

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



**DESARROLLO DE UNA METODOLOGIA PARA DETERMINAR LOS
NIVELES DE HORMONAS ESTEROIDALES (P, E, T) EN EXCRETAS
DE LA POBLACION DE BORREGO CIMARRON (*Ovis canadensis
cremnobates*) EN LA SIERRA SAN PEDRO MARTIR, BAJA
CALIFORNIA, MEXICO.**

Tesis profesional

Que para obtener el titulo de

BIOLOGO

Presenta :

SONIA GABRIELA AYALA CANO

Ensenada, Baja California, México, Septiembre del 2000.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

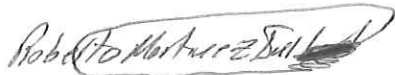
DESARROLLO DE UNA METODOLOGIA PARA DETERMINAR LOS
NIVELES DE HORMONAS ESTEROIDALES (P, E, T) EN EXCRETAS DE LA
POBLACION DE BORREGO CIMARRON (*Ovis canadensis cremnobates*)
EN LA SIERRA SAN PEDRO MARTIR, BAJA CALIFORNIA, MEXICO.

TESIS PROFESIONAL

Que presenta:

SONIA GABRIELA AYALA CANO

APROBADO POR:



Dr. ROBERTO MARTINEZ GALLARDO
Director.



Dr. GORGONIO RUIZ CAMPOS
Secretario.



Dra. MEREDITH GOULD CHAMBERS
1er. Vocal.

A mis padres, hermanos y sobrinos.

A todos los que aun están conmigo.

Y

A todos los que ya partieron.....

AGRADECIMIENTOS

Principal y muy especialmente a mis padres y hermanos por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas; y sobre todo por darme todo de sí, sin pensar en sí. Muchas gracias.....

A mis amigos y compañeros de licenciatura con los cuales y de los cuales aprendí muchas cosas que me han servido para tratar de mejorar cada día, entre ellos : Erika, Edith, Isabel, Estela, Eva, Isadora, Liliana, Ricardo, Abel, Javier, Alfa, Julieta, Ismenia, Nayeli y Magui.

Un agradecimiento muy especial a mis amigas Erika, Edith e Isabel que siempre me han brindaron su apoyo incondicional en las buenas y en las malas.

A mis amigos y compañeros de trabajo de campo, los cuales me ayudaron a levantar los cientos de grupos de excretas y con los que compartí muchas aventuras en la sierra : Mariana, Isabel, Edith, Eva, Samantha, Ricardo y Roberto.

Al maestro Jorge Alaníz por haberme sacado del agua cuando me caí en el Cañón del Diablo.

A mi director de tesis Roberto Martínez y su asistente Ricardo Eaton los cuales siempre me ayudaron a conseguir todo lo que necesite en el laboratorio.

A mis amigas y compañeras de la Cruz Roja Iraní, Delia, Elva y Telma, las cuales siempre me han dado su apoyo moral, al igual que don Panchito Ayala; así como también a Edgar, Karla, Daniel, Adrián, Manolo, José y Tony.

A Mariella y Gaby por sus comentarios e información otorgada.

A CONABIO por el apoyo otorgado al presente trabajo, mediante el convenio FB529/L159/97 para la realización del proyecto "Estado de conservación, dinámica poblacional y reproductiva del borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en la sierra de San Pedro Mártir, Baja California, México".

A CONACYT por su apoyo mediante el convenio 129856-B para la realización del proyecto "Estado de conservación, dinámica poblacional y reproductiva del borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en la

sierra de San Pedro Mártir, Baja California, México.

A la Dirección General de Investigación y Postgrado por el apoyo económico brindado al proyecto "Determinación de la proporción de sexos y dieta alimenticia del borrego cimarrón en la sierra San Pedro Mártir, Baja California, México" mediante el convenio # 5494.

A los maestros José Luis Stephano y Meredith Gould por su apoyo brindado durante el trabajo de laboratorio y por sus comentarios.

A la Dra. Teresa Viana del Instituto de Investigaciones Oceanológicas por permitirme el acceso a su laboratorio para leer las muestras analizadas.

A mi tía Leticia por las muestras de su chivo

A doña Isabel y don Miguel del rancho las Isabeles por facilitarme las muestras de las chivas.

A la familia Orozco de el Sauzal por facilitarme las muestras de sus chivos.

A don Ignacio del Valle de Guadalupe por las muestras de los borregos domésticos.

A la señora dolores Meza del rancho las lomas por las muestras de las chivas preñadas.

A la comunidad de Santa Catarina por las muestras de las chivas.

A los señores Héctor Mendoza y Cornelio del rancho la Providencia en la sierra San Pedro Mártir, por sus comentarios acerca de los borregos, durante el trabajo de campo.

A todos los que de una u otra manera siempre me apoyaron.

Sin olvidar también a todos aquellos que nunca creyeron en mi, por que gracias a ellos, sin quererlo, me dieron más animo y fuerzas para demostrarles que cuando se quiere se puede, y sobre todo que de nada sirve ser inteligente cuando no tiene inteligencia para salir adelante.

Resumen.

En el presente trabajo se estableció una metodología con el objetivo de determinar los niveles de hormonas esteroidales, progesterona, estradiol y testosterona (P, E, T) en las excretas de borrego cimarrón, así como su dinámica reproductiva y la proporción de sexos en la población. En total se analizaron 605 muestras de 9 localidades. Se obtuvieron los valores de progesterona, estradiol y testosterona, discriminando entre hembras y machos mediante la concentración de estradiol y testosterona. Se encontró una proporción de sexos de 311 machos por 294 hembras.

Para los niveles de progesterona, se analizaron 245 muestras de hembras, de las cuales 88 tuvieron mayor cantidad de progesterona, 82 mayor cantidad de estradiol y 75 con cantidades semejantes (tanto de progesterona como de estradiol). Los valores así obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de una vía y posteriormente un análisis de rangos múltiples utilizando la prueba de Tukey con un intervalo de confianza de 95 %. Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de las hormonas ($p < 0.05$) entre los diferentes meses de recolecta. De esta manera se pudo establecer la dinámica reproductiva del borrego cimarrón en la sierra, destacando el hecho de haber detectado dos épocas de nacimientos al año, una entre septiembre y noviembre y otra entre febrero y abril; por otro lado también se detectaron individuos reproductivos durante la mayor parte del año.

