single injection of LHRH on the response of anestrus ewes to the introduction of rams. *J. Anim. Sci.* 59: 277-283.

López Sebastián A., Alonso de Miguel M., Gómez A. 1985. Características del comienzo de la pubertad en corderas Manchegas mediante la estimulación por los machos en estación desfavorable. *Anales INIA. Serie ganadera.* 22: 167-181.

López Sebastián A., Gómez A., Pinilla A., Cabellos B. 1985. Influencia de la época de nacimiento y el efecto de los machos sobre la aparición de la pubertad en corderas Manchegas. *I.T.E.A.* 58: 45-49.

López-Sebastián A., Inskeep E.K. 1988. Effects of lactation status, progestogen and ram exposure on response to cloprostenol in ewes during the anestrus season. *Theriogenology.* 30: 279-289.

López-Sebastián A., Inskeep E.K. 1988. Effects of progesterone pretreatment and duration of ram exposure on synchronization of estrus, conception and pregnancy by prostaglandin during seasonal anestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 17: 185-195.

López-Sebastián A., Palacio M., Gómez A. 1991. Techniques for the improvement of fertility and prolificacy of anoestrus ewes in Spain. In: *Isotope aided studies on sheep and goat production.* Ed.: Joint FAO/IAEA. Viena. 157-164.

Lopez-Sebastian A., Inskeep E.K. 1991. Response of ewes of Mediterranean sheep breeds to subcutaneous implants of melatonin. *Liv. Prod. Sci.* 27: 177-184.

López Sebastián A. 1993. Fisiología de la reproducción de la hembra ovina. En: *Ciencias Veterinarias. Ovino y Caprino.* Ed. : Consejo General de Colegios Veterinarios. 71-94.

Lopez-Sebastián A., González de Bulnes A., Santiago Moreno J., Gomez Brunet A., Townsend E.C., Inskeep E.K. 1997. Patterns of follicular development during the oestrous cycle in monovular Merino ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 48: 279-291.

López Sebastián A. 1999. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. En: Fisiología de la Reproducción en Rumiantes. Ed. Col. Postgraduados. México. 94-106.

López-Sebastián A., González de Bulnes A., Santiago J., Gómez A., Townsend E.C., Inskip E.K. 1999. Effects of follicular status at treatment on follicular development and ovulation in response to FSH in Spanish Merino ewes. *Theriogenology*. 52: 505-514.

Lopez Sebastian A., Carrizosa J., Gonzalez de Bulnes A., Urrutia B., Gomez A., Falagan A., Santiago J. 2004. Control reproductivo en ganado caprino lechero. *Mundo ganadero*. 168: 32-34.

López Sebastián, A.; González de Bulnes A.; Santiago-Moreno, J.; Veiga-López, Toledano-Diaz, A.; Contreras, I. 2005. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. Reproducción en Rumiantes. Pp 17-28. Ed. Col. de Postgraduados. México.

Lopez-Sebastian A, Gonzalez de Bulnes A, Carrizosa JA, Urrutia B, Diaz-Delfa C, Santiago Moreno J, Gomez Brunet A. 2007. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. *Theriogenology*. 68: 1081-1087.

Lopez Sebastián A., Santiago-Moreno J., Toledano A., Coloma M.A., Carrizosa J.A., Urrutia B. 2013. Caracterización reproductiva en hembras y machos de las razas autóctonas españolas de ganado caprino. *Tierras Caprino*. 4: 34-40.

López Sebastián A., Toledano A., Coloma M.A., Velázquez R., Santiago J. 2014. Estacionalidad de la reproducción caprina. *Tierras Caprino*. 7: 6-12.

López Sebastián A., Toledano A., Coloma M.A., Velázquez R., Santiago J. 2014. Métodos alternativos de control de la reproducción, aplicados a una reducción de la estacionalidad reproductiva. *Tierras Caprino*. 7: 14-21.

López-Sebastián A., Coloma M.A., Toledano A., Santiago J. 2014. Towards steroid hormone free protocols for the control of reproduction and artificial insemination in goats. *Rep. Dom. Anim. Suppl.* 4: 22-29.

Malpaux B., Wayne N.L., Karsch F.J., 1988. Termination of the breeding season in the Suffolk ewe: involvement of an endogenous rhythm of reproduction. *Biol. Reprod.* 39: 254-263.

Malpaux, B., Robinson, J.E., Wayne, N.L., Karsch, F.J., 1989. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *J. Endocrinol.* 122: 269–278.

Malpaux, B., Karsch, F.J., 1990. A role for short days in sustaining seasonal reproductive activity in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 90 : 355–362.

