

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN BORREGAS CIMARRÓN  
(*Ovis canadensis*) MEDIANTE OBSERVACIONES CONDUCTUALES  
Y DETERMINACIÓN DE PROGESTERONA EN HECES.

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA

**CLAUDIA NADIEZHDA RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ**

Asesores:

MVZ PhD Octavio Mejía Villanueva  
MVZ EPA MC Luis Felipe Rodarte Covarrubias  
MVZ MC Juan Arturo Rivera Rebolledo

México, D. F.

2007



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIA

A mi ejemplar, siempre amada y admirada dadora de vida: Mi Madre, sin la cual nada hasta este día habría sido posible...

A su compañero y Padre mío, a quien debo mucho de lo que soy ahora...

A mis hermanos Karla y Renato, por amarnos y soportarnos olímpicamente...

A Mónica Rubio, entrañable amiga y más que eso, hermana...

A mis amigos y colegas Adrian Chávez, Cinthia Vargas, Sinaí Centeno, Alejandra Molina, Efrén Boylán, Marina Muñoz, Laura Espinosa, Sonia López, Luz Ramírez y Luz Maldonado con quienes compartí momentos irrepitiblemente especiales, y cuya amistad quisiera conservar el resto de mi vida...

A mis hermanos en Cristo, que fueron trascendentes en mi concepción de la perseverancia...

A mi Señor, Padre, Amigo y Redentor, por quien se mueve el Universo; que con su voluntad, convergiendo en la mía logremos dar más fruto...

## AGRADECIMIENTOS

Particularmente al Dr. Luis Felipe Rodarte Covarrubias por no sólo brindarme su asesoría académica, sino también su amistad, su confianza y sobre todo su paciencia...

Al Dr. Octavio Mejía Villanueva, quien fue el principal entusiasta de este trabajo, por su apoyo en todos los sentidos y a quien ofrezco una disculpa por la tardanza, pero aquí está...

A la Dra. Susana Rojas Maya, una admirable persona que me apoyó enormemente, y de quien aprendí más cosas de las que ella misma se imagina...

Al Dr. Luis Alberto Balcázar por sus oportunas observaciones y su incondicional apoyo...

Al Dr. Juan Arturo Rivera, por su interés en el tema y su apoyo para hacer posibles las sesiones de observación y toma de muestras...

Al Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México y al Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción de la FMVZ por las facilidades otorgadas para la realización de esta Tesis.

A mis compañeros de Generación, de la Carrera, mis Profesores y todos aquellos individuos, humanos y animales que no podría mencionar, pero que han influido en cualquier forma en mi vida, mi ser y hacer...

Gracias.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>Situación actual del borrego cimarrón</b>	<b>3</b>
<b>Medición de hormonas en heces de borrego cimarrón</b>	<b>3</b>
<b>REVISION DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
<b>1. Biología del borrego cimarrón</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Clasificación taxonómica</b>	<b>5</b>
<b>1.2 Características morfológicas</b>	<b>5</b>
<b>1.2 Hábitat</b>	<b>6</b>
<b>2. Patrones de comportamiento</b>	<b>7</b>
<b>2. 1 Comportamiento de mantenimiento</b>	<b>7</b>
<b>2. 2 Comportamiento social</b>	<b>7</b>
<b>2. 3 Comportamiento sexual</b>	<b>8</b>
<b>2. 3.1 Efectos de las hormonas sexuales sobre el comportamiento</b>	<b>10</b>
<b>2. 4 Reproducción</b>	<b>11</b>
<b>2.4.1 Características del ciclo estral</b>	<b>12</b>
<b>3. Medición de hormonas</b>	<b>15</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>16</b>
<b>OBJETIVO</b>	<b>17</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>18</b>
<b>Mediciones conductuales</b>	<b>19</b>
<b>Toma de muestras de heces</b>	<b>20</b>
<b>Manejo de muestras de heces</b>	<b>20</b>
<b>Análisis de Progesterona</b>	<b>21</b>
<b>Validación de la Técnica de Extracción</b>	<b>21</b>
<b>Análisis de los datos conductuales y hormonales</b>	<b>22</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>23</b>

<b>Comportamiento</b>	<b>23</b>
<b>Cambios hormonales durante el ciclo</b>	<b>25</b>
<b>Comportamiento sexual y hormonas</b>	<b>26</b>
<b>Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H1</b>	<b>26</b>
<b>Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H2</b>	<b>27</b>
<b>Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H3</b>	<b>27</b>
<b>Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H4</b>	<b>28</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>37</b>
<b>APÉNDICE CUADROS</b>	<b>38</b>
<b>APÉNDICE FIGURAS</b>	<b>45</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>59</b>

## RESUMEN

RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ CLAUDIA NADIEZHDA. Determinación del ciclo estral en borregas cimarrón (*Ovis canadensis*) mediante observaciones conductuales y determinación de progesterona en heces (bajo la dirección de Octavio Mejía Villanueva, Luis Felipe Rodarte Covarrubias y Juan Arturo Rivera Rebolledo).

Se realizó el monitoreo una vez al día de un grupo de cuatro hembras y cuatro machos de borrego cimarrón (*Ovis canadensis mexicana*) en cautiverio albergados en el Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México durante 76 días continuos (agosto, septiembre y octubre del año 2002). Los parámetros que se evaluaron fueron el nivel de progesterona en las heces de las hembras por medio de RIA en fase sólida, a partir de muestras tomadas al final de las sesiones de observación y el comportamiento sexual de dichos individuos mediante un estudio etológico de sesiones diarias con una duración total de 186 horas. Se encontró que este grupo manifestó conductas de categoría sexual el 6.85 % de su tiempo y que los machos muestran principalmente los siguientes comportamientos sexuales en orden decreciente: seguir a la hembra, relamerse los belfos, olfateo de genitales, signo de flehmen, monta y solicitud de monta. En las hembras los comportamientos sexuales fueron, en orden decreciente: ser seguida por el macho, permitir olfateo de genitales, relamerse los belfos, permitir monta, oler genitales y signo de flehmen. Los valores de progesterona en heces no mostraron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre la hembra H1 ( $18.07 \pm 2.7$ ), H2 ( $37.87 \pm 6.8$ ) y H3 ( $20.15 \pm 3.1$ ) y hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a la H4 ( $6.6 \pm 1.0$ ). Se encontró que esta última se hallaba en etapa de pubertad y mostró comportamiento sexual únicamente en los días finales del estudio. En una de las hembras (H1) fue posible observar un ciclo promedio de  $16 \pm 2.94$  días. Por último, se observó un fenómeno común en las cuatro hembras, que fue la caída de niveles de progesterona el día de la receptividad al macho. La determinación de progesterona en heces por medio de kit comercial de RIA de las hembras de borrego cimarrón en cautiverio permitió observar mecanismos similares a los de la borrega doméstica en sus etapas de pubertad y de madurez sexual. La determinación de valores hormonales en heces y medición de observaciones conductuales permitieron obtener información sobre datos del ciclo estral de esta especie silvestre en cautiverio.

## **DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN BORREGAS CIMARRÓN (*Ovis canadensis*) MEDIANTE OBSERVACIONES CONDUCTUALES Y DETERMINACIÓN DE PROGESTERONA EN HECES.**

### **Introducción**

A pesar de la diversidad de especies animales con que cuenta México, se posee actualmente muy poca información sobre ellas; algunas están desapareciendo rápidamente sin que se hayan adquirido conocimientos de su biología básica y tampoco se conocen con certeza las causas que están originando estos procesos acelerados de extinción. La determinación de los parámetros reproductivos es de gran importancia, ya que a través del conocimiento de éstos es posible implementar y adecuar planes de manejo para llevar a cabo un mejor aprovechamiento de la especie <sup>(1)</sup>. Por desgracia, para recabar este tipo de información se requiere de mucho apoyo económico, humano, material y especialmente de tiempo, lo cual es un lujo que ya no puede permitirse, dada la urgencia de preservar y conservar la biodiversidad.

El presente trabajo, pretende obtener esos datos biológicos y, dado que la especie de borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) es poliéstrica estacional de días cortos, se decidió aprovechar una temporada entre julio y diciembre para poder lograr un seguimiento de los ciclos estrales comprendidos durante su época reproductiva. El monitoreo específico del ciclo estral, permite determinar las etapas y la duración del mismo por medio de indicadores como el comportamiento sexual y la medición de hormonas en heces y será de suma utilidad para poder contar con un conocimiento fundamentado sobre su biología

reproductiva que permita implementar a largo plazo, estrategias de reproducción asistida como la inseminación artificial y la transferencia de embriones, las cuales requieren una estricta sincronización de los diferentes eventos reproductivos para así contribuir a la conservación y preservación de la especie.

### **Situación actual del borrego cimarrón**

Existen varios factores que afectan la población de la especie *O. canadensis*. Se encuentra en el apéndice 2 de la Convención Internacional para el Tráfico de Especies (CITES). En el sur de E.U.A., el borrego cimarrón se contabilizó entre 1.5 y 2 millones de individuos sufriendo severas pérdidas en la década de los 90, principalmente debido a la cacería excesiva, competencia por alimento, disminución de su hábitat y por la introducción de enfermedades transmitidas por el borrego doméstico <sup>(2, 3)</sup>. La cacería ha sido prohibida desde 1900, y aunque se han reducido las pérdidas, no se ha recuperado la población como en algunos otros ungulados en situación similar en ese mismo periodo <sup>(3)</sup>.

Actualmente hay cerca de 36,000 cimarrones de montaña y de California y 23,000 cimarrones de desierto <sup>(3)</sup>.

### **Medición de hormonas en heces de borrego cimarrón**

El análisis de las hormonas reproductivas en muestras fecales es una posibilidad para el monitoreo no invasivo del estado reproductivo en muchas especies tanto en cautiverio como en vida libre <sup>(4)</sup>. Cuando este tipo de estudios se efectúa en hembras para medir progesterona, estradiol u otras hormonas o metabolitos de las mismas, se obtiene un criterio para el monitoreo de la función ovárica (ovulación, función lútea, preñez) <sup>(5,6)</sup>.

El interés o uso de este tipo de monitoreo para hormonas esteroides en heces ha permitido obtener cada vez más datos sobre el estado reproductivo de varias especies no domésticas, información que ha aumentado considerablemente en los últimos años, tomándose en cuenta algunos factores como: ruta metabólica de los esteroides en cada especie, proporción de esteroides excretados en heces con respecto a los niveles existentes en circulación sanguínea y tipo de anticuerpos empleados en las determinaciones, entre otros<sup>(7)</sup>.

En el borrego cimarrón en particular, esta técnica se ha usado satisfactoriamente para determinar la proporción de machos y hembras en una población de vida libre, así como para la determinación de gestación en las hembras<sup>(1, 8)</sup>.

## Revisión de Literatura

### 1. Biología del borrego cimarrón

#### 1.1. Clasificación taxonómica

El borrego cimarrón pertenece al orden *Artiodactyla* y es miembro de la familia *Bovidae*. Su nombre científico es *Ovis canadensis* y habita en el Suroeste de Canadá, el Oeste de Estados Unidos, y el Norte de México incluyendo Baja California <sup>(3)</sup>. Se mencionan 5 subespecies de *Ovis canadensis* en la literatura <sup>(1,9-11)</sup>:

- *Ovis canadensis canadensis* o Cimarrón de las Montañas Rocosas
- *Ovis canadensis nelsoni* o cimarrón del desierto de Nelson
- *Ovis canadensis californiana* o cimarrón de California
- *Ovis canadensis mexicana* o cimarrón de desierto.
- *Ovis canadensis cremnobates*.

#### 1.2. Características morfológicas

Los miembros del género *Ovis* pueden medir entre 1,200 y 1,800 mm incluyendo cabeza y cuerpo. La cola mide de largo entre 70 y 150 mm; la altura es desde 650 mm hasta 1270 mm y pueden pesar desde 20 hasta 200 kg. <sup>(3)</sup>.

En el *O. canadensis canadensis*, los machos pueden pesar desde 73 hasta 143 kg, y las hembras llegan a pesar desde 53 hasta 91 kg. En el cimarrón de las regiones desérticas del Suroeste de E.U.A. los machos pueden pesar desde 58 a 86 kg y las hembras de 34 a 52 kg. La coloración varía desde un tono blanco cremoso hasta el gris oscuro o café. Algunos machos poseen una franja de pelo largo bajo la parte craneal del cuello. Poseen nariz estrecha y sus orejas terminan en punta. Los machos poseen cuernos masivos en forma de espiral que alcanzan un largo promedio de 1,106 mm en el *O. canadensis*. Los

cuernos de las hembras son mucho más pequeños y sólo ligeramente curvados. Las hembras poseen dos mamas <sup>(3)</sup>.

### **1.3. Hábitat**

Los borregos silvestres usualmente son encontrados en terrenos elevados, montañosos. Banfield (1974), estableció la distribución del *O. canadensis* en regiones de praderas alpinas, escalonadas y de pastos abundantes y en inclinaciones de campos agrestes, ásperos y cercanos a riscos o peñascos <sup>(3)</sup>.

## **2. Patrones de Comportamiento**

### **2.1. Comportamiento de mantenimiento**

Son animales muy alertas, con un desarrollado sentido de la vista, excelentes escaladores y hábiles nadadores. Cuando se encuentran alarmados, saltan sobre las construcciones rocosas con sorprendente rapidez y agilidad <sup>(3)</sup>.

Los ovinos silvestres comen intermitentemente a lo largo de todo el día y su dieta consiste en una amplia variedad de pastos y forrajes. Descansan en las horas más calurosas, estando activos algunas veces durante la noche. La mayoría de las poblaciones sostienen movimientos estacionales, generalmente desplazándose a lo largo y ancho de grandes áreas en el verano y concentrándose en ciertos valles durante el invierno. Shackleton (1985) encontró la máxima distancia de migración de cimarrones cercana a 48 km <sup>(3)</sup>.

### **2. 2. Comportamiento social**

Las densidades de población que han sido observadas aportan datos de 2 individuos/km<sup>2</sup> para *O. canadensis*. Dado que son animales gregarios a veces llegan a formar grupos hasta de 100 individuos. Los estudios más detallados de la vida social de los borregos salvajes fueron hechos por Geist (1971), en Canadá <sup>(3)</sup>. El borrego cimarrón está sexualmente segregado durante casi todo el año formando dos tipos de grupos: los de machos adultos y grupos maternos que se conforman por hembras adultas, corderos, juveniles de ambos sexos o machos subadultos <sup>(12)</sup>. Se ha informado que las hembras jóvenes permanecen en el grupo materno, sin embargo, los machos parten de él a los 2 o 4 años y se integran a otros grupos de machos. En los grupos de machos existe una estricta jerarquía de dominancia basada en la edad y tamaño de los cuernos; generalmente el animal con los cuernos más grandes es el líder <sup>(3)</sup>.

Los machos grandes poseen un mayor éxito reproductivo que los más pequeños, dado que el tamaño está correlacionado con el éxito en las peleas y el acceso a las hembras en estro. Incluso, se ha observado que estos machos con un tamaño corporal mayor prefieren zonas donde puedan comer mayor cantidad de forraje, aún cuando sean menos seguras contra los predadores. En cambio, las hembras prefieren sitios con menos forraje, pero más seguros <sup>(12)</sup>. Un macho dominante no es territorial, pero si corteja a una sola hembra y mantiene alejados de ella a los demás machos. Por su parte, las hembras prefieren a los machos con los cuernos más largos y que mantengan alejados a los otros <sup>(3)</sup>.

### **2. 3.Comportamiento sexual**

El principal estímulo sexual en los ovinos es el olfatorio, hasta el punto en que los machos son capaces de detectar a los miembros del sexo opuesto mediante los mensajeros químicos, transportados en el aire, llamados feromonas. Estos mensajeros se convierten en respuestas fisiológicas o de comportamiento <sup>(13)</sup>. No obstante, aun en ausencia de este sentido, los machos pueden identificar a la hembra receptiva por estímulos visuales o auditivos <sup>(14)</sup>.