Se concluye, que en altitudes por arriba de los 1500 mts es donde se presenta una mayor actividad reproductiva del borrego cimarrón a lo largo del año en la sierra San Pedro Mártir.

Palabras clave : dinámica reproductiva, hormonas esteroidales, excretas, proporción de sexos, borrego cimarrón, San Pedro Mártir, Baja California.

Abstract

In this work, was development a methodology with the objective of determining the levels of esteroidal hormones, progesterone, estradiol and testosterone (P, E, T) in the feces of bighorn sheep, as well as its reproductive dynamics and the proportion of sexes in the population. In total 605 samples of 9 places were analyzed. The progesterone values, estradiol and testosterone were obtained, discriminating between females and males through the estradiol and testosterone concentration. I find a proportion of sexes of 311 males for 294 females. For the progesterone levels, 245 samples of females were analyzed, of which 88 had bigger quantity of progesterone, 82 bigger quantity of estradiol and 75 with similar quantities (so much of progesterone as of estradiol). The values obtained were underwent an analysis of variance of one way and later on an analysis of multiple ranges using the test of Tukey with an interval of trust of 95%. They were significant differences in the concentrations of the hormones ($p < 0.05$) among the different months of it gathers. This way the reproductive dynamics of the bighorn sheep could settle down in the mountain, highlighting the fact of having detected two times of births in a year, one between September and November and another between February and April; on the other hand reproductive individuals were also detected during most of the year.

I conclude that in altitudes for up of the 1500 mts it is where a bigger reproductive activity of the bighorn sheep is presented along the year in the mountain San Pedro Mártir.

Words key: reproductive dynamics, hormones esteroidales, feces, proportion of sexes, bighorn sheep, San Pedro Mártir, Baja California.

INDICE GENERAL

<u>INTRODUCCIÓN.....</u>	1
<u>ANTECEDENTES.....</u>	4
Estudios realizados en algunos mamíferos.....	4
Características generales del borrego cimarrón.....	7
Estudios realizados en <i>Ovis canadensis</i>	9
<u>OBJETIVOS.....</u>	16
Objetivo general.....	16
Objetivos particulares.....	16
<u>AREA DE ESTUDIO.....</u>	17
Características generales.....	17
<u>METODOLOGIA.....</u>	22
Identificación de las localidades de estudio.....	22
Evidencias de borrego	25
Colecta de las muestras.....	28
Estandarización del método.....	31
Extracción de las muestras.....	33
Análisis de las muestras de borrego cimarrón (ensayo de ELISA)..	34
Análisis estadístico.....	37
<u>RESULTADOS.....</u>	38
Estandarización del método.....	38
Análisis de las muestras de borrego cimarrón.....	47

<u>DISCUSION.....</u>	78
Evidencias de borrego cimarrón.....	78
Recolecta de las muestras.....	79
El método y su aplicación.....	80
Estandarización del método.....	82
Desarrollo del análisis y determinación de los niveles hormonales.....	84
Metodologías empleadas en la determinación de la proporción de sexos en el estudio del borrego cimarrón.....	86
Presencia de embarazo y épocas de nacimientos.....	94
Temporada reproductiva.....	98
<u>CONCLUSIONES.....</u>	102
<u>RECOMENDACIONES.....</u>	103
<u>LITERATURA CITADA.....</u>	104
 ANEXO 1. Preparación de las soluciones utilizadas en el ensayo.	

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Localidades muestreadas y número de grupos de excretas de borrego cimarrón encontrados en la sierra San Pedro Mártir.

Cuadro 2. Número de grupos analizados por mes de recolecta y localidad de las muestras de borrego cimarrón.

Cuadro 3. Lecturas patrón de los estándares de las hormonas (lecturas realizadas con el lector de ELISA).

Cuadro 4. Lecturas de los controles positivos y negativos de los estándares de las hormonas con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 5. Lecturas de los controles positivos y negativos de los estándares de las hormonas con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 6. Lecturas de los controles positivos y negativos de los estándares de las hormonas con cinco repeticiones (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 7. Lecturas de estradiol y testosterona en una muestra (con 15 grs de heces) conocida de hembra de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 8. Lecturas de estradiol y testosterona en hembra y macho de borregos domésticos (*Ovis aries*) con cinco repeticiones en 11 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 9. Lecturas de estradiol y testosterona en hembra y macho de borregos domésticos (*Ovis aries*) con cinco repeticiones en 10 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 10. Lecturas de estradiol y testosterona en una hembra de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) y un macho híbrido con cinco repeticiones en 10 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 11. Lecturas de estradiol y testosterona obtenidos en una hembra de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) y un macho híbrido con cinco repeticiones en 11 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 12. Lecturas obtenidas en hembras (con estradiol) y machos (con testosterona) de chivos domésticos (*Capra hircus*) con diferentes cantidades de muestras con cinco repeticiones cada una (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 13. Lecturas obtenidas en machos de chivos domésticos (*Capra hircus*) con anti-testosterona con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de Elisa).

Cuadro 14. Lecturas obtenidas en hembras de chivas domésticas (*Capra hircus*) con anti-estradiol con cinco repeticiones en 11 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Cuadro 15. Lecturas de estradiol y progesterona obtenidos en hembras de chivas (*Capra hircus*) adultas preñadas y no preñadas con cinco repeticiones en 10 grs de muestra cada una (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 16. Lecturas de estradiol y progesterona obtenidos en hembras de chivas (*Capra hircus*) adultas preñadas y no preñadas con cinco repeticiones en 10 grs de muestra cada una (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 17. Lecturas de estradiol y progesterona obtenidos en hembras de chivas (*Capra hircus*) joven y corderita con cinco repeticiones (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 18. Proporción de machos y hembras encontrados en los grupos de excretas analizadas de borrego cimarrón.

Cuadro 19. Relación del tamaño de excreta de borrego cimarrón en cada muestra analizada.

Cuadro 20. Número correspondiente a cada mes de recolecta utilizado en el análisis estadístico.

Cuadro 21. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 22. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables

analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 23. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona relacionados con la época de celo y apareamiento en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 24. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona relacionados con la época de celo y apareamiento en excretas de hembras de borrego cimarrón por altura y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 25. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

Cuadro 26. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por altura y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

Cuadro 27. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por mes de recolecta y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 28. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por altura y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 29. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta por muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 30. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta por muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Cuadro 31. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

Cuadro 32. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

Cuadro 33. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1. Nivel de estradiol en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Gráfica 2. Nivel de progesterona en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Gráfica 3. Nivel de estradiol relacionado con la época de celo y apareamiento en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Gráfica 4. Nivel de progesterona relacionado con la época de celo y apareamiento en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Gráfica 5. Nivel de estradiol en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con lector de ELISA).