Malpaux B., Viguié C., Thiery J.C., Chemineau P. 1996. Contrôle photopériodique de la reproduction. *INRA. Prod. Anim.* 9: 9-23.

Malpaux B, Migaud M, Tricoire H and Chemineau P 2001. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *J. Biol. Rhyt.* 16: 336-347.

Martin GB, Scaramuzzi RJ, Lindsay DR. 1983. Effect of introduction of rams during the anoestrous season on the pulsatile secretion of LH in ovariectomized ewes. *J. Reprod. Fert.* 67: 47-55.

Martin GB, Oldham CM, Cognie Y, Pearce DT., 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. *Liv. Prod. Sci.* 15: 219-247.

Martin G.B., Milton J.T.B., Davidson R.H., Banchemo G.E., Lindsay D.R., Blache D. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 231-246.

Martin GB, Rodger J, Blache. 2004. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Rep. Fert. Dev.* 16: 491-501.

Mascarenhas R., Fresno M., Milena A., Avdi M. Terqui M. 2006. Estacionalidad de la actividad sexual de las razas caprinas autóctonas del Sur de Europa. *REDVET.* Vii, nº 4. 1-7.

Minton, J.E., 1990. Role of photorefractoriness in onset of anoestrus in Rambouillet x Dorset ewes. *J. Reprod. Fertil.* 89:261-268.

Morello H, Alvarez H, Medina V, Bogado M, Quintana M, Venturino A, Aisen E. 2004. Artificial photoperiodic cycles for semen collection from male Angora goats during the non-breeding season. *Rep. Fert. Develop.* 16: 523-529.

Murata K, Wakabayashi Y, Kitago M, Ohara H, Watanabe H, Tamogami S, Warita Y, Yamagishi K, Ichikawa M, Takeuchi Y, Okamura H and Mori Y. 2009. Modulation of gonadotrophin-releasing hormone pulse generator activity by the pheromone in small ruminants. *J. Neuroend.* 21: 346-350.

O'Callaghan, D., Karsch, F.J., Boland, M.P., Hanrahan, J.P., Roche J.P., 1991. What photoperiodic signal is provided by a continuous-release melatonin implant? *Biol. Reprod.* 45: 927-933.

O'Callaghan, D., Karsch, F.J., Boland, M.P., Roche, J.E., 1991. Role of short days in timing the onset and duration of reproductive activity in ewes under artificial photoperiods. *Biol. Reprod.* 44: 23-28.

O'Callaghan, D., Karsch, F.J., Boland, M.P., Hanrahan, J., Roche, J.F. 1992. Variation in the timing of the reproductive season among breeds of sheep in relation to differences in photoperiodic synchronization of an endogenous rhythm. *J. Reprod. Fertil.* 96: 443-452.

Oldham CM, Martin GB, Knight TW. 1978/79. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. *Anim. Reprod. Sci.* 1: 283-290.

Pearce DT, Oldham CM. 1984. The ram effect, its mechanism and application to the management of sheep. In: *Reproduction in sheep*. Ed.: Lindsay and Pearce. 26-36.

Pellicer M.T., Ferchaud S., Freret S., Tournadre H., Fatet A., Boulot S., Pavie J., Leboeuf B., Bocquier F. 2009. Les méthodes de maîtrise de la reproduction disponibles chez les mammifères d'élevage et leur intérêt en agriculture biologique. *INRA. Prod. Anim.* 22: 255-270.

Pellicer MT, Lopez-Sebastian A. 2013. All-season goat reproduction: Flock-Reprod, a sustainable solution. *Practical Guide and Video*. EU Seventh Framework Programme. 24 pp.

Picazo R.A., González de Bulnes A., Gómez Brunet A., del Campo A., Granados B., Tresguerres J., López-Sebastián A. 2000. Effects of bromocriptine administration during the follicular phase of the estrous cycle on prolactin and gonadotrophins secretion and follicular dynamics in Merino monovular ewes. *J. Reprod. Fert.* 120: 177-186.

Poulton AL, Robinson TJ. 1987. The response of rams and ewes of three breeds to artificial photoperiod. *J. Reprod. Fert.* 79: 609-626.

Restall BJ 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim. Reprod. Sci.* 27: 305-318.

Retwot PI, Ogwu D, Oyedipe EO, Sekoni VO. 2001. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 65: 157-170.

Rivas-Muñoz R, Fitz-Rodríguez G, Poindron P, Malpoux B and Delgadillo JA. 2007. Stimulation of estrous behavior in grazing female goats by continuous or discontinuous exposure to males. *J. Anim. Sci.* 85: 1257-1263.