En general, las ovejas en estro no presentan signos claros del mismo, con lo que se hace necesaria la presencia de machos para identificar a la hembra en especies domésticas <sup>(13)</sup>. Sin embargo, algunas conductas que pueden considerarse importantes son el hecho de seguir o buscar al macho, voltear la cabeza como aproximándose a topar al macho, hacer círculos ocultando el flanco, sentarse en cuclillas y orinar especialmente si el macho esta cerca, abanicar o sacudir la cola y permanecer quieta al ser montada. La hembra puede activamente hacer que la siga el macho y olfatearle el cuerpo y genitales y entonces

golpearle ligeramente con la cabeza los flancos. También puede que llame con frecuencia con ciertos balidos inespecíficos y se mostrará más activa <sup>(14)</sup>.

Una vez que el macho es estimulado por la hembra en estro, comienza el comportamiento de cortejo, que, en ocasiones puede incluir hasta conductas agresivas hacia la hembra pateándola, frotándola, (particularmente la vulva), balando hacia ella y moviendo el labio superior. Una vez que la hembra está quieta, el macho la monta rápidamente y, después de uno o dos empujones pélvicos, se produce la introducción del pene en la vagina. La eyaculación dura sólo unos momentos caracterizándose por un violento empuje de la pelvis. Concluida la eyaculación el macho desmonta inmediatamente <sup>(13)</sup>.

En borregas domésticas se ha observado que cuando varias hembras se encuentran en celo al mismo tiempo, los machos buscarán aparearse sólo con algunas de ellas excluyendo a las otras. Beach (1976), reconoce que las hembras difieren en su “atractivo” o “valor de estímulo” para el macho <sup>(15)</sup>. Hafez (1951) y Tilbrook (1984) indican factores como edad, peso corporal, tamaño, color de rostro y cuerpo, apariencia general como importantes en esta selección para apareamiento <sup>(15)</sup>.

Por otro lado, los machos, para copular con las hembras ocupan ciertas estrategias como defender a una sola de las que están en estro (cuidado), compitiendo con los otros machos por el acceso temporal a las hembras defendidas (acoso) o bien compitiendo con los demás machos alejándolas de las áreas tradicionales donde son cuidadas por el macho dominante (bloqueo) <sup>(16)</sup>. Para lograr éxito por medio de peleas necesitan ser más grandes y fuertes. Los machos más jóvenes pueden lograr un poco más éxito reproductivo con estrategias como el acoso y el bloqueo, ya que en ellas no dependen de su peso, tamaño corporal o tamaño de los cuernos. No obstante, los machos que logran reproducirse

generalmente son los de mayor edad pues son los que poseen los cuernos más grandes; sin embargo, como puede apreciarse, hay otras alternativas empleadas por esta especie<sup>(17)</sup>.

### **2. 3.1. Efectos de las hormonas sexuales sobre el comportamiento**

Con el fin de dar una idea general sobre las causas endógenas de los comportamientos sexuales, se mencionan brevemente a continuación los sitios de acción y las funciones generales de las hormonas sexuales.

La testosterona es producida principalmente por las células intersticiales o de Leydig en los testículos y sus principales funciones son desarrollar y mantener el tono de las glándulas sexuales accesorias; estimular las características sexuales secundarias; actuar en la espermatogénesis; tiene efectos anabólicos y es responsable del comportamiento sexual. El eje hipotalámico - pituitario está involucrado en el comportamiento sexual masculino. La hormona folículo estimulante (FSH) es liberada en respuesta a un factor liberador hipotalámico. En el macho, la FSH estimula la espermatogénesis y la LH la liberación de testosterona. Esta hormona actúa sobre el área preóptica del hipotálamo anterior en conjunto con el estímulo apropiado de una hembra en estro para producir el comportamiento sexual masculino<sup>(14,18)</sup>. La inhibina, un factor testicular producido por los túbulos espermáticos actúa como retroalimentación negativa en el hipotálamo<sup>(14)</sup>. Esto quiere decir que es capaz de inhibir la liberación de FSH a partir de la hipófisis, pero sin alterar la liberación de LH, con lo que habrá una reducción de la espermatogénesis, pero no de liberación de testosterona testicular. Hay una considerable evidencia de que no es la testosterona por sí misma, sino que por el contrario es una molécula derivada de una

reacción de aromatización, el estradiol, el que actúa en el sistema nervioso central para producir el comportamiento sexual masculino <sup>(13, 14)</sup>.

En las hembras, la LH estimula a las células de la teca de los folículos presentes en los ovarios para secretar progesterona. En las células de la granulosa, bajo la influencia de FSH la testosterona sufre un proceso de aromatización hasta convertirse en estradiol. Los niveles altos de estradiol son los responsables del comportamiento estral, así como de dar tono al útero, estimular las características sexuales secundarias, el crecimiento de las vías reproductivas y de los conductos mamarios, de las contracciones uterinas, del control de la liberación de gonadotropinas; estimula la asimilación de calcio por los huesos y tienen efectos anabólicos. Por su parte, la progesterona actúa en forma sinérgica con los estrógenos para inducir el comportamiento de estro en la oveja y para la preparación de las vías reproductivas antes de la implantación; estimula las secreciones endometriales; mantiene la gestación; estimula el crecimiento de los alveolos mamarios y controla la secreción de gonadotropinas <sup>(18)</sup>.

La primera ovulación de la oveja en la pubertad o en el inicio de la estación de apareamiento se manifiesta sin estro debido a que solamente se encuentran estrógenos circulando; en la segunda ovulación los estrógenos del folículo y la progesterona del cuerpo lúteo en conjunto inducen el comportamiento de estro <sup>(18)</sup>.

#### **2. 4. Reproducción.**

El cimarrón de desierto del suroeste de E.U.A., tiene una estación reproductiva que dura aproximadamente de julio a diciembre <sup>(3)</sup>. Otros estudios, realizados en México, en la Sierra de San Pedro Mártir en B.C. han sugerido que se presentan dos épocas reproductivas al año; dado que el tiempo de gestación según esta referencia es de 180 días, los valores

indican que cuando unas están pariendo (entre febrero y abril), otras entran en periodo de celo y apareamiento (a partir de mayo o junio) y si el apareamiento tiene éxito quedarán preñadas, ocurriendo los nacimientos entre septiembre y diciembre <sup>(1)</sup>.

Shackleton (1985), citado por Nowak <sup>(3)</sup> menciona que su periodo de gestación es de aproximadamente 174.2 días y normalmente tiene una sola cría. El recién nacido pesa entre 3 y 5 kg y es bastante precoz. Los corderos son destetados entre los 4 y 6 meses. Una hembra en cautiverio puede criar exitosamente teniendo sólo 10 - 11 meses de edad, sin embargo, aún cuando son fértiles, no suelen quedar gestantes hasta su segundo o tercer año de vida. En cuanto a los machos, debido a su estructura social, éstos usualmente no son capaces de reproducirse hasta el séptimo año de vida, a menos que los individuos dominantes mueran por alguna causa <sup>(3)</sup>.

#### **2. 4.1. Características del ciclo estral**

La hembra de *O. canadensis* es poliéstrica estacional y puede mostrar varios ciclos durante una misma estación reproductiva hasta quedar gestante <sup>(3, 14)</sup>. Se sabe que cada ciclo dura aproximadamente 28 días y que la duración de la etapa de estro o de receptividad sexual es de 1 ó 2 días. <sup>(19)</sup>

A continuación se describen en términos generales las fases que conforman el ciclo estral de los ovinos domésticos, ya que no se cuenta con esta información para el borrego cimarrón (*O. canadensis*) en particular.

En la mayoría de las ovejas domésticas en época reproductiva el estro se repite cada 14 ó hasta 19 días si es que la hembra no concibe, siendo el intervalo más frecuente de 16 ó 17 días <sup>(13)</sup>.

Por razones de simplicidad el ciclo estral se puede dividir en dos fases: la fase folicular (periodo de crecimiento folicular) y fase lútea (periodo de cuerpo lúteo). El estro se presenta en la última parte de la fase folicular, fase que es relativamente corta, sólo 18 a 72 horas en ovejas, ocupando la fase lútea el resto del ciclo (aproximadamente 13 días) <sup>(13)</sup>.

El crecimiento folicular se encuentra bajo el control de dos gonadotropinas liberadas en la hipófisis, la hormona folículo estimulante (FSH) que estimula el crecimiento temprano de los folículos y la hormona luteinizante (LH) que es necesaria para completar las últimas fases del crecimiento. Además de provocar el crecimiento folicular, las gonadotropinas hacen que el folículo secrete estrógenos que se liberan al torrente circulatorio. Los folículos de Graaf producen cantidades relativamente grandes de estrógenos. Al principio el nivel relativamente bajo de estrógenos en la sangre tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de gonadotropinas. Esto ayuda a evitar un estímulo excesivo para los ovarios. Sin embargo, cuando el nivel de estrógenos es lo suficientemente alto se dispara la oleada de LH a partir de la hipófisis. Este efecto, llamado oleada preovulatoria de LH provoca cambios en la pared del folículo que conducen a su rotura y a la liberación del ovocito <sup>(13)</sup>.

El nivel de estrógenos en la sangre se eleva y alcanza el máximo justo antes de la aparición del estro. La oleada preovulatoria ocurre al principio del estro, siguiendo luego, a las 18 o 24 horas, la ovulación <sup>(13)</sup>.

Además de los estrógenos, el folículo que madura produce también la hormona inhibina, que selectivamente inhibe la secreción de FSH por parte de la hipófisis. Al limitar la secreción de FSH evita el crecimiento folicular adicional cuando existan folículos de Graaf con lo que se limita el ritmo de ovocitación <sup>(13)</sup>.

Después de la ovocitación el folículo de Graaf roto se llena por un coágulo de sangre constituyendo lo que se conoce con el nombre de cuerpo hemorrágico. Por la influencia de la oleada de LH, las células de la granulosa, en la pared del folículo roto proliferan y se transforman en células luteínicas que consecuentemente llenan el antro del folículo. A los 4 ó 5 días el cuerpo hemorrágico se transforma en un cuerpo amarillo sólido o cuerpo lúteo. El cuerpo lúteo secreta progesterona, que prepara al útero para que se implante el embrión. El nivel de progesterona en la corriente sanguínea alcanza un máximo después de unos 6 días y permanece alto en la gestación en caso de haber concepción. Si la hembra no queda gestante, transcurridos unos 11 – 12 días el cuerpo lúteo disminuye de tamaño, empalidece (cuerpo albicans) y comienza a descender la secreción de progesterona. Como los altos niveles de progesterona tienen una influencia inhibitoria sobre la secreción de gonadotropinas hipofisarias, el crecimiento folicular se encuentra limitado. Al eliminarse esta inhibición al final de la fase lútea aparece una nueva onda de crecimiento folicular y el progreso de un nuevo ciclo <sup>(13)</sup>.

La luteólisis se debe a la prostaglandina  $F_2 \alpha$  ( $PGF_2 \alpha$ ) que se produce en el útero después de una prolongada exposición a la progesterona. Si el animal queda gestante se suprime la producción de  $PGF_2 \alpha$  permaneciendo activo el cuerpo lúteo <sup>(13)</sup>.

### 3. Medición de Hormonas

La actividad reproductiva y las condiciones de estrés en los animales pueden ser monitoreadas a través de la medición de hormonas esteroides. En años recientes se ha hecho énfasis en las heces como material de muestreo ya que éstas pueden ser colectadas fácilmente sin que los animales sean sujetos a estrés. Esta ventaja es particularmente importante en animales de zoológico y en vida libre <sup>(20)</sup>. Otra ventaja es que las concentraciones de metabolitos frecuentemente son de 2 a 4 veces mayores que su similar en sangre <sup>(5, 7)</sup>. Las hormonas esteroides son metabolizadas principalmente por el hígado y excretadas en la orina y la bilis en forma conjugada. En el intestino, la mayoría de ellas son desconjugadas por ciertas bacterias específicas y parcialmente reabsorbidas, gracias a la circulación enterohepática. Los esteroides que no son reabsorbidos son eliminados mediante las heces <sup>(20)</sup>. Linder (1972) <sup>(20)</sup>, informa que en borregas domésticas el 40% del esteroide cortisol marcado con Carbono 14 es eliminado mediante las heces. Palme *et al* (1996) <sup>(20)</sup>, informan una recuperación total de radioactividad (TRR) de 76.0 % de esteroides marcados con Carbono 14 y de ello, alrededor del 76.7 % corresponde a la porción de progesterona eliminada en heces de borrega doméstica, 28.3 % de cortisol y 88.6 % de estrona.

## **Hipótesis**

Los cambios en la conducta sexual y niveles de progesterona en heces se relacionan con las diferentes etapas del ciclo estral del borrego cimarrón (*Ovis canadensis*).

Los cambios en la conducta sexual y niveles de progesterona en heces presentan similitud con los del borrego doméstico.

**Objetivo.**

**Objetivo General:** Identificar mediante observación, los estados de comportamiento individual y social, y dentro de estos los eventos de la conducta sexual de la especie así como realizar las mediciones de la hormona progesterona en las heces de las hembras de borrego cimarrón (*O. canadensis*) albergadas en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México.

**Objetivos específicos:**

- 1) Identificar las conductas sexuales de la especie susceptibles de ser medidas.
- 2) Determinar los niveles de progesterona en heces en hembras de borrego cimarrón en su época reproductiva durante los meses de agosto, septiembre y octubre del año 2002.
- 3) Aportar datos para establecer una similitud en el ciclo estral del borrego cimarrón con respecto al del borrego doméstico.

## Material y Métodos

Se realizó el monitoreo de un grupo de 8 borregos cimarrones en cautiverio albergados en el Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México, la cual se localiza en el extremo sur del altiplano meridional del territorio de los Estados Unidos Mexicanos en el paralelo 17 ° de latitud Norte y Meridianos 90° y 99° de longitud Oeste.

El grupo de estudio se encuentra conformado por tres hembras adultas y una juvenil, así como por dos machos adultos y dos juveniles. La generación parental, está compuesta por tres de los ocho ejemplares que actualmente se encuentran formando parte del inventario de dicho zoológico y a los cuales se registró con los siguientes nombres: Nesawe (macho), Atné y Nakwa (hembras). Estos ejemplares provienen de Isla Tiburón, Sonora, y pertenecen a la subespecie *O. canadensis mexicana*. El resto de los ejemplares han nacido en cautiverio dentro de este zoológico. Para hacer posible la identificación de cada individuo se tomaron en cuenta características físicas como tamaño, forma y color de cuernos, complexión y tamaño corporal así como características del pelaje y cicatrices, diferenciándose unos de otros con claridad. Se les asignaron las claves M1, M2, M3 y M4 para identificar a los diferentes machos y las claves H1, H2, H3 y H4 para identificar a las hembras (Cuadro 1). Se realizaron observaciones *ad libitum* durante un periodo de 15 días, para poder establecer un catálogo de conductas (etograma) detallado (Cuadro 2).

**Mediciones conductuales.**

Con base en dicho etograma se llevaron a cabo dos tipos de mediciones comportamentales:

**Muestreo de Barrido:** A intervalos regulares se “censa” rápidamente a un grupo completo de individuos, registrándose la conducta de cada individuo en ese instante. En este caso, la conducta se registró, necesariamente, con la técnica de *registro instantáneo* <sup>(24)</sup>. Los datos colectados por este tipo de observación se realizaron cada 10 minutos registrando la conducta de cada uno de los animales en un momento simultáneo del tiempo.

**Muestreo focal:** Significa que se observa a un solo individuo (o a una dñada, camada u otra unidad) durante una cantidad determinada de tiempo, y se recopilan todas las ocasiones en que muestre una conducta determinada <sup>(23)</sup>. Durante las sesiones de observación que duraban alrededor de tres horas al día, tales observaciones se realizaban entre uno y otro barrido y se restringieron a registrar la conducta de la pareja de macho y hembra que mostraba mayor comportamiento sexual que el resto. Las observaciones se realizaron por la mañana entre las 7:30 y las 15:00 hrs.