Gráfica 6. Nivel de testosterona en excretas de macho de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con lector de ELISA).

Gráfica 7. Nivel de estradiol en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Gráfica 8. Nivel de testosterona en excretas de macho de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Orografía de Baja California.

Figura 2. Localización del área de estudio, sierra San Pedro Mártir, Baja California, México.

Figura 3. Localidades Muestreadas.

Figura 4. Excretas de borrego cimarrón en la localidad del Observatorio en la sierra San Pedro Mártir.

Figura 5. Excretas de borrego cimarrón en la localidad del Observatorio en la sierra San Pedro Mártir.

Figura. 6. Avistamiento de borrego cimarrón en la localidad del Observatorio en la sierra San Pedro Mártir (foto tomada por Ricardo Eaton).

Figura 7. Excretas de borrego cimarrón en el cañón La Providencia en la sierra San Pedro Mártir.

Figura 8. Localidad Cañón la Providencia en la sierra San Pedro Mártir.

INTRODUCCIÓN

Debido a su importancia para la vida, la reproducción determina, en parte, las adaptaciones estructurales, fisiológicas y etológicas de la especie (Vaughan, 1988).

La enorme variación en tamaño y estrategias del ciclo de vida que existe entre los mamíferos se relaciona con grandes diferencias en la reproducción. En los mamíferos, la reproducción se caracteriza por una serie de fenómenos cíclicos que están bajo control nervioso y hormonal. El ciclo reproductivo está relacionado con diversos fenómenos: pubertad y maduración sexual, temporada reproductiva, ciclo estrual, actividad sexual posparto y envejecimiento. Estos componentes son regulados por factores ambientales, genéticos, fisiológicos y conductuales (Vaughan, 1988).

La reproducción total anual de una población silvestre es determinada por: 1) inicio de crianza, 2) el número de camadas producidas por año, 3) tamaño de la camada, 4) tasa de sobrevivencia prenatal, 5) viabilidad de nuevos nacimientos, 6) cuidado parental, y 7) edad de maduración sexual (James y Bailey, 1984).

La capacidad de reconocimiento de los eventos reproductivos es esencial para entender y manejar la dinámica reproductiva de las poblaciones silvestres. En algunas ocasiones el estado de preñez de las poblaciones silvestres es determinada por observaciones directas de la natalidad o es monitoreada por palpación, ultrasonido, histología vaginal o determinación de los niveles de hormonas en suero (Loskutoff *et al.*, 1983).

Sin embargo, todas estas pruebas tienen limitaciones dado que la estimación postnatal de la tasa de preñez es difícil de estimarse en algunas especies. Así mismo, las diferencias entre la tasa de fertilización y la tasa de nacimientos no pueden ser determinadas por este tipo de pruebas.

Por lo que, la medida de los metabolitos de los esteroides fecales (por medio del desarrollo de inmunoensayos) proporciona una alternativa útil para evaluar el estado reproductivo de las especies silvestres (Shideler *et al.*, 1990 en Borjesson *et al.*, 1996). Y dado que el capturar organismos y tomar muestras de sangre es una estrategia difícil, los métodos por medio de heces fecales tienen cada vez mayor importancia (Monfort *et al.*, 1993).

En lo particular, uno de los problemas que existen en el manejo del borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) es el poco conocimiento de su biología reproductiva (cortejo, reproducción, territorialidad, etc.), ya que la determinación de los parámetros reproductivos son de gran importancia por que a través del conocimiento de éstos es posible adecuar los planes de manejo, para llevar a cabo un mejor aprovechamiento y conservación de la especie (Aguilar, 1991).

Para que una población de organismos sea estudiada detalladamente se requieren utilizar diferentes técnicas y pruebas, las cuales contribuyan y corroboren datos o parámetros ya establecidos con anterioridad; para este caso en particular, se han realizado conteos directos de individuos, por medio de censos aéreos, los resultados indican que la proporción de sexos de la población es favorable a las hembras, lo cual no es del todo confiable

ya que se pudiera confundir un macho joven con una hembra.

En virtud de lo anterior, el presente trabajo pretende estandarizar una metodología para determinar los niveles de hormonas esteroidales progesterona, estradiol y testosterona (P, E, T) y la tasa reproductiva en excretas de borrego cimarrón, dado que actualmente no existe información que describa la caracterización de la actividad reproductiva de estos organismos de manera secuencial. Dicha metodología es de gran confiabilidad ya que determina la presencia de las hormonas de machos y hembras contenidas en las excretas, además de la cantidad de éstas, así como también para detectar embarazo, de esta manera se registrara la proporción de sexos (machos y hembras), lo que se podrá comparar con estudios realizados anteriormente para comprobar o mejorar las metodologías utilizadas en el estudio del borrego cimarrón de acuerdo con su eficacia.

ANTECEDENTES

ESTUDIOS REALIZADOS EN ALGUNOS MAMIFEROS

La reproducción, mortalidad y movimientos son atributos emergentes que determinan la abundancia de las poblaciones en el ambiente. Sin embargo, muchos factores del ambiente tienen influencia en estas tres características de la población. En una población en equilibrio, el suceso de reproducción compensa a la mortalidad natural. Considerando lo anterior, es indiscutible que para el manejo de la vida silvestre es necesario monitorear sucesos de reproducción, así como identificar y reconocer los factores del ambiente que tienen influencia en esta actividad (James y Bailey, 1984).

Hay varios estudios que se han realizado para monitorear la actividad reproductiva de poblaciones animales por medio del uso de esteroides fecales, por ejemplo:

El trabajo realizado en hembras de lobo de crin (*Chrysocyon brachyurus*), represento la primera tentativa para aplicar medidas de esteroides fecales para cánidos y se sugiere que esta técnica puede proporcionar una importante herramienta en el manejo de esta especie. Se recolectó la muestra de 2 a 3 veces por semana por un periodo de 3 a 5 meses, comenzando justo antes del tiempo del periodo de estro. La medida de esteroides fecales indicó la ocurrencia de ovulación y preñez en 8 de 9 hembras. En este caso, la medida de esteroides fecales resultó ser un útil

medio de caracterización de la fertilidad, incluyendo ovulación y preñez en hembras (Wasser, *et al.*, 1995).