Rivera GM, Alanis GA, Chaves MA, Ferrero SB, Morello HH. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Sm. Rum. Res.* 48: 109-117.

Rivera M.T., Escobar F.J., Aréchiga C.F., Diaz M.O., Urrutia J., Gámez H.G., Vera H. 2006. Estacionalidad reproductiva de la cabra. *Vet. Zacatecas.* 2: 217-228.

Robinson, J.E., Karsch, F.J., 1984: Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.* 31: 656-663.

Robinson JE, Karsch FJ. 1987. Photoperiodic history and a changing melatonin pattern can determine the neuroendocrine response of the ewe to daylength. *J. Reprod. Fert.* 80: 159-165.

Robinson, J.E, Karsch, F.J. , 1988, Timing of the breeding season of the ewe. What is the role of daylength? *Reprod. Nutr. Dev.* 28 (2B):365-374.

Rosa HJD, Juniper DT, Bryant MJ. 2000. Effect of recent sexual experience and melatonin treatment of rams on plasma testosterone concentration, sexual behavior and ability to induce ovulation in seasonally anoestrous ewes. *J. Reprod. Fert.* 120: 169-176.

Sanchez-Andrade G., Kendrick KM. 2009. The main olfactory system and social learning in mammals. *Behav. Brain Res.* 200:323-335.

Santiago-Moreno J., González de Bulnes A., Gómez Brunet A., López-Sebastián A. 2000. Effect of season on the resumption of postpartum cyclic ovarian activity in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega sheep (*Ovis aries*). *Sm. Rum. Res.* 36: 69-74.

Santiago-Moreno J., López-Sebastián A., González de Bulnes A., Gómez A., Chemineau P. 2000. Seasonal changes in ovulatory activity, plasma prolactin and melatonin concentration in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega (*Ovis aries*) ewes. *Rep. Nutr. Develop.* 40:421-430.

Santiago-Moreno, J., Gómez-Brunet, A., Gonzalez-Bulnes, A., Villar, D., López-Sebastián, A., 2000. Attainment of puberty in the European mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and the domestic Manchega ewe (*Ovis aries*). *Reprod. Dom. Anim.* 35: 49-52.

Santiago-Moreno J., González de Bulnes A., Gómez A., del Campo A., Picazo R.A., López-Sebastián A. 2001. Nocturnal variation of prolactin secretion in the Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and domestic sheep (*Ovis aries*): seasonal changes. *Anim. Reprod. Sci.* 64. (3-4): 211-219.

Santiago-Moreno J., González-Bulnes A., Gómez-Brunet A., Tortonese D.J., López-Sebastián A. 2001. The timing of the onset of puberty, extension of the breeding season and length of post-partum anoestrus in the female European Mouflon (*Ovis gmelini musimon*). *J. Zoo Wild. Med.* 32: 230-235.

Santiago-Moreno, J., González Bulnes, A., Gómez-Brunet, A., López-Sebastián, A. 2003. El muflón (*Ovis gmelini musimon*): Caracterización funcional y recurso cinegético. Monografías INIA.. Ed. Ministerio de Ciencia y Tecnología. 217 pp.

Santiago-Moreno, J., Gómez Brunet, A., González Bulnes, A., Malpoux, B., Chemineau, P., Pulido, A., López-Sebastián, A. 2003. Seasonal ovulatory activity and plasma prolactin concentrations in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) maintained in captivity. *Rep. Nutr. Develop.* 43: 217-224.

Santiago-Moreno J., A. López-Sebastián, A. del Campo, A. González-Bulnes, R. Picazo, A. Gómez-Brunet. 2004. Effect of constant-release melatonin implants and prolonged exposure to a long day photoperiod on prolactin secretion and hair growth in mouflon (*Ovis gmelini musimon*). *Dom. Anim. Endocr.* 26: 303-314.

Santiago-Moreno J., Gomez Brunet A., Gonzalez de Bulnes A., Toledano A., Malpoux B., Lopez-Sebastián A. 2005. Differences in reproductive pattern between wild and domestic rams are not associated with inter-specific annual variation in plasma prolactin and melatonin concentration. *Dom. Anim. Endocr.* 28: 416-429.

Santiago-Moreno J, Gómez-Brunet, A, Toledano-Díaz, A. Picazo, RA, Gonzalez-Bulnes A, López-Sebastián A. 2006. Seasonal endocrine changes and breeding activity in Mediterranean wild ruminants. *Rep. Dom. Anim.* 41 Suppl. 2: 72-81.