El total de horas de observación para todo el estudio fue de 186.

**Toma de muestras de heces.**

Estas se colectaron al final de las sesiones de observación. Durante la sesión se registraba e identificaba el lugar exacto en el que determinada hembra estercoleaba. Al final de la sesión se colectaba cada muestra en una bolsa de plástico, identificándose por escrito con fecha y clave de la hembra y guardándose inmediatamente en congelación <sup>(21, 22, 23, 25, 26)</sup>. Se mantuvieron a temperatura de - 4°C en el laboratorio clínico de la Dirección General de Zoológicos de la Ciudad de México que se encuentra en el Zoológico de Chapultepec, hasta su posterior análisis en el laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción de la FMVZ, UNAM. Cabe mencionar que no siempre fue posible la colección de muestras de todas las hembras el mismo día por factores inherentes al mismo grupo de animales y por no interferir con las sesiones de observación.

**Manejo de muestras de heces.**

Para realizar la extracción de esteroides se empleó un método modificado de las técnicas descritas por Larter, Rajamahendran y Sivakumaran (1994) <sup>(21)</sup>, Masunda *et al.* (1999) <sup>(22)</sup> y Hirata y Mori (1995) <sup>(23)</sup>.

Se toma una alícuota de 0.25 g de cada muestra a la cual se agregan 1.5 ml de H<sub>2</sub>O destilada y se homogeneizan 1 min pasando el contenido a tubos de 160mm x 125mm (tubo 1). Se extraen tres veces con 3 ml de éter etílico (EE), de la siguiente forma: se agregan los 3 ml de EE y se agitan los tubos durante 2 minutos en cada ocasión, tapándolos con aluminio para evitar que el EE se evapore.

Una vez agitados los tubos, se colocan en congelación brusca (en hielo seco con acetona por 1-2 min) con lo que se separa el extracto en dos fases. La fase

orgánica (líquida), resultante de cada extracción se decanta en tubos de 10 ml (tubo 2). La fase acuosa se congela con el paso anterior. Se limpian las paredes del tubo 1, donde se coloca la muestra, con 0.5 ml de éter. Se centrifugan los tubos a 3000 rpm durante 30 min decantando en los tubos 2. Se evaporan en baño de agua tibia a 42°C y nitrógeno a presión. Se resuspende el extracto resultante en 2 ml de etanol, agitando 1 minuto y sonicando 10 min. Se diluye este extracto 10 veces en Buffer fosfato salino conteniendo 1% de albúmina de suero bovino (PBS-BSA).

### **Análisis de Progesterona.**

Las muestras se analizaron por medio de RIA de fase sólida utilizando un kit comercial de RIA (Coat A Count, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). Se trabajó de acuerdo a las especificaciones del proveedor, el cual indica una sensibilidad analítica de 0.02 ng/ml y es altamente específico para progesterona, con una baja reacción cruzada con otros esteroides (5 $\alpha$ -Pregnan-3,20-diona, 9.0%; 17 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona, 3.4%; 5 $\beta$ -Pregnan-3,20-diona, 3.2%; 11-Deoxicorticosterona, 2.2%; corticosterona 0.9%) o fármacos que pudieran estar en las muestras.

### **Validación de la Técnica de Extracción.**

Se realizó una dilución de progesterona tritiada (3H P4=3000 cpm) y se agregaron 50  $\mu$ l a cada muestra (n=100) en el paso de homogeneización de la misma. Se midió la radiación emitida al extracto final, para verificar el porcentaje de

extracción de la técnica. El porcentaje de extracción resultante fue en promedio de 60%.

### **Análisis de los datos conductuales y hormonales.**

Los datos fueron colectados a lo largo de 60 días continuos de observación. Se obtuvo la proporción de tiempo a partir de los barridos realizados para ser analizados estadísticamente. Esto se logró dividiendo el número de barridos en que se mostraba cada comportamiento entre el total de barridos, multiplicándolo por 100 para obtener proporciones:

Ejemplo:

$$\frac{\text{\# de barridos de la conducta}}{\text{Total de barridos}} \times 100 = \text{Proporción de tiempo}$$

Así como la duración del comportamiento a partir del muestreo focal, la que se obtuvo dividiendo la duración en horas de un comportamiento en particular entre el total de horas de observación.

Ejemplo:

$$\frac{\text{Tiempo (hr) de conducta}}{\text{Total de horas de observación}} = \text{Promedio de duración de la conducta por hora}$$

Los datos obtenidos de la medición de progesterona se procesaron por medio de una prueba de t de Student.

Para las interacciones de comportamiento dentro del grupo observado se aplicaron las pruebas de correlación de Spearman y la prueba de Wilcoxon.

## Resultados

### Comportamiento

De acuerdo a las 7 categorías en que se agruparon los diferentes comportamientos (Cuadro 2) se encontró que en este grupo de borrego cimarrón en cautiverio se lleva a cabo durante el 35.21% del tiempo actividades dentro de la categoría de descanso; cabe mencionar que dentro de dicho porcentaje, este grupo dedicó el 17.1% a permanecer echado; el 10.6% a la actividad de rumia y el 7.6% del tiempo a dormir. Durante el 26.9% del tiempo desempeñaron actividades de locomoción, de las cuales estos individuos dedicaron a la actividad de caminar el 6.8%, a correr el 2% y a permanecer de pie en estado de vigilia el 18% del tiempo. Este grupo llevó a cabo durante el 16.64% del tiempo conductas alimenticias, es decir comer y beber. El 13.37% del tiempo se ubica en sitios no accesibles para el observador. El 6.85% corresponde a comportamientos sexuales, el 2.42% lleva a cabo comportamientos agonísticos, y la conducta eliminatoria se observó sólo el 0.4% del tiempo (Figuras 1, 2 y 3).

Con base en esto, las observaciones que corresponden exclusivamente a las conductas sexuales que se presentaron en la población de machos estudiada sumaron un porcentaje parcial de 8.115% y mostraron diferentes proporciones en el siguiente orden decreciente: Seguir a la hembra (3%), relamerse los belfos (2.07%), olfateo de genitales (2.015%), signo de flehmen (0.76 %), monta (0.16%) y solicitud de monta (0.11%) (Figura 4).

En las hembras, las proporciones de tiempo en que mostraron comportamientos sexuales se observaron en el siguiente orden decreciente: ser seguida por el macho (3.1%), permitir olfateo de genitales (2.02%), relamerse los belfos (0.27%),

permitir la monta (0.11%), oler genitales (0.05%) y signo de flehmen (0.05%), sumando un porcentaje parcial de 6.25% (Figura 4). Durante los periodos de observación fue notoria una mayor actividad reproductiva por parte del macho 1 (Nesawe) como puede apreciarse en la prueba de correlación de Spearman, en la que se comparó la actividad como emisores de cada uno de los machos con el grupo de hembras, como receptoras, encontrándose una diferencia significativa del macho 1 ( $p < 0.05$ ), con respecto a los otros tres machos, es decir, que fue el que mostró mayor interacción con todas las hembras. El macho 3 (Juan) mostró diferencia significativa con la hembra 2 (Coki) ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 3).

Por su parte, las hembras mostraron ligeras diferencias en el grado de interacción con los machos, siendo la hembra 1 (H1) la más activa en cuanto a comportamientos sexuales y siendo la hembra 4 (H4) la que presentó menor proporción de los mismos (Figura 6).

Dentro de estas interacciones, el evento de monta se registró en cuatro diferentes ocasiones para la H1, dos días seguidos para H2 y una sola vez para cada una de las hembras restantes (H3, H4) como se aprecia en el Cuadro 4.

### **Cambios hormonales durante el ciclo**

Las Figuras 7, 8, 9 y 10 presentan los niveles de progesterona encontrados en heces. Estos fueron analizados por separado para cada hembra, pero se agruparon para determinar si los individuos se encontraban en condiciones reproductivas similares durante el tiempo que se mantenían bajo observación. En la prueba de t de Student no hubo diferencia significativa entre tres hembras (H1, H2, y H3) del grupo por lo que podemos asegurar que se hallaban en una misma etapa dentro de su ciclo reproductivo, es decir, se encontraban ciclando y no en anestro durante el tiempo que duró el estudio; sin embargo, el total de hembras estudiadas fue de cuatro ejemplares (n= 4) de las cuales la H4 si mostró diferencia significativa con respecto al resto del grupo de modo que su estado reproductivo no era el mismo que el de las otras hembras. En este individuo se apreciaron valores bajos y constantes (<20 ng/g) desde el inicio del periodo de observaciones (día 1) hasta el día 59 del estudio. El día 61 se incrementó el valor hasta 26.18 ng/g y los días 64, 65 y 66 se registraron valores de 35.6, 101.4 y 38.3 ng/g de progesterona respectivamente, representando esto un pico muy pronunciado, con una caída brusca a partir del día 68 (valores < 10 ng/g) (Figura 10).

Los valores promedio de progesterona por hembra, muestran que la H2 obtuvo el mayor promedio de progesterona ( $37.87 \pm 6.80$ ) mientras que la H4 obtuvo el promedio menor del grupo ( $6.60 \pm 1.01$ ) (Cuadro 5).

### **Comportamiento sexual y hormonas**

Un hallazgo común a todas las hembras fue la caída de niveles de progesterona el día previo de la receptividad al macho. Los valores en este punto, muy bajo, oscilaron entre 3.34 a 12.4 ng P4/g de heces.

Para apreciar con claridad este fenómeno, se presentan en las Figuras 11, 12, 13 y 14 las gráficas que integran ambas mediciones para describir los cambios de conducta y de niveles hormonales en las cuatro diferentes hembras a lo largo del estudio.

Tomando como referencia el primer día de monta de cada ciclo, y denominándolo como día “cero” se pudieron registrar solamente en la H1 tres ciclos completos (receptividad sexual a receptividad sexual) con intervalos de 20, 13 y 15 días cada uno de ellos (Promedio =  $16 \pm 2.94$ ).

### **Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H1**

En la gráfica correspondiente a la progesterona y comportamientos sexuales de la H1 (Fig. 11) puede observarse repetidamente un mismo fenómeno, que consiste en incremento de las conductas sexuales indicativas de estro los días en que la progesterona tiene niveles bajos. Los días 4 y 5 del estudio, este último, día en el cual hubo monta, hubo un incremento en las conductas “permitir olfateo de genitales” y “permite el seguimiento”; éstas descendieron gradualmente en los días posteriores y se repitieron alrededor de los días 23, 24 y 25, principalmente la conducta “permite el seguimiento”. Cabe mencionar que estos tres días se registraron montas. Los días 35, 36 y 37 se vieron incrementados los mismos

comportamientos registrándose la monta el día 37. Por último, los días 49 y 50 se observó también un ligero incremento de ambas conductas registrándose la monta el día 51. Como se mencionó anteriormente, en las fechas en que la hembra se mostró receptiva se obtuvieron valores de progesterona muy bajos, en este individuo en particular fueron valores menores a 10 ng/g. La conducta “orinar” no muestra una elevación muy clara a pesar de que hay ligeros incrementos en los primeros días del estudio (1 – 9) y los últimos (49 – 59).

### **Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H2**

La Figura 12 que corresponde a la H2 denota un claro aumento de las conductas “permitir olfateo de genitales” y “permitir el seguimiento” los días 6, 7 y 8 del estudio. Estos dos últimos días hubo montas registradas para esta hembra y en ella, los valores fueron superiores a los 10 ng/g, pero inferiores a los 20 ng/g. Es importante mencionar que el siguiente punto más bajo en la gráfica de P4 se dio alrededor de 24 días más tarde (día 31- 10.34 ng/g). No hubo alteraciones en el comportamiento en esta etapa. Posterior a este punto bajo de P4 los niveles aumentaron paulatinamente los siguientes 29 días manteniéndose arriba de los 30 ng/g. Sólo se logró registrar un ciclo en la H2.

### **Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H3**

En la Figura 13 correspondiente a la H3 aumentaron los niveles de las conductas “permitir olfateo de genitales” y “permitir el seguimiento” los días 35, 36 y 37 registrándose monta el día 35 del estudio con niveles bajos de P4 de 9.94 ng/g. Alrededor de los días 3, 4 y 6 del estudio, se observó una alta concentración de

progesterona ( $>50$  ng/g) y una caída ( $<10$  ng/g) con aumento de actividad “permitir olfateo de genitales”, “permitir el seguimiento” y “orina”, pero sin registrarse monta.

#### **Niveles de progesterona y comportamiento sexual de H4**

La Figura 14 corresponde a la H4, la cual, dada su condición de juvenil hasta entonces en la manada no había presentado signos de estro. En ella se puede observar que durante casi todo el periodo de observaciones mantuvo niveles de P4 por debajo de 20 ng/g con excepción de los últimos días en los que es evidente un aumento de P4 ( $>100$  ng/g) seguido de una disminución ( $<10$  ng/g). El día de esta disminución, es decir el 56 del estudio, que coincide con el día de monta se elevaron notoriamente las conductas “permite el seguimiento” y “orina”, registrándose varias montas a esta hembra durante este día.

## **Discusión.**

Es importante hacer notar que se graficó la progesterona con base en la fecha de colección de cada muestra de heces, pero se debe tomar en cuenta el “tiempo de retraso”, es decir, el tiempo que tarda en pasar del torrente circulatorio al TGI para ser eliminada por medio de las excretas; en el borrego doméstico este tiempo está estimado en 1.59 días <sup>(20)</sup> y para fines prácticos del presente trabajo se consideró 1 día (24 horas). Esto equivale a recorrer a 1 día anterior el valor registrado de P4, y dado que en todas las hembras se observa el evento de monta el día del valor bajo de P4, se considera al menos un tiempo de 24 horas entre este punto bajo de P4 y dicho evento de monta.

Estas ocasiones de monta se consideraron de importancia en las sesiones de observación ya que ponían de manifiesto la receptividad de la hembra <sup>(14)</sup>, indicando que se hallaba en la etapa de estro de su ciclo, pudiendo así tomar estas fechas como punto de partida para poder inferir algún evento de importancia. (Cuadro 4).

Las cuatro hembras estudiadas mostraron alguna correspondencia entre los eventos conductuales y las mediciones hormonales. Resultados similares, realizados por Chunwang (2001) en venados del Padre David (*Elaphurus davidianus*), muestran que las conductas sexuales pueden ser medidas simultáneamente en machos y hembras de grupos en semicautiverio, monitoreando a la vez el contenido de hormonas reproductivas por medio de muestreo en heces <sup>(25)</sup>. En el presente trabajo al medir el nivel de progesterona en

heces en las hembras y evaluar su correspondencia con la conducta de las mismas, se logró establecer patrones de comportamiento que coinciden con niveles hormonales. Tal es el caso del evento de Monta, que invariablemente se presentó en todas las hembras cuando los niveles de progesterona fueron muy bajos, y particularmente cuando presentaron una reducción brusca con respecto a un periodo previo en que los valores fueron más altos. Relacionemos estos hallazgos al comportamiento hormonal y conductual de la borrega doméstica. En *Ovis aries* se produce  $\text{PGF}_2 \alpha$  entre el día 14 ó 15 del ciclo ocasionando la destrucción del cuerpo lúteo, y la consecuente reducción en los niveles de progesterona circulante, lo cual suprime la retroalimentación negativa en hipófisis aumentando la frecuencia en la secreción y liberación de GnRH, FSH y LH con lo que se genera el desarrollo de folículos ováricos que producirán altas cantidades del estradiol. El aumento de los niveles estrogénicos en ausencia de progesterona durante esta fase del ciclo (folicular) provocará retroalimentación positiva en el eje hipotalámico-hipofisiario, ocasionando la liberación de LH la cual desencadenará el proceso de ovulación. El descenso de progesterona detectado en las borregas cimarrón estudiadas nos sugiere este proceso de luteólisis, y el aumento notorio de conductas sexuales como permitir el seguimiento, permitir el olfateo de genitales y principalmente permitir la monta sugiere ese aumento de estrógenos derivado de la activación del eje hipotálamo - hipófisis - gónadas por ausencia o disminución de progesterona. Esta disminución ocurrió en los sujetos de estudio entre 1 y 3 días previos a la receptividad sexual o monta, es decir, entre 24 y 72 horas<sup>(27)</sup>.