La técnica para determinar la actividad reproductiva por medio de esteroides fecales también ha sido empleada en el baboon (*Papio cynocephalus cynocephalus*), en este caso la medida de hormonas reproductivas (progesterona y estradiol) excretadas en heces fueron usadas para discriminar entre hembras conceptivas y no conceptivas (incluyendo la detección de un aborto temprano). En el ciclo de concepción, en la fase luteal, la concentración de progesterona y estrógeno es significativamente mayor que en un ciclo no conceptivo. Sin embargo, la medida de concentración de progesterona en la fase luteal temprana en ciclos conceptivos es baja cuando la concepción ocurre durante condiciones ambientales estresantes, por otra parte la dominancia social entre hembras también influye en la concentración de progesterona ya que las hembras con un alto grado de dominancia presentaron una mayor concentración de progesterona que las menos dominantes. Estos datos sugieren que la implantación lograda es facilitada por una alta concentración de progesterona y estrógeno en la fase luteal temprana. Sin embargo, un largo periodo de condiciones ambientales favorables propician una alta probabilidad de sobrevivencia de la descendencia, y en consecuencia disparan la cantidad de progesterona requerida (la cual es alta) para lograr la implantación; mientras que durante las condiciones desfavorables, estos requerimientos no se satisfacen, por tanto la probabilidad de que la

descendencia sobreviva es relativamente baja. Esto actúa como un filtro restringiendo la concepción para las hembras jóvenes, propiciando con ello condiciones para la reproducción de las hembras de más edad en la población (Wasser, 1996).

En otro trabajo se realizó el perfil de esteroides fecales en hurones (*Mustela nigripes*) exponiéndolas a un fotoperiodo natural, en el cual se monitoreo estacionalmente la actividad ovárica y testicular en hurones adultos. Estableciendo que la concentración de estradiol fecal está asociado con su actividad de apareamiento, la concentración de progesterona fecal incrementa hasta una semana después de la reproducción pico del trimestre y declina en la última fase del periodo de gestación. Los machos exhiben estacionalmente fluctuaciones en excreción de andrógenos fecales con un incremento en la concentración observada más o menos 2 meses antes de que las hembras entren en el periodo de estro; estos resultados indican que el análisis de esteroides fecales puede ser usado efectivamente para evaluar el efecto de las manipulaciones ambientales en la actividad gonadal y subsecuentemente para ayudar en las estrategias de reproducción para mejorar especies en conservación (Brown, 1997).

CARACTERISTICAS GENERALES DEL BORREGO CIMARRON

El Borrego Cimarrón presenta dimorfismo sexual, es decir, que existen diferencias en el físico de ambos sexos. Los machos alcanzan a desarrollar mayor peso y tamaño que las hembras, pero el atributo más evidente de los machos son los imponentes cuernos. La coloración del pelo varia entre gris y café claro, dependiendo de la edad y del sexo. Las hembras logran la madurez sexual entre el primero y el segundo año de edad, siendo la edad mínima de reproducción a los 13 meses, la maduración sexual está relacionada con la medida del cuerpo. Los machos son más tardíos, desde el punto de vista reproductivo, ya que llegan a la plenitud sexual casi a los ocho años, y sostienen combates con otros machos que desean poseer a las hembras, este fenómeno se conoce como poligamia y es un sistema de reproducción, donde un macho cubre más de una hembra, el número de hembras que controle será tan grande como sea su capacidad reproductiva y de lucha (Berger, 1982; Aguilar, 1991).

Los borregos cimarrones viven en pequeñas partidas, las hembras y los pequeños tienden a separarse de los machos. La hembra joven permanece en su grupo familiar hasta su primer periodo de estro, una vez que ella es preñada por machos adultos, se separa del grupo familiar (Geist, 1971). Durante la época de apareamiento, los machos buscan las partidas de hembras y escenifican combates, por el privilegio de procrear. Únicamente los machos adultos y las hembras procrean, los corderitos y tal vez algunos de dos años permanecen apartados. Pasada la época de

procrear los machos se alejan y forman grupos separados. Los hijos, generalmente uno, rara vez gemelos, nacen después de un periodo de gestación de cerca de 174 a 180 días (Leopold, 1977).

El borrego recorre grandes distancias entre sus ámbitos caseros. Los borregos forman grupos o manadas los cuales están conformados generalmente por 7 individuos. Estos se clasifican de la siguiente manera (Geist, 1971):

Corderos: individuos menores de 13 meses, cuyos cuernos están poco desarrollados (los corderitos menores de 48 horas son categorizados como neonatos).

Hembra joven: incluye hembras desde 12 a 24 meses de edad (1-2 años), son más grandes en cuerpo y cuernos que los corderitos, pero no como los adultos. Madura a los 18 meses.

Hembra adulta: son de 4 a 5 años.

Macho joven: son de 12 a 24 meses.

Clase I macho: son de 26 a 36 meses.

Clase II macho: son de 3 a 6 años.

Clase III macho: son de 5 a 8 años.

Clase IV macho: son de 8 años ó más.

ESTUDIOS REALIZADOS EN *OVIS CANADENSIS*

Se han realizado varios trabajos sobre la biología reproductiva del borrego cimarrón y el efecto del clima y la nutrición en el periodo de nacimientos. En el desierto de Mojave y las montañas, los borregos aparentemente tienen más nacimientos cuando la temperatura y la nutrición contribuyen a la sobrevivencia de las descendencias (Hass, 1997). El tiempo de nacimientos es estimado para asegurar que el alimento sea disponible para satisfacer las altas demandas metabólicas para la lactancia y crecimiento de los recién nacidos (Estes, 1976; Millar, 1977; Oftedal, 1985; Rutberg, 1987; Bronson, 1989).

El anterior estudio prueba la hipótesis de que el efecto de factores ambientales tiene importancia ya que establece diferencias en el periodo de nacimientos entre las poblaciones. Dicha hipótesis indica que los nacimientos ocurren cuando la temperatura es adecuada (mayor a los 10 grados centígrados) (Geist, 1971; Alexander, 1974; Berger, 1978 y 1979; Flowerdew, 1987) y hay suficiente alimento para satisfacer la demanda de nutrientes durante el periodo de lactancia. Las diferencias entre las estaciones de reproducción de las poblaciones en la misma altitud proporciona un indicio de que la estación reproductiva no sólo es determinada por el fotoperiodo. Así mismo, las diferencias interanuales en los periodos de nacimientos también indican que algunos otros factores ambientales actúan como reguladores en el principio del periodo de reproducción (Hass, 1997).