Santiago-Moreno J., Gomez-Brunet, A. Toledano-Diaz, A. Pulido-Pastor, A. Lopez-Sebastian A.,2007. Social dominance and breeding activity in Spanix Ibx (*Capra pyrenaica*) maintained in captivity. *Rep. Fert. Develop.*19: 436-442.

Santiago-Moreno, J., López-Sebastián, A. 2010. Ungulados silvestres de España: Biología y tecnologías reproductivas para su conservación y aprovechamiento cinegético. Monografías INIA.. Ed. INIA. Ministerio de Ciencia e Innovación. 295 pp.

Santiago-Moreno J, Toledano-Díaz A, Castaño C, Coloma MA, Estes MC, Prieto MT, Delgadillo JA, López-Sebastián A. 2013. Photoperiod and melatonin treatments for controlling sperm parameters, testicular and accessory sex glands size in male Iberian ibex: a model for captive mountain ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 139: 45-52.

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. *Reprod. Dom. Anim.* 43 (Suppl.2): 129-136.

Schinckel PG. 1954. The effect of the presence of the ram on the ovarian activity of the ewe. *Aust. J. Agric. Res.* 5: 465-469.

Setchell, B.P., 1992. Domestication and reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 195-202.

Signoret JP. 1980. Effet de la présence du mâle sur les mécanismes de reproduction chez la femelle des mammifères. *Rep. Nutr. Dévelop.* 20 (2): 457-468.

Shelton M., 1960. Influence of the presence of the male goat on the initiation of estrous cycling and ovulation of Angora does. *J. Anim. Sci.* 19: 368-375.

Strassman RJ, Quails CR, Berg LM. 1996. Differential tolerance to biological and subjective effects of four closely spaced doses of N,N-Dimethyltryptamine in humans. *Biol. Psych.* 39: 784-795.

Strassman RJ. 2001. *DMT: The spirit molecule*. Park Street Press. 369 pp.

Sweeney, T., Donovan, A., Roche, J.F., O'Callaghan D., 1997. Variation in the ability of a long day followed by a short day photoperiod signal to initiate reproductive activity in ewes at different times of the year. *J. Reprod. Fertil.* 109: 121-127.

Underwood EJ, Shier FL, Davenport N. 1944. Studies in sheep husbandry in Western Australia. The breeding season in Merino, crossbred and British Breed ewes in the agricultural districts. *J. Agric. II. Ser.* 2: 135-143.

Ungerfeld R., Forsberg M, Rubianes E. 2004. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. *Rep. Fert. Dev.* 16: 479-490.

Véliz F.G., Moreno S., Duarte G., Vielma J., Chemineau P., Poindron P., Malpoux B., Delgado J.A. 2002. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. *Anim. Reprod. Sci.* 72: 197-207.

Vielma J, Chemineau P, Poindron P, Malpoux B, Delgadillo JA. 2009. Male sexual behavior contributes to the maintenance of high LH pulsatility in anestrus female goats. *Horm. Behav.* 56: 444-449.

Walkden-Brown SW, Restall BJ. 1996. Environmental and social factors affecting reproduction. In VI International Conference on Goats (Eds International Academic Publishers), pp. 762-775.

Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ. 1999. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 52: 243-257.

Watson RH, Radford HM. 1960. The influence of rams on the onset of oestrus in Merino ewes in the spring. *Aust. J. Agric. Res.* 11: 65-71.

Wayne, N.L., Malpoux, B., Karsch, F.J., 1990. Photoperiodic requirements for timing onset and duration of the breeding season of the ewe: synchronization of an endogenous rhythm of reproduction. *J. Comp. Physiol. A* (166): 835-842.

Webb EC, Mamabolo MJ. 2004. Production and reproduction characteristics of South African indigenous goats in communal farming systems. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 34 (Suppl. 1): 236-239.

Wilson MA, Clark AS, Clyde V, Roy EJ. 1983. Characterization of a pineal independent diurnal rhythm in neural estrogen receptors and its possible behavioral consequences. *Neuroendocrinology.* 37: 14-22.

Woodfill, C.J.I., Robinson, J.E., Malpoux, B., Karsch, F.J., 1991. Synchronization of the circannual reproductive rhythm of the ewe by discrete photoperiodic signals. *Biol. Reprod.* 45: 110-121.

Woodfill, C.J.I, Wayne, N.L, Moenter, S.M., Karsch, F.J., 1994. Photoperiodic synchronization of a circannual reproductive rhythm in sheep: identification of season-specific time cues. *Biol. Reprod.* 50: 965–976.

Zarazaga, L.A., Guzmán, C., Domínguez, C., Pérez, M.C., Prieto, R. 2005. Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Anim. Reprod. Sci.* 87: 253-257.