Los factores por los cuales no fue posible observar más de un ciclo en todas las borregas con excepción de la H1 pudieron ser varios, inherentes a cada individuo y cuyas situaciones serán analizadas a continuación.

En la H2 gracias a información recibida fuera del tiempo de estudio, fue posible comprobar la fecha de parto el día 1° de marzo de 2003, lo cual nos indica que esta hembra quedó gestante alrededor del día 7 de septiembre de 2002 (considerando 174 días de gestación para la especie); las montas fueron registradas los días 9 y 10 de septiembre de ese mismo año, lo cual explica el por qué esta borrega no mostró aumentos importantes en comportamientos sexuales, ya que podemos inferir que presentaba un cuerpo lúteo gestacional que al producir progesterona no permite el desarrollo de folículos preovulatorios gracias a la inhibición hipotálamico-hipofisiaria, evitando así la presentación de estros y ovulaciones. No obstante, es importante resaltar que 24 días después de su fecha de monta registrada se encontró un solo punto muy bajo de progesterona (< 20 ng/g), pero no se apreciaron cambios en el comportamiento en esta etapa. Posterior a este punto bajo de P4 los niveles no se redujeron los siguientes 29 días manteniéndose arriba de los 30 ng/g.

En la H3, es posible observar, al igual que en las otras una correspondencia entre niveles bajos de P4 y aumentos en las conductas “permitir olfateo de genitales” y “permitir el seguimiento”. No obstante, en esta hembra el patrón no es muy claro y no se registra más que una monta en el día 35 del estudio a pesar de que hubo otros periodos en los que se incrementaron las conductas de estro. Esta ausencia en el registro de montas pudo deberse a que éstas ocurrieron fuera del alcance

del observador, o bien que los machos mostraron preferencia hacia alguna otra hembra en particular ignorando a la H3 <sup>(15)</sup>.

En la H4 no fue posible registrar más que un periodo de estro con varias montas consecutivas al final del periodo de observaciones, dada su condición de juvenil. A pesar de que en cautiverio las borregas silvestres son capaces de criar exitosamente teniendo únicamente 10 u 11 meses de edad, no es hasta el segundo o tercer año de vida cuando quedan gestantes <sup>(3)</sup>. Esta borrega tenía una edad aproximada de dos años, por lo cual en su grupo social ya era un individuo en inicio de edad reproductiva, es decir en etapa de pubertad. En ella fue posible observar el inicio de su actividad reproductiva con signos similares a los que se han descrito para borrega doméstica, en la cual se sabe que es el hipotálamo quien limita la actividad reproductiva en el periodo que antecede a la pubertad, a pesar de que el ovario y el tejido hipofisiario son capaces de funcionar incluso desde la novena a doceava semana de edad siempre y cuando exista un estímulo apropiado. Poco antes de la pubertad aumenta la liberación de FSH y LH debido a un aumento tanto en amplitud como en frecuencia de los pulsos de secreción de estas hormonas, lo que estimula el desarrollo folicular causando un aumento en la producción y liberación de hormonas esteroides, entre ellas estradiol. Antes de la pubertad, al alcanzar cierto nivel estos esteroides actúan sobre el hipotálamo, ocasionando una retroalimentación negativa sobre la LH y por ende una reducción en la secreción de estradiol. Al iniciarse la pubertad el centro de control tónico de LH en el hipotálamo se vuelve refractario a la acción de retroalimentación negativa de los estrógenos, lo que ocasiona un aumento en la secreción de pulsos de LH. Esto ocasiona un aumento en la liberación de estradiol

a partir de los folículos ováricos, al aumentar lo suficiente estos niveles es estimulado el hipotálamo y se libera GnRH que induce el pico preovulatorio de LH, la maduración del folículo y por consiguiente la ovulación <sup>(18)</sup>.

En la H4 los niveles de progesterona se mantuvieron bajos a lo largo de casi todo el estudio, indicando que ya había cierta producción de esta hormona, y al igual que como ocurre en borrega doméstica, ésta pudo haber presentado una o más ovulaciones, pero con estros silenciosos, puesto que tanto en corderas como en ovejas adultas los centros del sistema nervioso central responsables de la expresión de la conducta estral sólo son sensibles a los estrógenos después de una estimulación previa con progesterona; es por esta razón que la primera ovulación puberal casi nunca es acompañada por manifestaciones de estro <sup>(28)</sup>. Antes de la primera ovulación puberal se han observado elevaciones de progesterona plasmática de corta duración. El origen de este pico de progesterona aún no está bien definido. Algunos autores sugieren que el origen de este pico puede ser desde el tejido adrenal; o bien que puede deberse a una luteinización folicular o a una ovulación seguida de una formación de un cuerpo lúteo anormal. En esta borrega, se observó un aumento ligero de progesterona (>20 ng/g) 8 días antes de la fecha de monta, y un aumento considerable (>100 ng/g) 4 días antes de esta misma fecha, la cual puede corresponder a la elevación transitoria mencionada anteriormente y por último se observó una reducción brusca (<10 ng/g) 1 día antes de esta fecha de receptividad sexual, la cual pudiera corresponder al término de la retroalimentación negativa ejercida por la progesterona en hipotálamo – hipófisis y el consiguiente desarrollo de un folículo preovulatorio productor de estrógenos, según lo mencionado por Kirkwood, citado

por Balcázar (1992). Cuando los niveles séricos de estrógenos alcanzaron niveles relativamente altos, el área preóptica del hipotálamo previamente sensibilizada fue estimulada respondiendo con una gran liberación de GnRH, resultando en el pico preovulatorio de LH (retroalimentación positiva) lo que indujo la primera ovulación puberal de esta borrega, y por ende a su primer ciclo estral con manifestaciones claras de receptividad sexual <sup>(18, 27, 28)</sup>.

En la detección de estro en borregas domésticas uno de los factores limitantes es la permanencia en grupos exclusivos de hembras, ya que de esta forma los signos del mismo no son muy notorios. Sin embargo, en grupos mixtos de individuos silvestres aunque estén en cautiverio, como los empleados en el presente trabajo, se muestra que si hay cambios endocrinos que pueden medirse directamente a partir de cambios conductuales en las hembras de esta especie, e indirectamente en el comportamiento de los machos.

Las conductas “permite el olfateo de genitales” y “permite el seguimiento” fueron mostradas en la H1 los días -2, -1, 0, +1 y +2 de las 4 diferentes fechas de monta; en la H2 los días 0, +1 y +2; en las H3 el día 0 y en la H4 el día 0 correspondiendo por lo tanto al pico de receptividad y siendo éstas conductas indicadoras de la etapa de estro.

La conducta O muestra elevaciones mínimas en la H1 los días +1, +4 y -3; en la H2 el día +1 después de un punto bajo de P4 sin registro de monta; en la H3 los días -9 y +10 y en la H4 el día -6 y mostrando un pico pronunciado el día 0. Dado que estos valores se encuentran muy alejados entre sí, mostrando una alta variación no se considera ésta una conducta indicadora del periodo de

receptividad tal como lo menciona Houpt (1998) ya que la acción de orinar parece ser un signo de que la borrega no se encuentra en estro <sup>(14)</sup>. Debido a esto mismo, esta autora reporta que el signo de flehmen por parte de los carneros es menos frecuente cuando las borregas están en estro puesto que orinan menos <sup>(14)</sup>. En este caso, se presentó una excepción en la H4 en la que si se observó un pico alto en la conducta O el día de mayor receptividad.

Con respecto a la actividad reproductiva desarrollada entre el mismo grupo de machos podemos destacar el elevado grado de interacción que tuvo el macho 1 con todas las hembras, a diferencia de los machos restantes; dichos resultados coinciden con lo informado por Coltman *et al.* (2002) y Tilbrook (1984) puesto que en esta especie es muy importante la jerarquía de un individuo en el grupo para poder tener mayor éxito reproductivo. Con respecto al grado de interacción mostrado por el macho 3 con respecto a la hembra 2, se mencionan algunas estrategias como el acoso y el bloqueo usadas por los machos con menor tamaño corporal, edad y jerarquía para tener acceso a las hembras en estro en la época reproductiva <sup>(16)</sup>.

La medición de esteroides, en este caso de progesterona a partir de las heces mostró ser un método práctico, no invasivo y eficaz para evaluar y describir el estado fisiológico general del sistema reproductivo de las borregas estudiadas.

No obstante, es también evidente que la medición simultánea de otros esteroides, como el estradiol en las heces de las hembras a lo largo de la época reproductiva de estos animales podría aportar información más precisa sobre la duración de cada una de las etapas del ciclo estral del *Ovis canadensis*.

Podemos sugerir que si existe una relación entre el comportamiento mostrado por las hembras y los niveles hormonales que pasan del torrente circulatorio a heces, mostrándose aumentos en las actividades de olfateo de genitales y seguimiento de las hembras cuando la progesterona desciende.

Aunado a esto, se pudo apreciar mayor actividad sexual por parte de dos hembras de este grupo, confirmando lo anteriormente dicho en cuanto a que en esta especie hay preferencias sexuales teniendo algunos ejemplares mayor éxito reproductivo que otros <sup>(15)</sup>.

**Conclusiones.**

Las conductas permitir el seguimiento y permitir el olfateo de genitales corresponden al periodo de receptividad sexual y se asocian con niveles bajos de progesterona en borregas cimarrón en cautiverio.

La medición de progesterona en heces por medio de Kit comercial de RIA de las hembras de borrego cimarrón en cautiverio permitió apreciar eventos como la disminución de progesterona seguida de presentación de conductas sexuales.

La integración de mediciones hormonales en heces y observaciones conductuales pueden ser un valioso instrumento para obtener mayor información sobre los ciclos reproductivos de especies silvestres en cautiverio sin necesidad del uso de técnicas demasiado invasivas o excesivamente costosas.

No fue posible determinar el ciclo estral del borrego cimarrón en cautiverio, sin embargo se obtuvo información que sugiere una similitud con respecto al ciclo del borrego doméstico.

## Apéndice Cuadros

Cuadro 1. Identificación de los ejemplares albergados en el Zoológico de Chapultepec

Clave Machos	Nombre propio	Clave Hembras	Nombre propio
M1	Julio	H1	Atné
M2	Joaquín	H2	Coki
M3	Juan	H3	Nakwa
M4	Justiniano	H4	Yumari

Cuadro 2. Etograma de borrego cimarrón.

Sistema Motivacional	Categoría	Comportamiento	Clave
Individual	Trófico	Comer/ beber	ch/bb
	Eliminativo	Orinar/defecar	O/D
	Descanso	Echado/Dormir/Rumiar	ech/Dd/rum
	Locomoción	Camina/Salta/Corre	Cam/O/ corr
		Vocalización	bal
Social	Agonístico	Marcar/Topar/Amenazar/Patear	mrk/top/amen/pat
	Sexual	Relamer/Oler genitales / Permite olfateo de genitales	Relam/hg/Phg
		Seguir /Permite seguimiento	S/eS
		Solicitud de monta /Monta/Flehmen	Cort/M/ Flix
		No avistado	na

### Comportamiento Individual o de Mantenimiento.

#### Trófico (Alimentación).

Comer: Acción de ingestión, masticación y deglución. Dado que el borrego es un herbívoro rumiante, su alimentación es a base de forraje. Para llevar a cabo esta actividad, el animal utiliza sus belfos móviles para seleccionar el alimento y posteriormente lo introduce a la cavidad bucal con ayuda de la lengua para ser masticado y al final ser deglutido.

Beber: Acción de ingerir agua o algún otro líquido.

## **Eliminación**

Orinar: Eliminación del contenido de la vejiga urinaria por medio de la uretra. La hembra ovina permanece de pie y agacha la grupa doblando ligeramente los miembros posteriores, además de levantar ligeramente el rabo para orinar. El macho sólo permanece quieto, de pie para eliminar la orina.

Defecar: Eliminación del contenido fecal del recto a través del ano. El cimarrón levanta el rabo unos segundos antes de la salida de las heces y lo mantiene levantado mientras elimina dicho material; puede defecar mientras camina, de pie y quieto, mientras come o echado mientras rumia o descansa.

## **Descanso**

Echado: El borrego generalmente reposa en decúbito esternal con los miembros en posición ligeramente oblicua hacia la izquierda o derecha, extendidos o flexionados. El cimarrón prefiere echarse en superficies rocosas elevadas, aunque algunas veces lo hace en el suelo o sobre el alimento. Puede adoptar ciertas variaciones como la de apoyar por completo la cabeza sobre el lugar de descanso, dormir con el cuello en posición erguida, o en raras ocasiones casi en decúbito lateral. También puede adoptar una posición de “ovillo”, es decir, el cuello doblado sobre cualquiera de los costados del cuerpo.

Dormir: Estado natural de descanso en el que el individuo permanece ajeno a los estímulos ambientales, con los ojos cerrados y en completo estado de relajación.

Rumiar: Es la acción de reensalivar, remasticar y deglutir el material alimenticio proveniente del rumen, posterior a la regurgitación del mismo.

## **Locomoción**

**Caminar:** Es el desplazamiento del animal de un lugar a otro por medio de movimientos coordinados de los miembros anteriores y posteriores sobre el piso.

**Saltar:** Es el desplazamiento del animal de un lugar a otro gracias al impulso proveniente de sus cuatro extremidades; generalmente el individuo salta dirigiendo los miembros anteriores al lugar donde caerá e impulsándose con los miembros posteriores, que caen después.

**Correr:** Es el desplazamiento veloz del animal de un lugar a otro por medio de movimientos de carrera en sus extremidades.

## **Vocalizaciones**

**Balido:** Es la vocalización característica de los pequeños rumiantes, y es un sonido ronco, parecido a una "a" entrecortada, que emiten con el hocico bien abierto, sacando ligeramente la lengua. Puede denotar molestia, amenaza o demanda, ya que se observó esta conducta por parte de la cría, o en los individuos más jóvenes antes de la alimentación, así como en el macho dominante y esporádicamente en una de las hembras adultas (H1).

## **Comportamiento Social**

### **Agonístico**

**Marcar:** Acción de depositar el olor propio del individuo en ciertas superficies, principalmente por medio del frotamiento de las sustancias provenientes de ciertas glándulas exocrinas específicas, en el caso del cimarrón usando las glándulas intercornuales.

**Topar:** Es la acción de golpear con los cuernos cualquier superficie. Puede representar un comportamiento agonístico, de juego o de defensa; en el caso de

un ataque, el individuo antecede el tope poniéndose de pie sólo con los dos miembros posteriores, agachando la cabeza para posteriormente golpear al oponente.

Amenaza: El ejemplar agacha la cabeza para mostrar los cuernos a su oponente. Puede intercalar esta acción con momentos en los que observa a su oponente muy fijamente en posición erguida, con la nariz elevada y con las orejas en posición lateral y arriba. En ciertas ocasiones emite vocalizaciones, patea el piso o topa alguna superficie inerte cercana sin llegar a topar al oponente.

Patear: Esta acción la realiza con cualquiera de los miembros anteriores o posteriores, ya sea golpeando fuertemente sobre el suelo, o bien sobre cualquier otra superficie ajena al cuerpo del propio individuo.

### **Comportamiento Sexual**

Los siguientes comportamientos han sido considerados sexuales por mostrarse dentro del contexto de la conducta de cortejo de la especie, la cual se encuentra descrita con mayor detalle dentro del punto 2. 3. "Comportamiento sexual" del presente trabajo.

Relamer: Es la acción de pasar una o varias veces la lengua por la superficie de los belfos; en el caso del ovino, principalmente el belfo superior.