También algunas hipótesis han sido propuestas para explicar la variación intraespecífica en la conducta de ungulados basado en variables ecológicas. Dos de estas hipótesis son: 1) la relación de la estrategia reproductiva, y 2) la estructura social; las cuales son probadas con la disponibilidad de forraje en una población de *Ovis canadensis mexicana* al sur de Nuevo México. Ambas hipótesis relacionadas con el tiempo y la duración de la estación de reproducción por periodicidad y predictibilidad de producción de alimento no fueron apoyadas por Geist en 1974, ya que el 80 % de los corderos observados nacieron independientemente de la estación de nacimientos indicados por las hipótesis, durante los periodos de baja precipitación y cuando no hay producción de alimento. Concluyen que la estrategia reproductiva se desarrolla independientemente de la organización social y que esta última complementa estrategias ecológicas de una población (Deming, 1963; Hansen, 1967; Sadleir, 1969; Buechner, 1974; Lenarz, 1979).

Geist (1971) sugiere que en poblaciones naturales las hembras de borrego pueden no ser sexualmente maduras a los 18 meses de edad. Berger (1982) hipotetiza que la hembra del borrego del desierto *Ovis canadensis cremnobates* madura a una edad temprana (a los 2 y 3 años), en función de las mejores condiciones ambientales (Blood *et al.*, 1970; Jorgenson y Wishart, 1984). La estimación de datos de nacimientos de corderos es agrupado cercano al comienzo del periodo de crianza, apoyando la hipótesis de que el periodo de crianza del borrego del norte es corto y

ligado al fotoperiodo (Bunnell, 1980, 1982; Thompson y Turner, 1982). Alternativamente, la crianza tardía es el resultado del retraso de estro inducido socialmente (Mitchell y Lincol, 1973; Verme, 1985). Evidencias en borrego doméstico y cabra feral sugieren que la presencia del macho puede precipitar el principio de estro (Coblentz, 1980; Watson y Radford, 1960).

También se determinó el periodo de gestación en *Ovis canadensis canadensis* el cual fue estimado por la observación usando el número de días entre el pico del periodo de celo y el punto del subsiguiente periodo de parir. Blunt et al (1977) y Turner y Hansen (1980) también realizaron estudios con animales cautivos (Shackleton, 1984). En un estudio comparativo con la "British Columbia Fish and Wildlife Branch" se determinó el periodo de gestación en un grupo cautivo de borrego cimarrón *Ovis canadensis californiana* entre 1978 y 1979 y otra vez entre 1979 y 1980 (Shackleton, 1984).

En otro estudio se realizó el diagnóstico de embarazo en 10 hembras (corderas jóvenes y adultas) de la subespecie *Ovis canadensis nelsoni*. El diagnóstico de embarazo fue determinado en las hembras mayores de 2 años y medio de edad, con ultrasonido. Siete de ocho hembras estuvieron preñadas. Los niveles de progesterona en la sangre fueron correlacionados con la confirmación del embarazo por medio del ultrasonido. La media de progesterona en las hembras preñadas fue de 8.52 ng/ml (en un rango de 5.19-11.64 ng/ml). Las hembras que no resultaron preñadas de 2 años y medio de edad tuvieron los niveles de progesterona en suero de 1.28

ng/ml. Las corderitas tuvieron niveles de progesterona de 0.73 y 5.88 ng/ml. La técnica del ultrasonido es 100% exacta para diagnosticar embarazos en un tiempo mayor a los 30 días de gestación (Turner y Hansen, 1980; Bunch *et al.*, 1986).

Se determinó el periodo de apareamiento y época de nacimientos en la hembra mouflon *Ovis gmelini* en Francia, relacionados con la edad en las últimas 10 semanas del periodo de apareamiento; sin embargo muchas hembras conciben durante las primeras 6-7 semanas de la estación de apareamiento. En borregos silvestres (*Ovis*), los corderos generalmente nacen durante la estación de crecimiento vegetativo (Geist, 1974). La edad de las hembras ha sido propuesta como un factor que provoca y modula las actividades reproductivas en el borrego silvestre (Berger, 1982; Festa-Bianchet, 1988; Geist, 1971; Leslie y Douglas, 1979), y en otros ungulados (Clutton-Brock *et al.*, 1982; Ozaga y Verme, 1986; Hogg, 1984, 1987). En el sur de Francia, la época de nacimientos ocurre entre los últimos días de marzo y los primeros de junio (Auvray, 1983; Cugnasse *et al.*, 1985) después de 150 a 155 días de gestación. La época reproductiva ocurre a finales de octubre hasta el comienzo de enero. También se concluye que la extensión de la receptividad sexual de las hembras es reflejada por el patrón de asociación con machos (Bon *et al.*, 1993).

Durante 1983 a 1994 se realizó un estudio por medio de helicóptero del borrego peninsular (*Ovis canadensis cremnobates*) en las montañas de Santa Rosa al sur de California, dicho estudio fue para determinar la

población anual y estimar la dinámica poblacional. Los datos de la proporción de sexos y la estructura de edad fue también examinada para conservar la proporción de la estabilidad poblacional. Durante estos 12 años, la media de la proporción macho:hembra:cordero:joven es 44.9:100:25.2:17.4. El análisis espacial demuestra que la declinación ocurre a lo largo de las montañas de Santa Rosa, la proporción de decremento anual de la población de borrego es 17.8 de 1984 a 1990, entonces se estabiliza en una densidad de solo 0.15 borregos por Km. cuadrado (De Forge *et al.*, 1995).

La densidad poblacional y características del hábitat del borrego cimarrón fueron evaluadas en 900 Km. cuadrados en Arroyo Grande y Cañada Jaquejel durante el verano y otoño de 1992. El muestreo de transecto en línea fue usado para obtener la densidad de la población de 0.203 borregos por Km cuadrado para el verano y 0.145 borregos por Km cuadrado para el otoño. La proporción de la población observada para macho:hembra:cordero es 71:100:11 para el verano y 50:100:5 en el otoño. Los borregos fueron más comúnmente observados (>60%) en terreno escarpado y cerca de ojos de agua >33% (López *et al.*, 1995).