Olfateo de genitales: Se refiere a la acción del macho de acercar los ollares a la vulva de la hembra, abriendo ampliamente las narinas; las hembras no suelen olfatear al macho, aunque de ocurrir se abrevia como *h. prep* que describe la acción –muy ocasional- de oler el prepucio. Esta última acción no es común, y cuando ocurre suelen realizarla las hembras o machos juveniles. En situación de cortejo el macho lame la vulva después de el olfateo y se relame los belfos.

Permite olfateo de genitales: Esta acción es realizada principalmente por la hembra, no mostrando agresión o evasión de la conducta de olfateo de genitales por parte del macho.

Seguir (seguimiento constante): Se emplea este término exclusivamente cuando uno de los animales camina detrás de otro individuo del sexo opuesto que se encuentra igualmente en locomoción.

Permite el seguimiento (constante): Se ocupa este término para describir la acción que realiza al caminar un individuo, comúnmente una hembra frente a otro que la sigue constantemente sin oponer resistencia, es decir sin atacar o adoptar cualquier posición de descanso.

Montar: Es la acción de un individuo de apoyar la parte anterior de su cuerpo sobre la grupa o parte posterior del cuerpo de otro individuo, sobre el mismo eje. Se ejerce con fines reproductivos; específicamente para la cópula o bien, para denotar dominancia. En la hembra (receptora) se registra como “permite Monta”

Intenta montar: La misma acción descrita en el punto anterior no puede realizarse, generalmente porque el individuo que iba a ser montado huye, se aleja o se encuentra en una posición inadecuada.

Solicitud de Monta: Se refiere, para los fines de este estudio, únicamente a la acción del macho de emitir un balido suave a la vez que se relame los belfos e inclina la cabeza sobre algún punto del cuerpo de la hembra cortejada, casi siempre la grupa. Esta acción ocurre más frecuentemente en locomoción, es decir caminando lentamente, pero puede observarse con la pareja reproductora sin desplazamiento. Se abrevia como *cort*, como se observa en el Cuadro 2.

Flehmen: Este signo es realizado generalmente por un macho para detectar partículas aromáticas (feromonas) por medio del órgano vomeronasal. En él abre ligeramente el hocico y levanta el bello superior. Normalmente también eleva toda la cabeza estirando los músculos del cuello y abriendo las narinas.

Cuadro 3. Interacción entre M1, M2, M3 y M4 (emisores) y H1, H2, H3 y H4 (receptores) de los comportamientos.

Macho	Hembra	R
M1	H1	-0.436 *
	H2	-0.553 *
	H3	-0.406 *
	H4	-0.373 *
M2	H1	-0.188
	H2	-0.292
	H3	-0.210
	H4	-0.161
M3	H1	-0.329
	H2	-0.394 *
	H3	-0.298
	H4	-0.232
M4	H1	-0.141
	H2	-0.183
	H3	-0.247
	H4	-0.099

\* Datos significativamente diferentes. ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 4. Fechas de monta registradas en las hembras de borrego cimarrón.

Individuo	H1	H2	H3	H4
Día de monta	7 y 8 sep 27 y 29 sep 10 oct 25 oct	9 sep 10 sep	8 oct	29 oct

Cuadro 5. Promedios y desviación estándar de los niveles de P4 (progesterona) de las cuatro hembras de borrego cimarrón estudiadas.

Progesterona	H1	H2	H3	H4
Promedio	18.0706977a	37.874a	20.1523077a	6.60829268b
Desviación ST	2.72499716	6.80615346	3.18740759	1.01998513

p(<0.05) t de student

- a. Estadísticamente igual
- b. Estadísticamente diferente

## Figuras

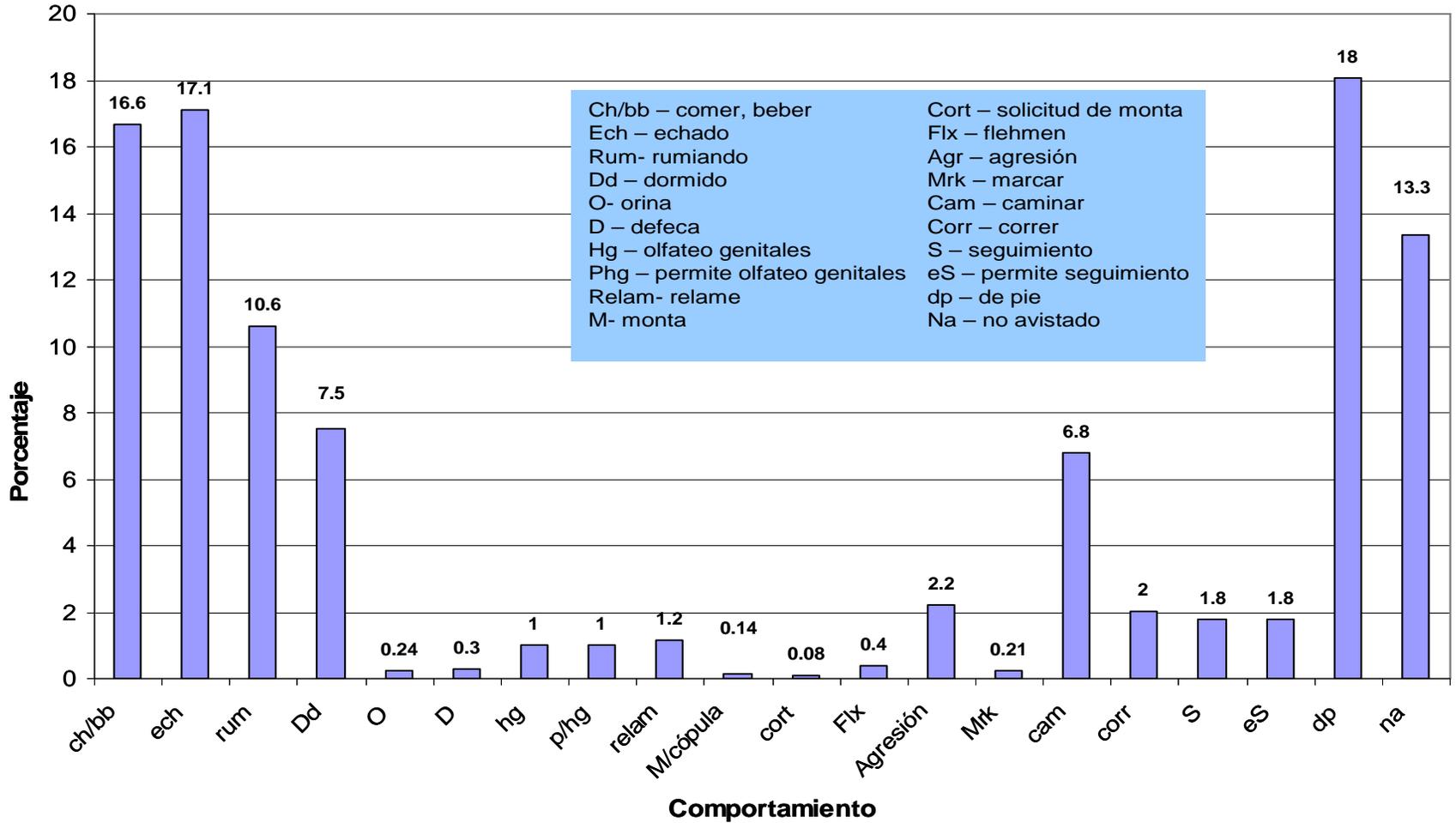


Figura 1. Proporción de tiempo promedio del comportamiento individual y social del borrego cimarrón en cautiverio

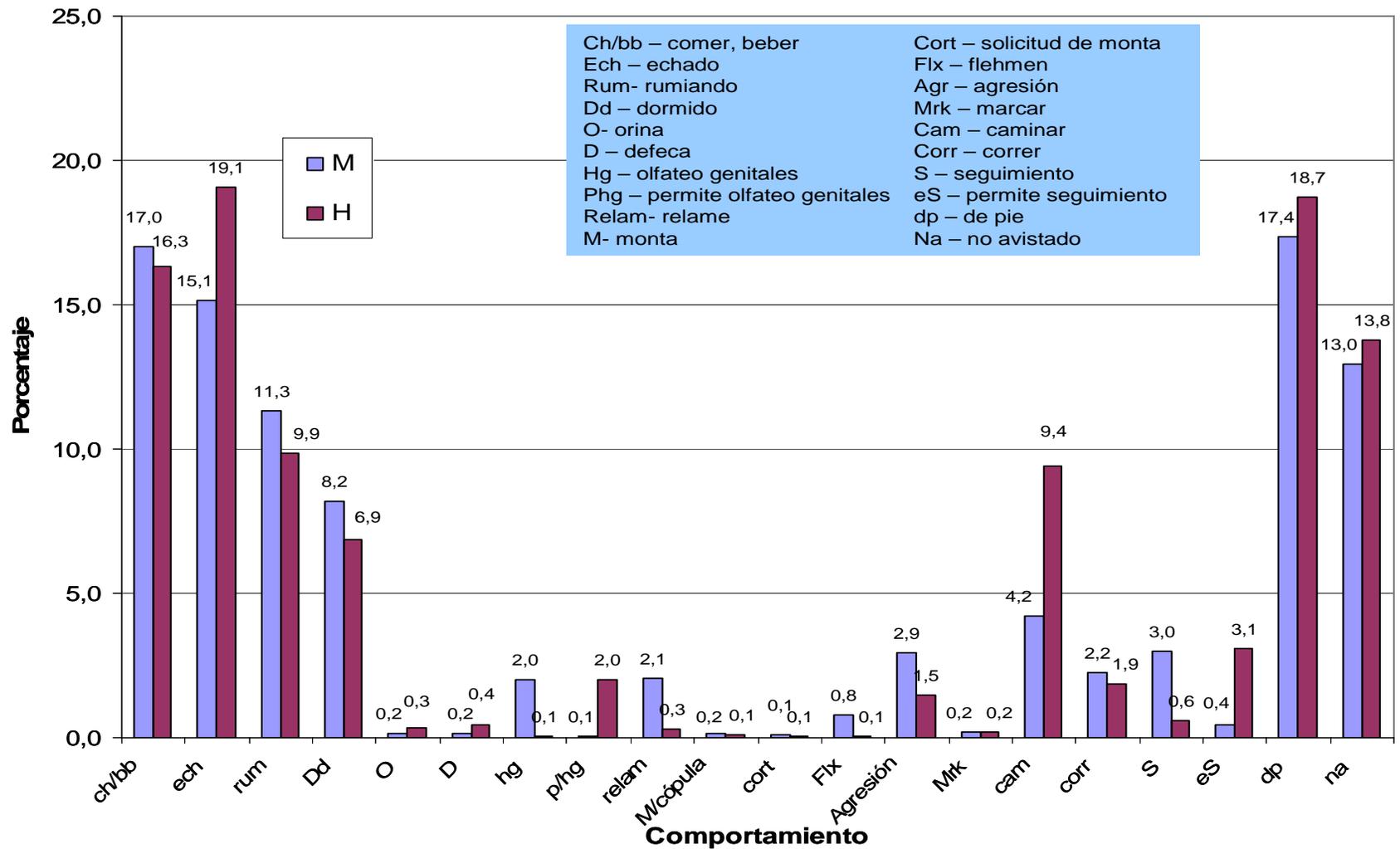


Figura 2. Proporción de tiempo promedio de comportamiento individual y social en machos y hembras de borrego cimarrón en cautiverio

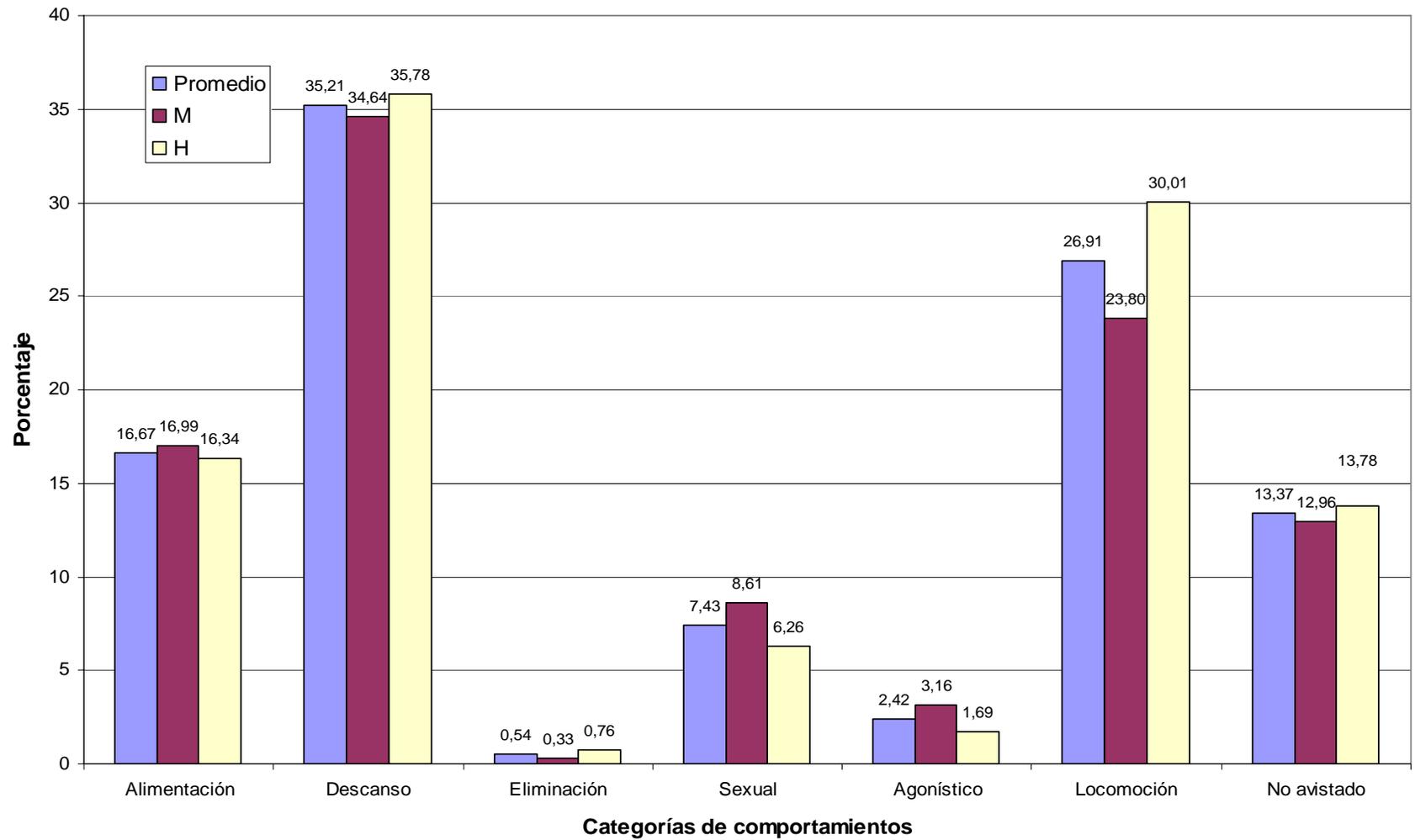


Figura 3. Proporción de tiempo promedio en las diferentes categorías de comportamiento en borrego cimarrón en cautiverio

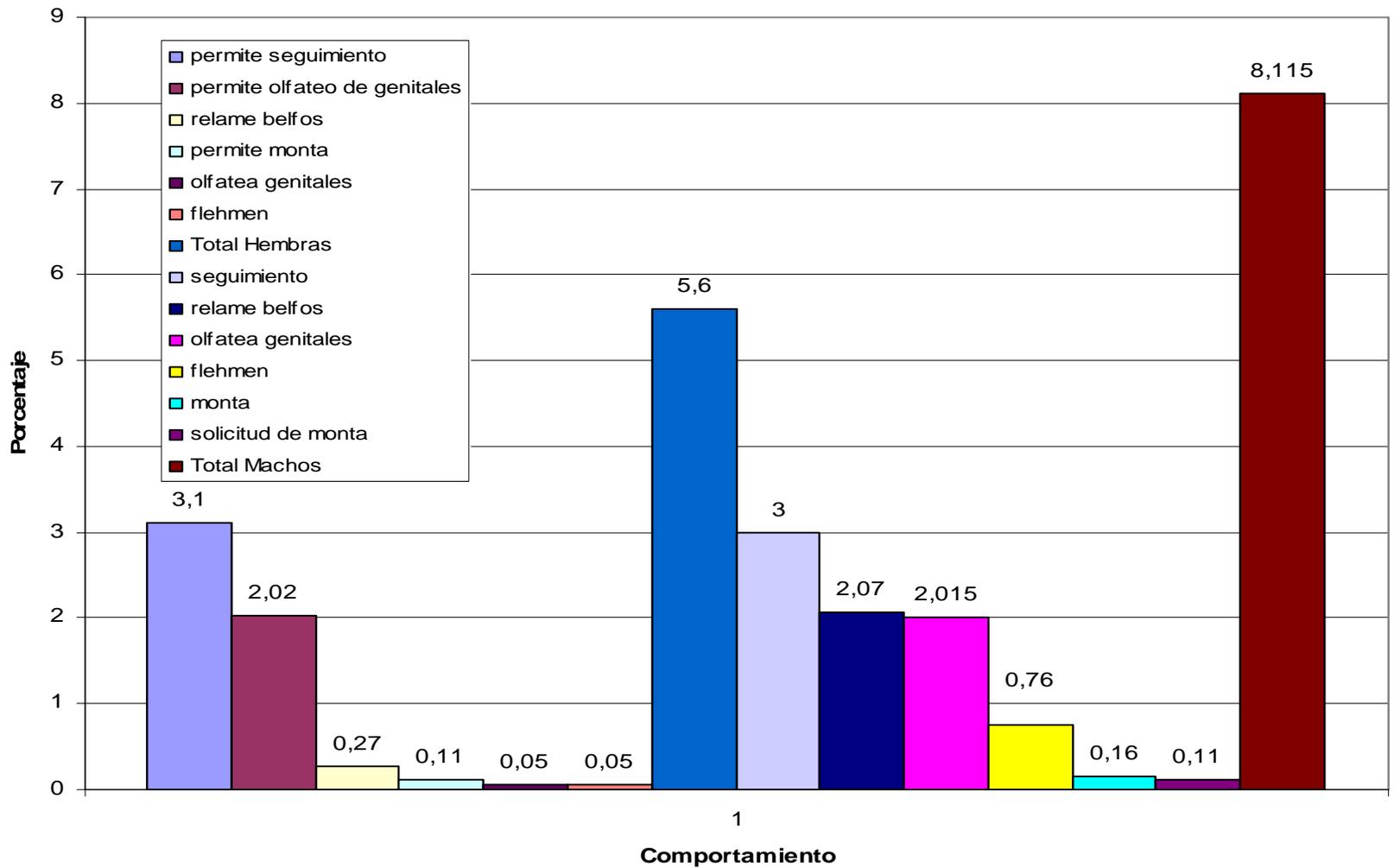


Figura 4. Proporción de tiempo de comportamientos sexuales en machos y hembras de borrego cimarrón en cautiverio

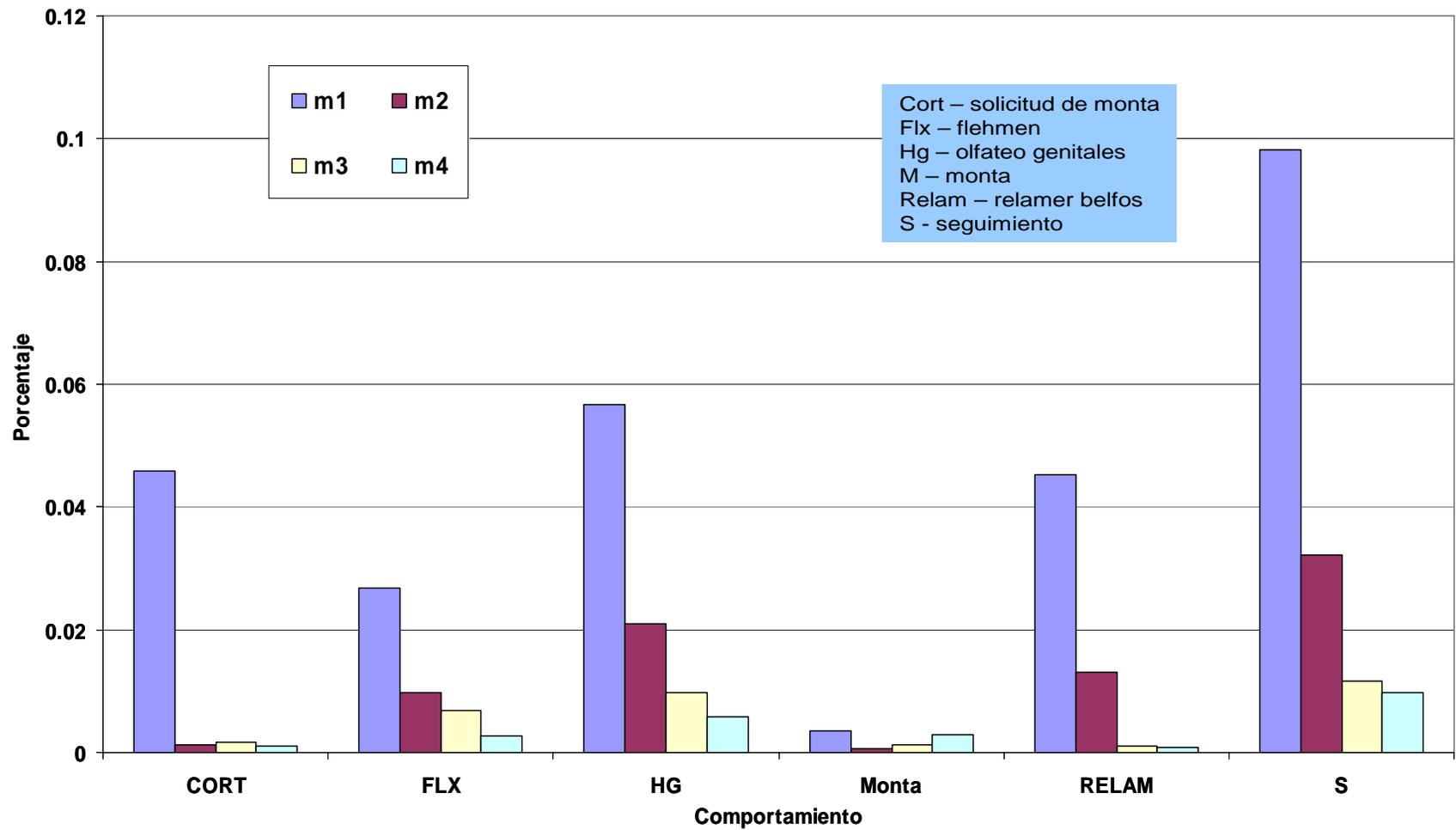


Figura 5. Proporción de tiempo de comportamientos sexuales en machos (emisores) de borrego cimarrón en cautiverio

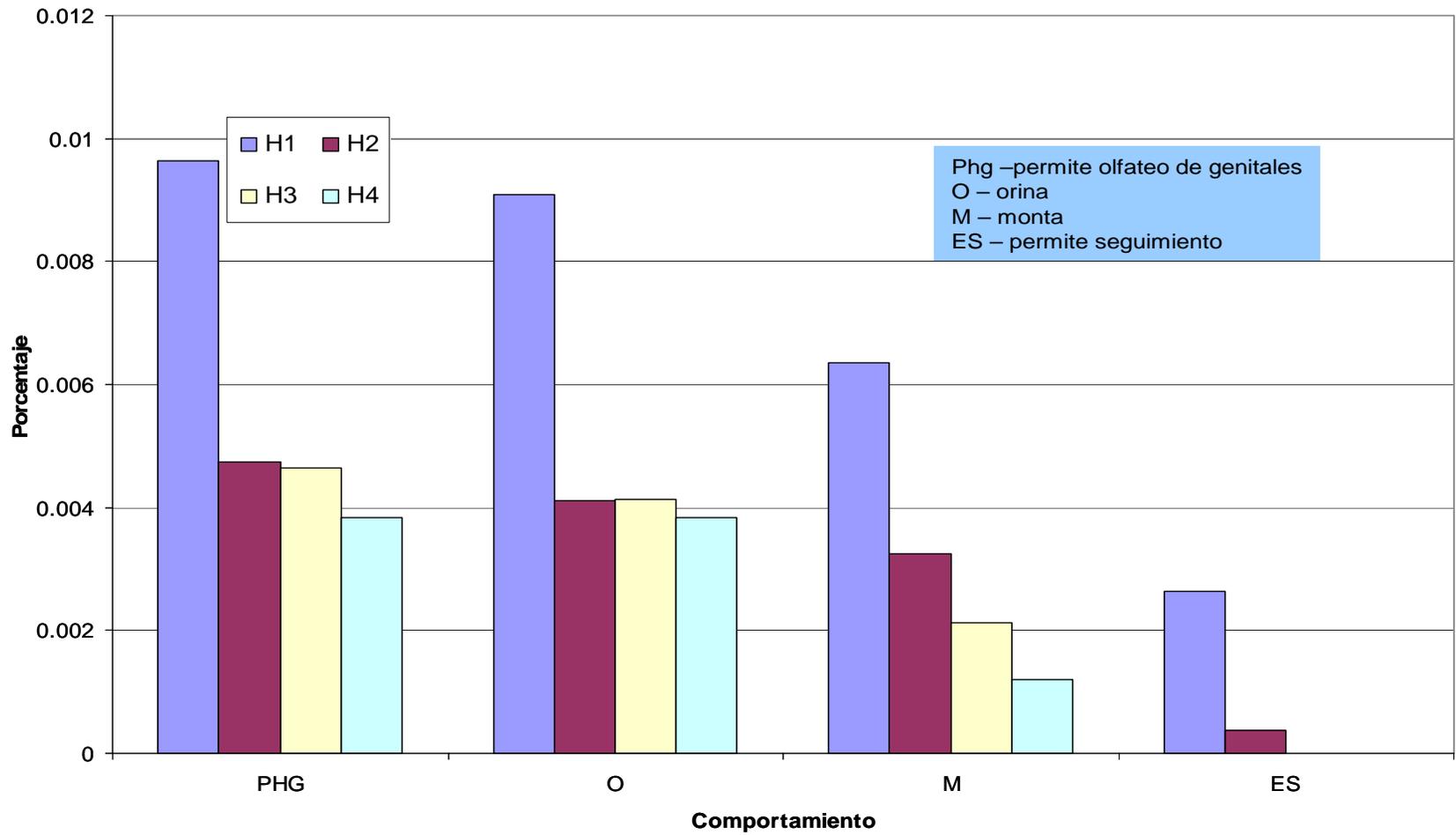


Figura 6. Proporción de tiempo de comportamientos sexuales en las hembras (receptoras) de borrego cimarrón en cautiverio