Como se puede apreciar la mayoría de los estudios que se han realizado sobre la biología del borrego, pertenecen a las diferentes poblaciones que se encuentran en Estados Unidos y Canadá, dichos trabajos están enfocados principalmente a relacionar sus diferentes estrategias y conductas reproductivas con las variables ecológicas que se presentan en su

ambiente, muy pocos trabajos están enfocados a la realización de estudios mucho más amplios en los cuales se determine a partir de las excretas el estado reproductivo utilizando diferentes técnicas de laboratorio o inmunoensayos. En México y particularmente en Baja California no se tiene ningún tipo de estudio relacionado con los diferentes procesos reproductivos en las poblaciones de la subespecie que aquí se encuentra, sólo se han realizado censos aéreos por medio del cual han determinado la proporción de sexos de los organismos, mismos que no aportan mucha información que sirva de base para determinar el estado reproductivo del borrego cimarrón, mucho menos para llegar a establecer un plan de manejo integral de la población. Tomando en cuenta estos antecedentes se llegó al planteamiento del presente trabajo, mismo que se realizó por medio de técnicas indirectas, en este caso el uso de las excretas, utilizando el inmunoensayo, el cual recientemente se ha venido utilizando en diferentes organismos para llegar a establecer la dinámica reproductiva de varias poblaciones. Por medio del inmunoensayo, además de obtener la proporción de sexos se pueden determinar los niveles de las diferentes hormonas esteroidales que participan en la fisiología reproductiva tanto de los organismos domésticos así como silvestres, por otra parte también se puede llegar a determinar la presencia de embarazo en las hembras. En comparación con los censos, con el inmunoensayo por medio de excretas se puede estudiar una población a la largo de todo un año, por el contrario por

medio de los censos, éstos sólo se realizan una sola vez y muchas veces no se hacen de una manera secuencial en los siguientes años.

Por lo tanto, por medio del uso de excretas se pretende tener un conocimiento más amplio de lo que esta sucediendo en el aspecto reproductivo, en una de las poblaciones de borrego cimarrón en Baja California.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estandarizar una metodología para determinar las hormonas esteroidales progesterona, estradiol y testosterona (P, E, T) en la población de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en la sierra San Pedro Mártir, Baja California.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ⇒ Realizar un análisis hormonal en excretas de borrego cimarrón.
- ⇒ Detectar los niveles de hormonas esteroidales.
- ⇒ Determinar el número de excretas pertenecientes a hembras y machos.
- ⇒ Detectar la presencia de embarazo y épocas de nacimientos.
- ⇒ Determinar la temporada reproductiva.
- ⇒ Comparar las metodologías empleadas para determinar la proporción de sexos en el estudio del borrego cimarrón.

AREA DE ESTUDIO

Una de las razones por lo cual la sierra San Pedro Mártir es importante desde el punto de vista biológico, se debe a su origen y evolución geológica. Morfológicamente es la mayor elevación de la península de Baja California con altiplanicies que se ubican por arriba de los 2000 m.s.n.m en la parte norte y de 1900 m en el lado sur; el pico más alto es el Picacho del Diablo con 3095 m.s.n.m. (Argote, 1991; Escoto, 1994). Se encuentra orientada de noroeste a sureste, localizada entre los paralelos 30° 30' y 31° 10' de latitud norte y los meridianos 115° 44' y 115° 13' de latitud oeste, ubicada a 100 Km. al suroeste de Ensenada, Baja California. La sierra está constituida por tres unidades de terreno (Gastil *et al.*, 1975). El lado oriental es un acantilado fuertemente accidentado, con un relieve vertical de 1000 a 2,500 m sobre el Desierto Sonorense. La cresta de la sierra San Pedro Mártir es una extensa altiplanicie de bajíos con praderas y ciénegas. El lado occidental es un escarpe de pendiente menos pronunciada, con relieves locales de 300 a 500 mts (Minnich y Franco-Vizcaíno, 1999). Los principales arroyos que bajan de San Pedro Mártir con dirección al Océano Pacífico, son de norte a sur: San Rafael, San Telmo, y Santo Domingo (Ruiz-Campos, 1991). En el extremo norte algunos arroyos escurren hacia el Valle de la Trinidad. Hacia el lado este, la sierra es drenada por numerosos arroyos que bajan desde la cresta formando cañones profundos por todo el escarpe. Algunos arroyos tienen flujo perenne al pie de la sierra, sin embargo casi nunca llegan al mar por que se