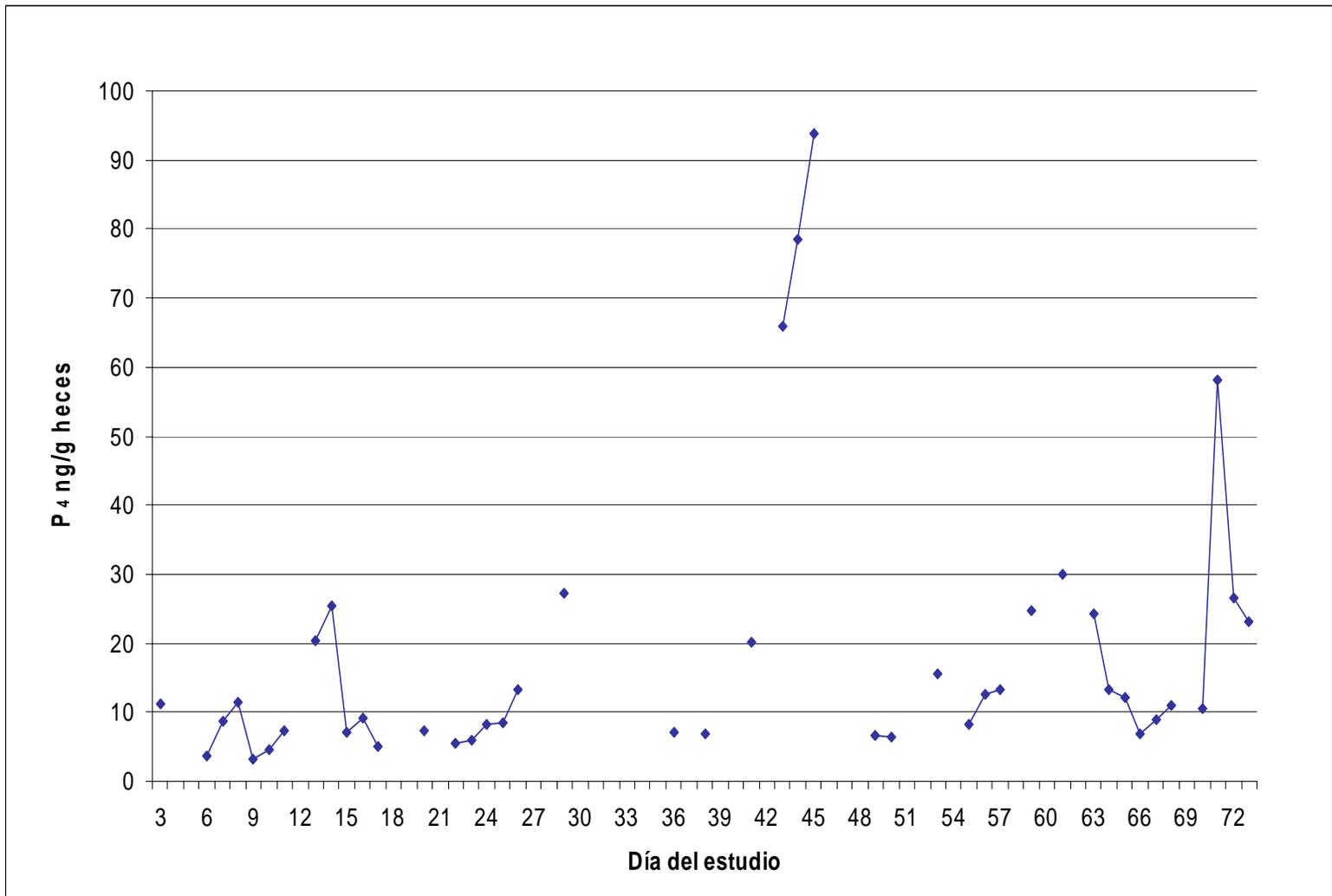


Figura 7. Niveles de progesterona en heces de la hembra H1 - Atné

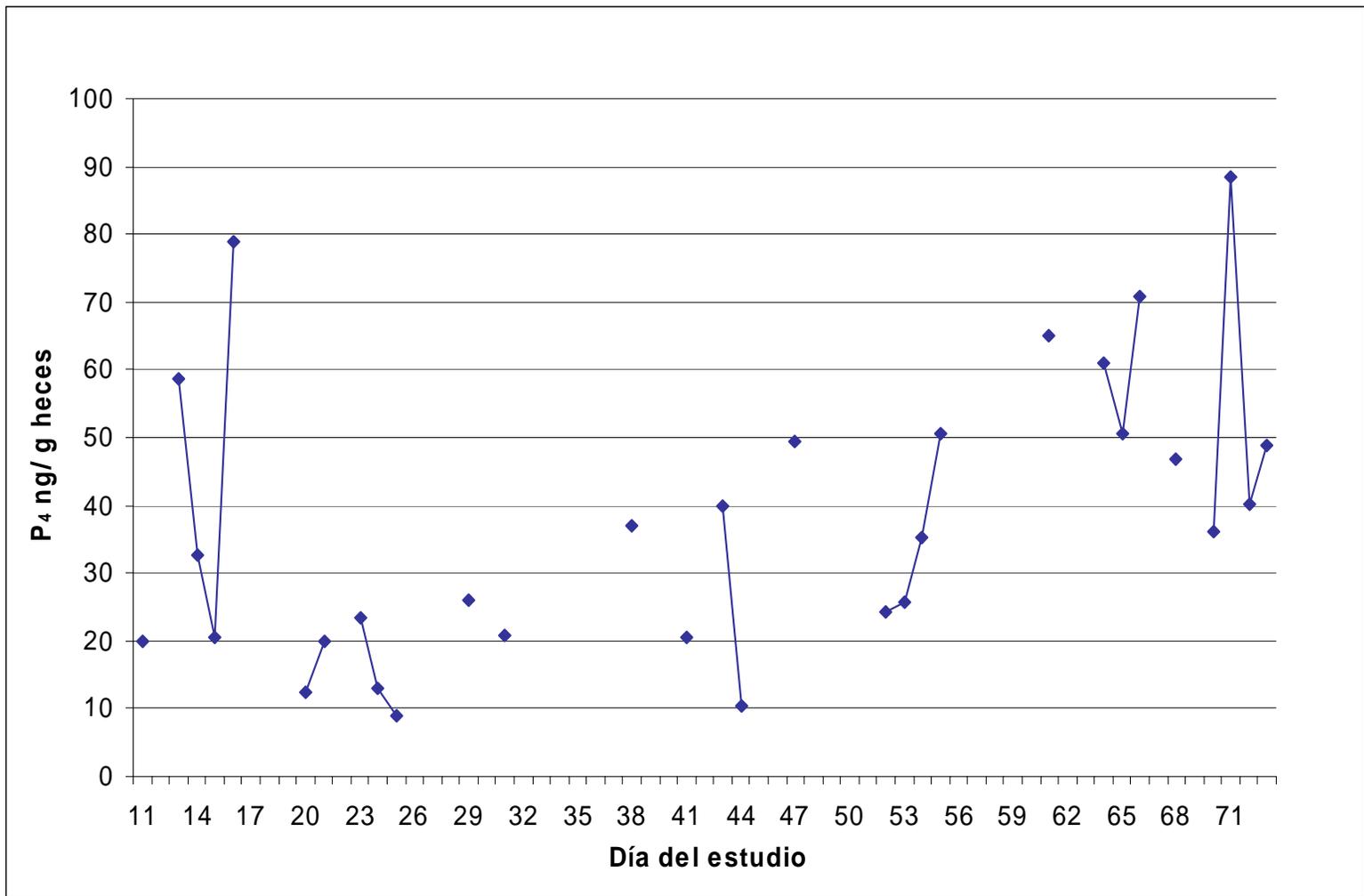


Figura 8. Niveles de progesterona en heces de la hembra H2 - Coki

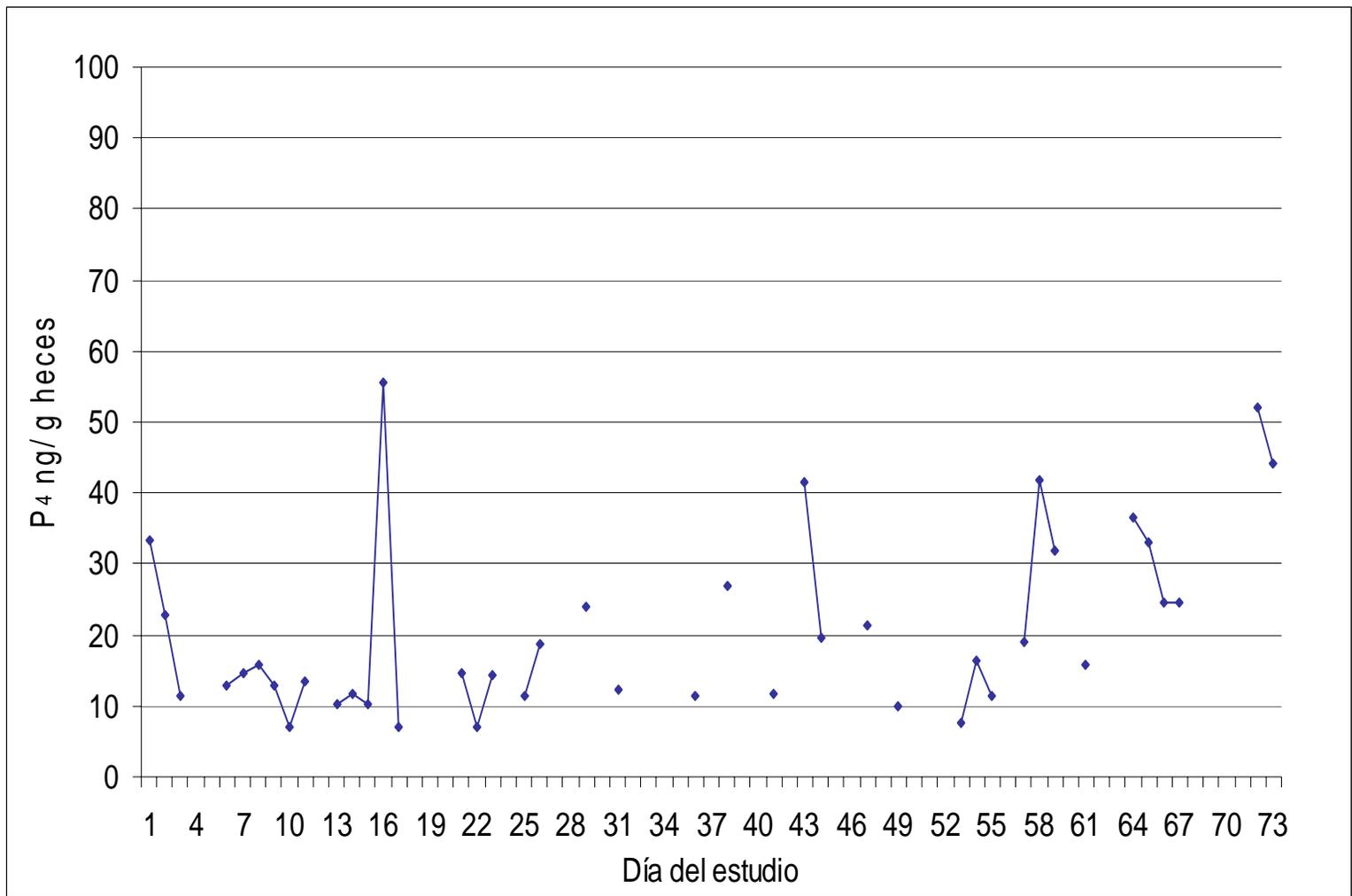


Figura 9. Niveles de progesterona en heces de la hembra H3 - Nakwa

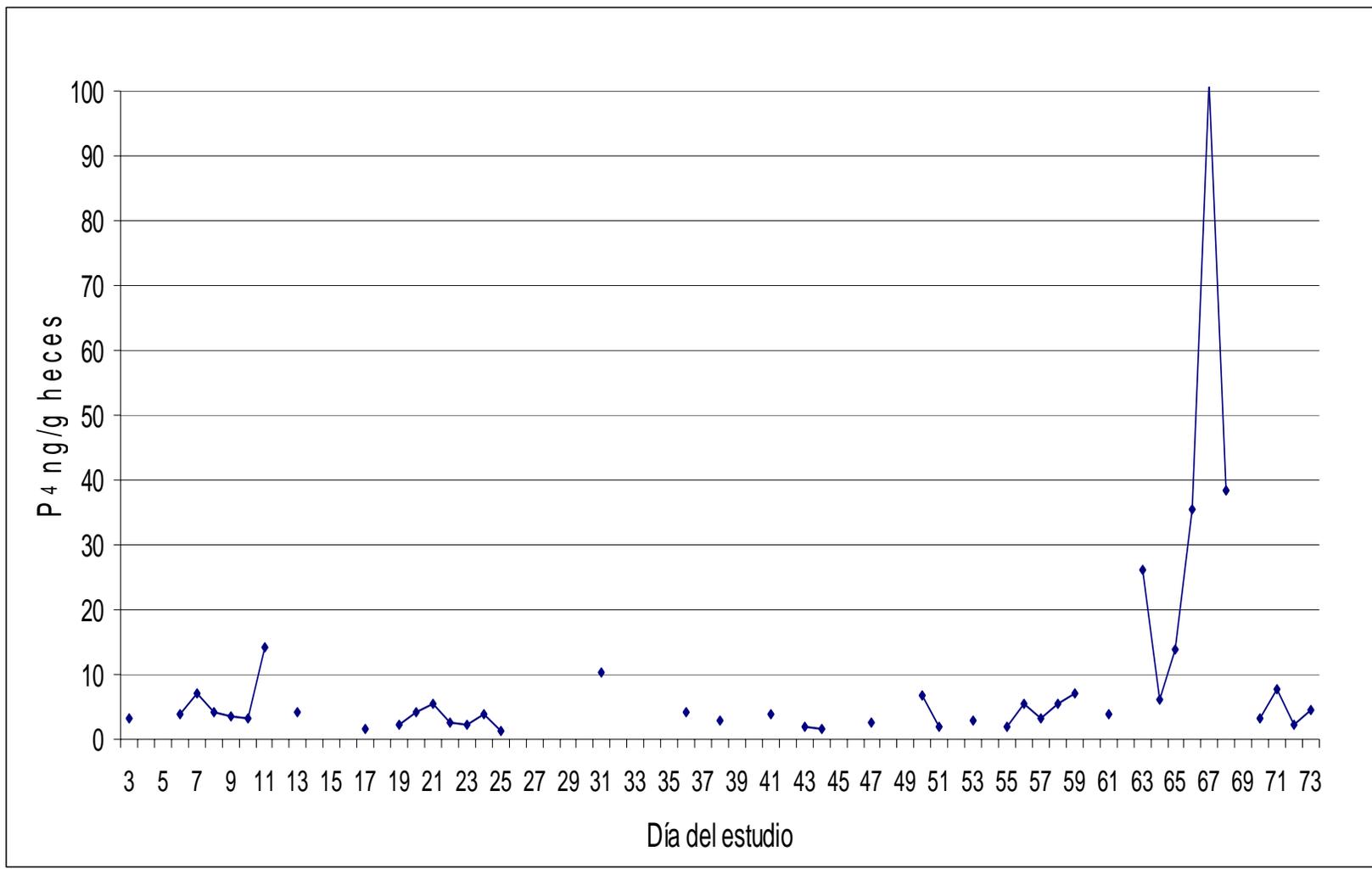


Figura 10. Niveles de progesterona en heces de la hembra H4 - Yumari

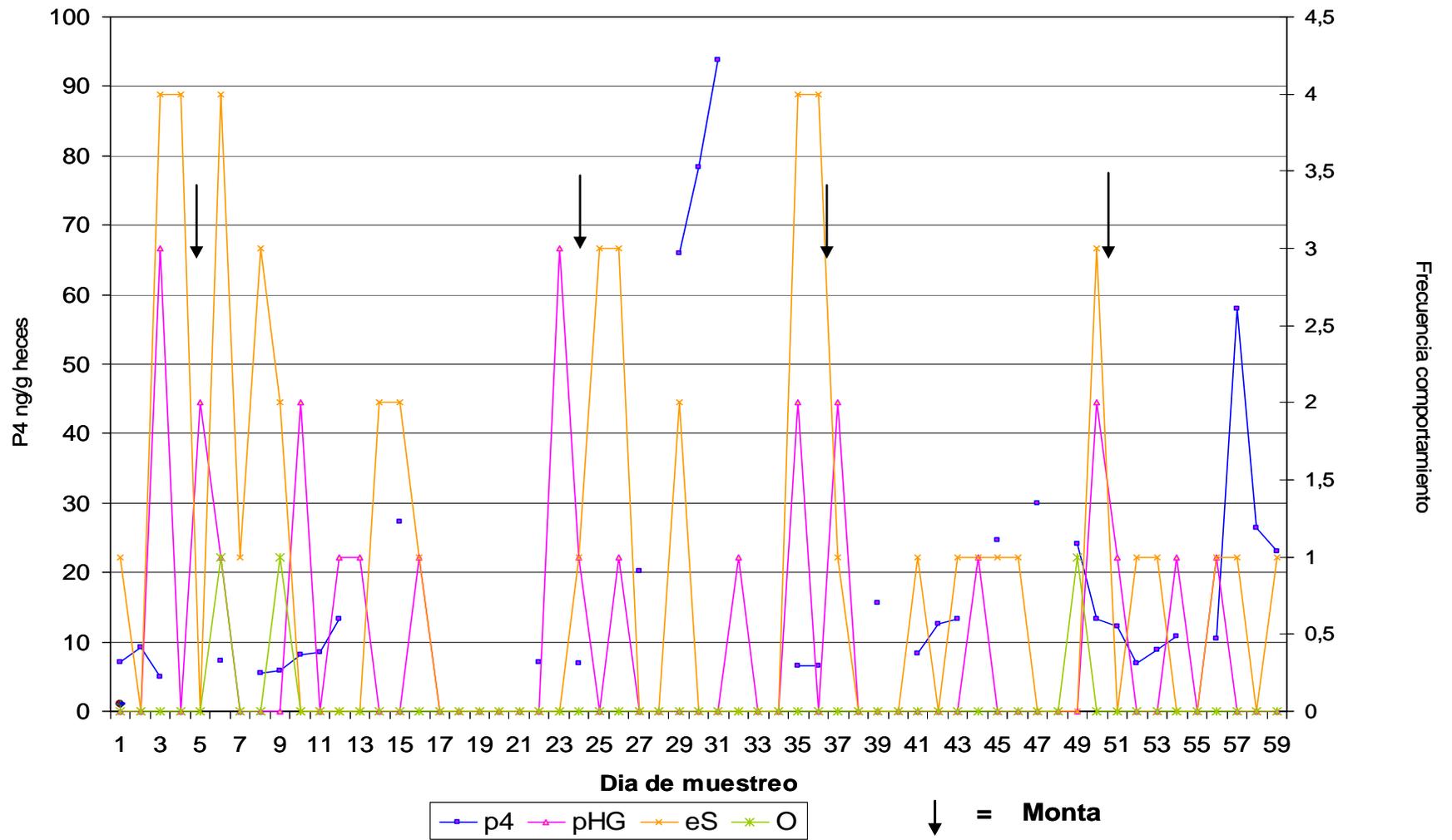


Figura 11. Relación entre los niveles de P4 y el comportamiento de la hembra H1 - Atné