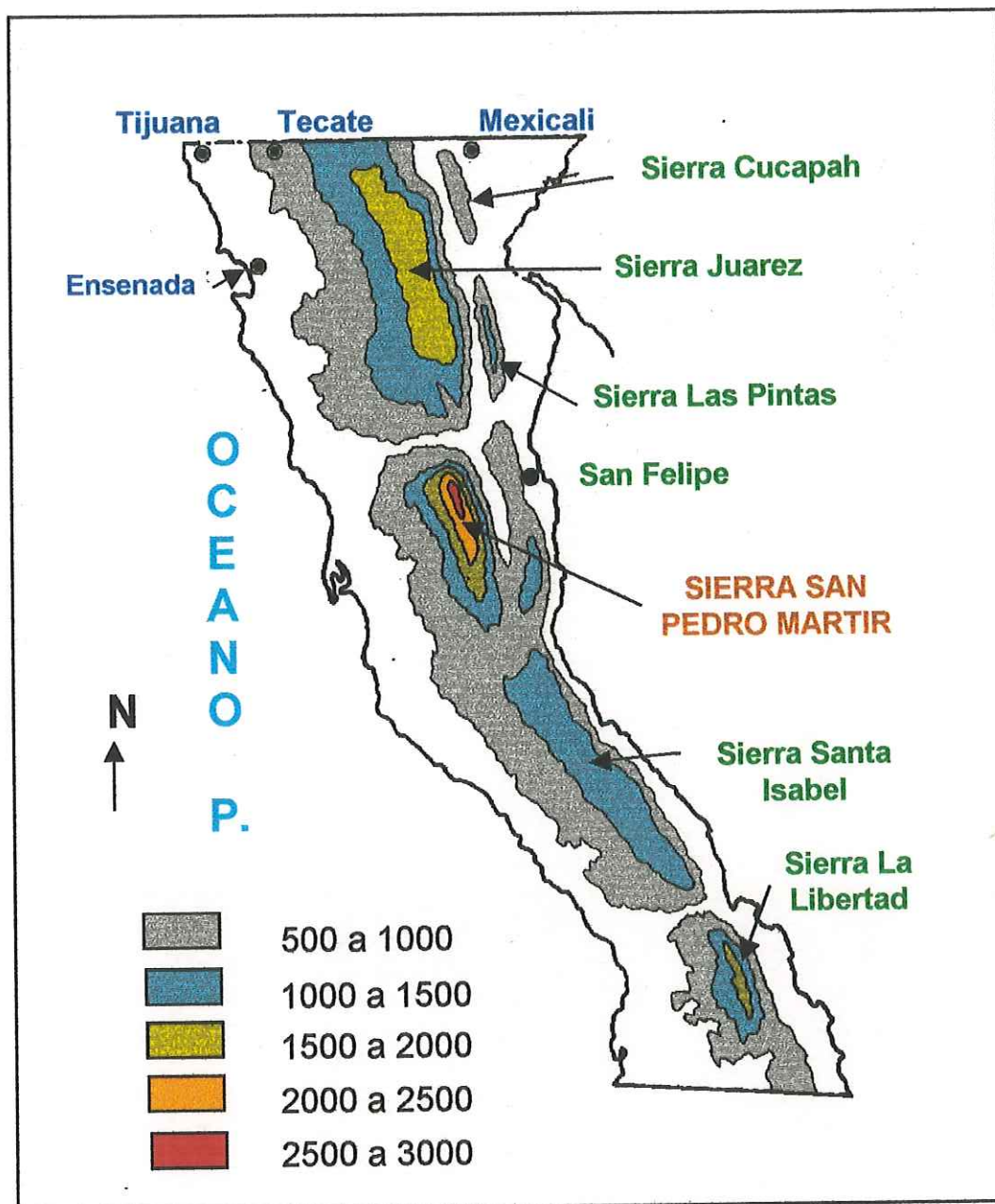
infiltran y evaporan en el Valle de San Pedro Mártir y Valle Chico (Reyes y García, 1991; Montoya, 1998).

La sierra San Pedro Mártir se encuentra enclavada en el límite oriental de la región mediterránea de Baja California. Debido a ello se ubica dentro de una zona de transición entre un clima mediterráneo, al Oeste, con lluvias de invierno y un clima tropical, al Este, con lluvias de verano. Esta zona es la más húmeda y fría de Baja California (Sosa, 1991). El promedio de precipitación sobre San Pedro Mártir es de 100 a 150 mm. Una moderada precipitación de verano también se presenta hacia los desiertos al Este de la sierra. Hacia el oeste de las montañas a lo largo de toda la costa desde San Quintín hasta la frontera con Estados Unidos, la precipitación de verano disminuye rápidamente hasta menos de 10 mm. En invierno, las partes altas de la sierra llegan a tener temperaturas muy bajas, siendo la temperatura media anual de 7.3°C, siendo marzo el mes más frío, cuya temperatura media es de -1.5°C. Es por ello, que gran parte de la precipitación de invierno es en forma de nieve. En el verano, las temperaturas medias varían de 25°C en las partes bajas del oeste, hasta 15°C en el Observatorio Astronómico, llegando a 30°C en el este. La precipitación media anual de San Pedro Mártir es de 554 mm (Montoya, 1998).

Las características climáticas y geográficas, y las variantes ecológicas que de ellas dependen, han permitido la existencia de varios tipos de bosques en San Pedro Mártir, tanto xerófilos como mesófilos. Gran parte del

norte de la sierra está cubiertó por bosque mixto de coníferas, dominado por *Pinus jeffreyi* y acompañado por *Pinus lambertiana* y *Abies concolor*; estas dos últimas especies son dominantes en las laderas de exposición sur con pendientes fuertes. *Cupressus montana*, especie endémica de esta región, frecuentemente se encuentra con *Abies concolor* y *Pinus lambertiana* en la parte alta del escarpe oriental. Algunos arbustos importantes de los bosques mixtos de coníferas son, *Arctostaphylos patula*, *A. pringlei*, *A. pungens*, *Ceanothus cordulatus*, *Artemisia tridentata*, *Salvia pachyphylla* y *Symphoricarpos parishii* (Sosa, 1991; Montoya, 1998). El escarpe semiárido del lado este, entre los 1500 y 2700 m.s.n.m; está cubierto por un bosque bajo más extenso de *Pinus quadrifolia*. Debajo de los 1500 m, *Pinus quadrifolia* es reemplazado por otro piñón, *Pinus monophylla*. Los arbustos más comunes que se presentan en el bosque de pino piñonero incluyen a *Arctostaphylos peninsularis*, *Garrya grisea*, *Quercus chrysolepis*, *Q. cornelius-mulleri*, *Q. peninsularis*, *Rhus ovata*, *R. trilobata*, *Cercocarpus betuloides*, *Fremontodendron californicum*, y algunas suculentas como la *Yucca schidigera*, *Nolina parryi* y *Agave deserti*. El escarpe este debajo de los 1200 m, está cubierto por especies arbustivas micrófilas. Dominan especies como *Larrea tridentata*, *Ambrosia dumosa*, *Encelia farinosa*, *Olneya tesota*, *Cercidium floridum* y *Dalea spinosa*. También hay especies suculentas como *Fouquieria splendens*, *Agave deserti*, *A. moranii* y diversas especies de *Opuntia* spp. En el lado este de la parte sur de la sierra, hay numerosas poblaciones de *Brahea armata*