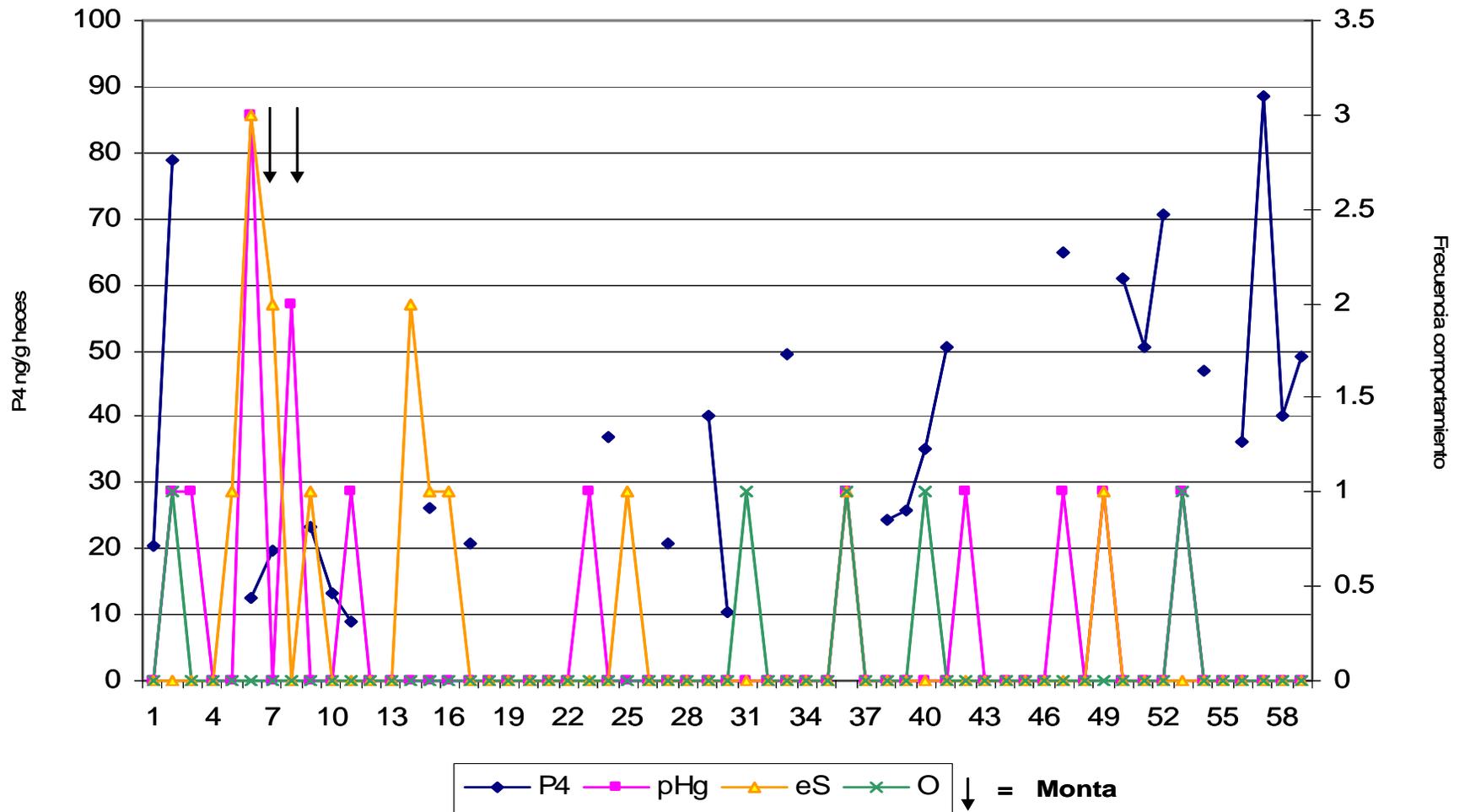


Figura 12. Relación entre los niveles de P4 y el comportamiento de la hembra H2 - Coki

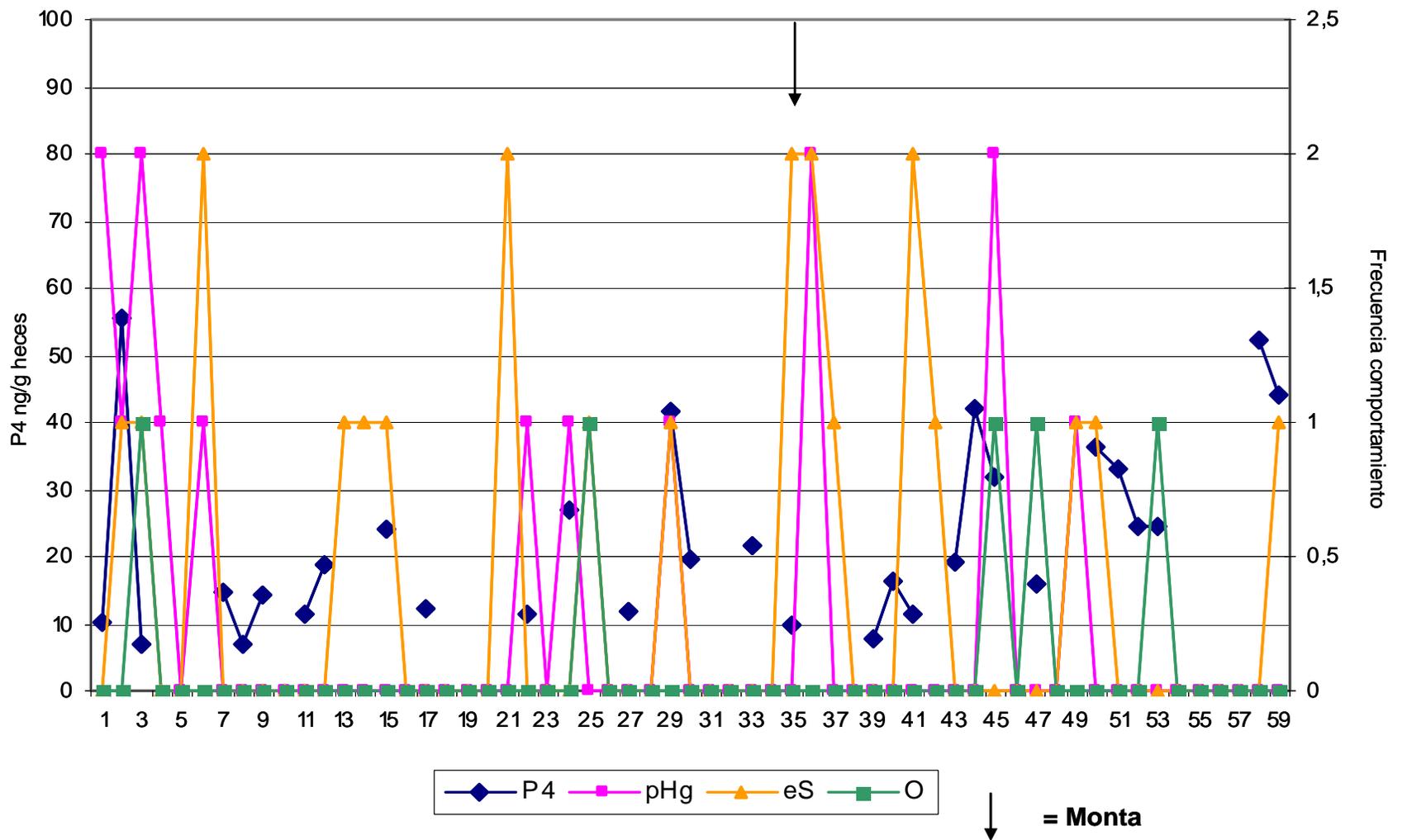


Figura 13. Relación entre los niveles de P4 y el comportamiento de la hembra H3- Nakwa

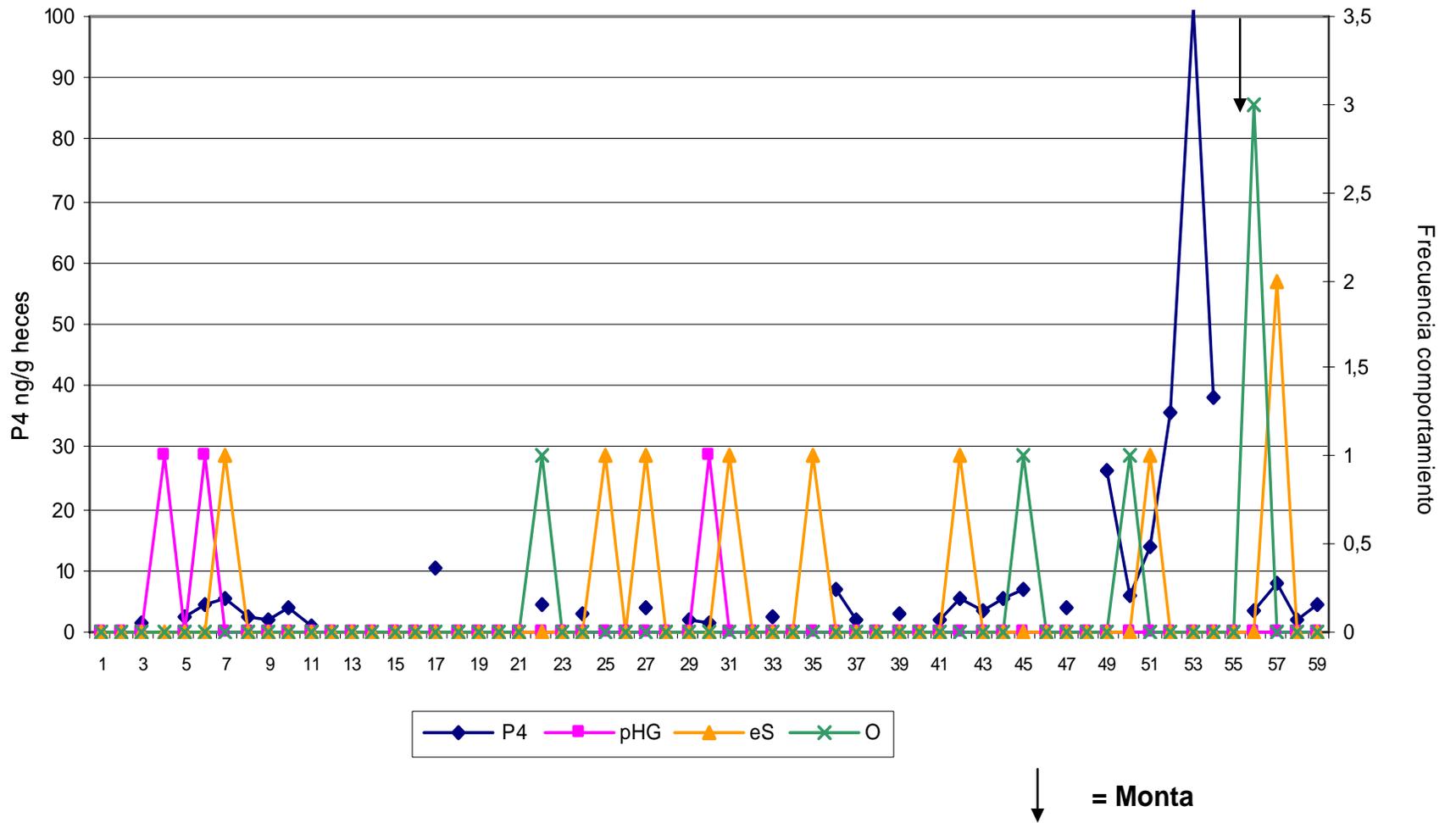


Figura 14. Relación entre los niveles de progesterona y el comportamiento de la hembra H4 - Yumari

**Literatura Citada.**

- 1) Ayala CSG, Martínez GR. Tesis de Maestría. Determinación de los niveles de hormonas esteroidales (P, E, T,) en excretas de la población de borrego cimarrón (*O. c. cremnobates*) en la sierra de San Pedro Mártir en Baja California, México. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California.
- 2) Gross JE. Evaluating effects of an expanding mountain goat population on native bighorn sheep: a simulation model of competition and disease. Natural Resource Ecology Laboratory, Colorado State University, Fort Collins, USA. *Biological Conservation* 2000; 101: 171-185.
- 3) Nowak RM. Artiodactyla: Bovidae. In: Walker's Mammals of the World Volumen II. 5<sup>a</sup> ed. The Johns Hopkins. Baltimore & London, 1991: 1494-1499.
- 4) Schwarzenberger F, Francke R, Göltenboth R. Concentrations of faecal immunoreactive progestagen metabolites during the oestrus cycle and pregnancy in the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 1993; 98: 285-291.
- 5) Lasley BL, Kirkpatrick JF. Monitoring ovarian function in captive and free-ranging wildlife by means of urinary and fecal steroids. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 1991: 22: 23-31.
- 6) Wasser SK, Monfort SL, Wildt DE. Rapid extraction of faecal steroids for measuring reproductive cyclicity and early pregnancy in free- yellow

- baboons (*Papio cynocephalus cynocephalus*). Journal of Reproduction and Fertility, 1991; 92: 415-423.
- 7) Peter AT, Kapustin N, Critser JK. Analysis of sex steroid metabolites excreted in the feces and urine of nondomesticated animals. Small Animal. The Compendium, 1996; 18: 781-790.
  - 8) Borjesson DL, Boyce WM, Gardner IA, DeForge J, Lasley B. Pregnancy detection in bighorn sheep (*O. canadensis*) using a fecal-based enzyme immunoassay. Journal of Wildlife Disease, 1996; 32: 67-74.
  - 9) McDonald SE, Paul SR, Bunch TD. Physiologic and hematologic values in Nelson desert bighorn sheep. Journal of Wildlife Disease, 1981; 17:131-134.
  - 10) Jorgenson JT, Samson J, Festa-Bianchet M. Field immobilization of bighorn sheep with xylazine hydrochloride and antagonism with idazoxan. Journal of Wildlife Disease, 1990; 26: 522 – 527.
  - 11) Fulbright TE, Robbins WF, Hellgren EC, De Young RW, Humphreys ID. Lack of diet partitioning by sex in reintroduced desert bighorn sheep. Biological Conservation, 2002; 104: 251-263.
  - 12) Ruckstuhl KE. Foraging behaviour and sexual segregation in bighorn sheep. Animal Behaviour, 1998; 56: 99-106.
  - 13) Evans G, Maxwell WMC. In: Fisiología de la reproducción de carneros y machos cabríos y Preparación de las hembras para inseminación. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Editorial Acribia Zaragoza, España, 1990: 19-22, 59-76.

- 14) Houpt K A. In: Sexual Behavior. Domestic Animal Behavior for Veterinarians and Animal Scientists. 3<sup>rd</sup> ed. Iowa State University Press, EEUU, 1998: 111-139.
- 15) Tilbrook AJ, Cameron AWN. Ram mating preferences. Reproduction in Sheep. Edited by Australian Academy of Science and Australian Wool Corporation, 1984.
- 16) Hogg JT. Mating in bighorn sheep: multiple creative male strategies. Science, 2001; 225: 526-529.
- 17) Coltman DW, Festa-Bianchet M, Jorgenson JT, Strobeck C. Age dependant sexual selection in bighorn rams. Process of Real Society of London B Biological Science, 2002; 269: 165-172.
- 18) Reeves JJ, Hafez. In: Endocrinología de la Reproducción. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales, 1989.
- 19) Turner J, Hansen C. In: Bighorn Sheep Reproduction. The Desert Bighorn Sheep. Life, History, Ecology and Management. The University of Arizona Press, Arizona, 1980: 145-151.
- 20) Palme R, Fischer P, Schildorfer H, Ismael MN. Excretion of infused <sup>14</sup>C - steroid hormones via faeces and urine in domestic livestock. Animal Reproduction Science, 1996; 43: 43-63.
- 21) Larter NC, Rajamahendran R, Sivakumaran K. Immunoreactive faecal progestins as indicators of reproductive status. Veterinary Record, 1994; 134: 474-475.

- 22) Masunda B, Mutisi C, Hamudikuwanda H, Agumbah JGO. The concentration of faecal progestins during the oestrus cycle in Nkone cows and the effect of storage of faecal samples at room temperature on faecal progestin levels. *Tropical animal Health and Production*, 1999; 31: 373-381.
- 23) Hirata S, Mori Y. Monitoring reproductive status by fecal progesterone analysis in ruminants. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 1995; 57: 845-850.
- 24) Martin P, Bateson P. La medición del comportamiento. Versión española de: Fernando Colmenares. Madrid: Alianza editorial, S.A., 1991.
- 25) Li C, Jiang Z, Jiang G, Fang J. Seasonal changes of reproductive behavior and fecal steroid concentrations in Père David's deer. *Hormones and Behavior*, 2001; 40: 518–525.
- 26) McGeehan L, Li X, Jackintell L, Huang S, Wang A, Czekala N. Hormonal and behavioural correlates of estrus in captive giant pandas. *Zoo Biology*, 2002; 21: 449-466.
- 27) Balcázar SJA. Efecto de la suplementación alimenticia sobre la eficiencia reproductiva de corderas pelibuey inducidas a la pubertad con acetato de melengestrol. Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 1992.
- 28) Kinder JE, Bergfeld EG, Wehrman ME, Peters KE, Kojima FN. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 1995; 49:393-407.