(Montoya, 1998). Como producto de la heterogeneidad ambiental presente en San Pedro Mártir se ha desarrollado una gran diversidad faunística, teniendo entre los principales mamíferos a: *Urocyon cinereoargenteus* (zorra gris), *Vulpex velox*, *Canis latrans* (coyote), *Puma concolor* (puma), *Lynx rufus* (lince), *Taxidea taxus* (tejón), *Spilogale putorius* (zorrillo), *Procyon lotor* (mapache), *Bassariscus astutus* (cacomixtle), *Odocoileus hemionus* (venado bura) y *Ovis canadensis cremnobates* (borrego del desierto) (Hall, 1981). De la ictiofauna esta la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) (Ruiz-Campos, 1991). Para aves se reporta la presencia de el gavilán cola roja (*Buteo jamaicensis*), halcincillo (*Falco sparverius*), codornices (*Callipepla californica* y *Oreortyx pictus*), la paloma de collar (*Columba fasciata*), huilota (*Zenaida macrura*), carpinteros (*Melanerpes formicivorus* y *Picoides nuttallii*), cuervo (*Corvus corax*), tordo amarillo (*Euphagus cyanocephalus*), gorrión común (*Carpodacus mexicanus*) entre otras, siendo la familia paceriforme la de mayor abundancia (Rodríguez, 1991; Gerardo, 1993). De entre los reptiles encontramos de la familia iguanidae a: *Callisaurus draconoides*, *Crotaphytus insularis*, *Dipsosaurus dorsalis*, *Gambelia wizlenii*, *Petrosaurus mearnsi*, *Phrynosoma coronatum*, *Sauromalus obesus*, *Sceloporus graciosus*, *S. magister*, *S. occidentalis* y *S. orcutti*, y teiidos del género *Cnemidophorus*, como *C. tigris* entre los más comunes (Welsh, 1988).



FUENTE: Modificado de INEGI, Anuario Estadístico 1993.

Figura. 1. Orografía de Baja California.

METODOLOGIA

TRABAJO DE CAMPO

El presente trabajo se realizó durante el período comprendido entre diciembre de 1997 y mayo de 1999, en el cual se recorrió parte de la sierra San Pedro Mártir desde el pie de ladera del lado este (500 m.s.n.m.), hasta las partes más altas, llegando a los 2800 metros de altura.

IDENTIFICACION DE LAS LOCALIDADES DE ESTUDIO

Las localidades de estudio se identificaron mediante mapas topográficos y por comunicación personal, para esto, se consideraron los cañones en los cuales ya se tenían registros e información de la presencia de borregos; así como también por las características físicas de cada lugar como son: altitud, disponibilidad de agua, escarpado del terreno, disponibilidad de alimento, entre otros. Durante todo el trabajo de campo se recorrieron 10 localidades (Observatorio, Cañón La Providencia, Cañón La Esperanza, Cañón Del Diablo, entre el Cañón Del Diablo y el Diablito, Cañón Agua Caliente, Cerro Botella Azul, Cañón La Encantada –Este, Cerro El Picacho, y Cañón los Colibríes), siendo algunas de estas localidades muestreadas de 1 a 6 veces durante 1997 a 1999. El área de estudio se recorrió desde los cañones antes mencionados hasta las partes más altas como el Observatorio.

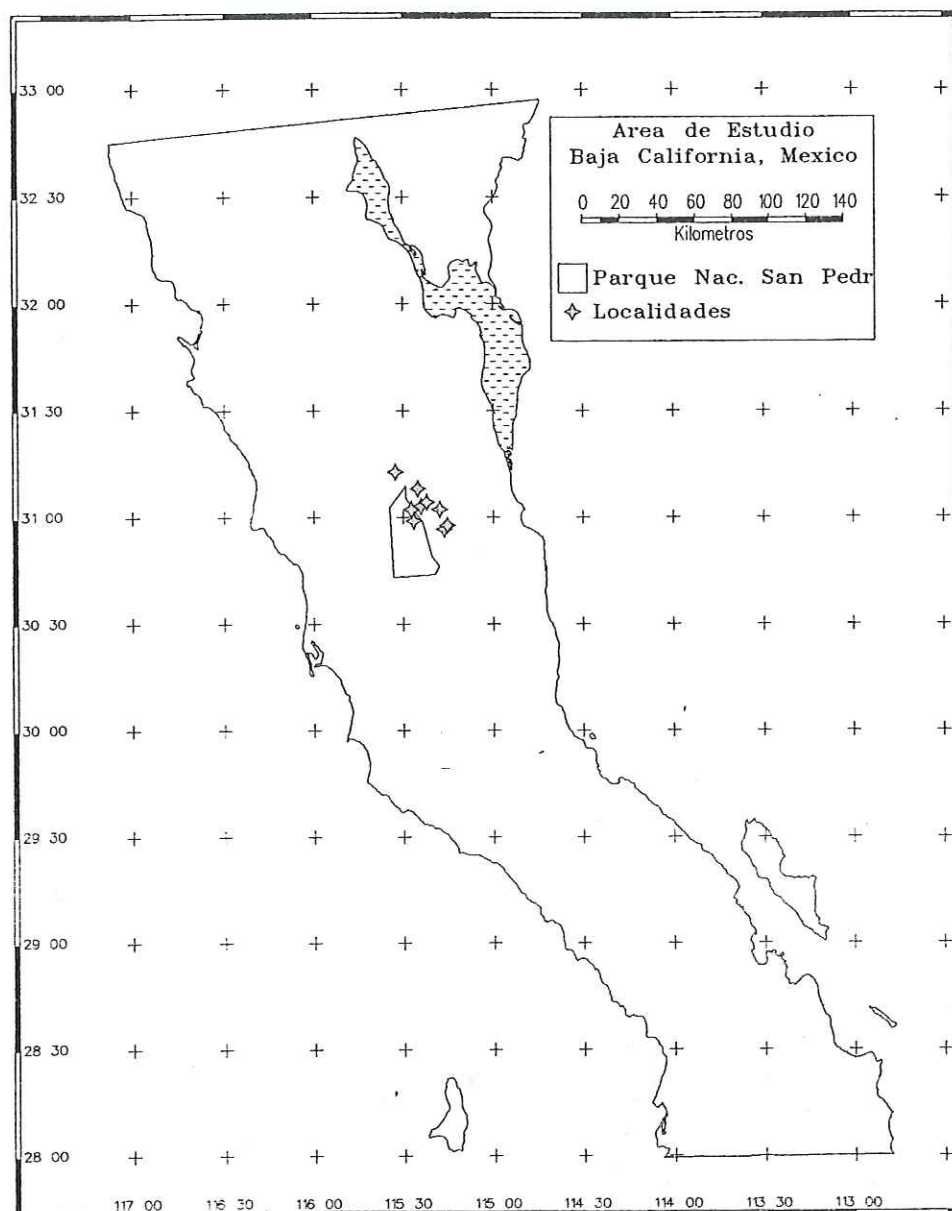


Figura. 2. Area de estudio, sierra San Pedro Mártir, Baja California, México.

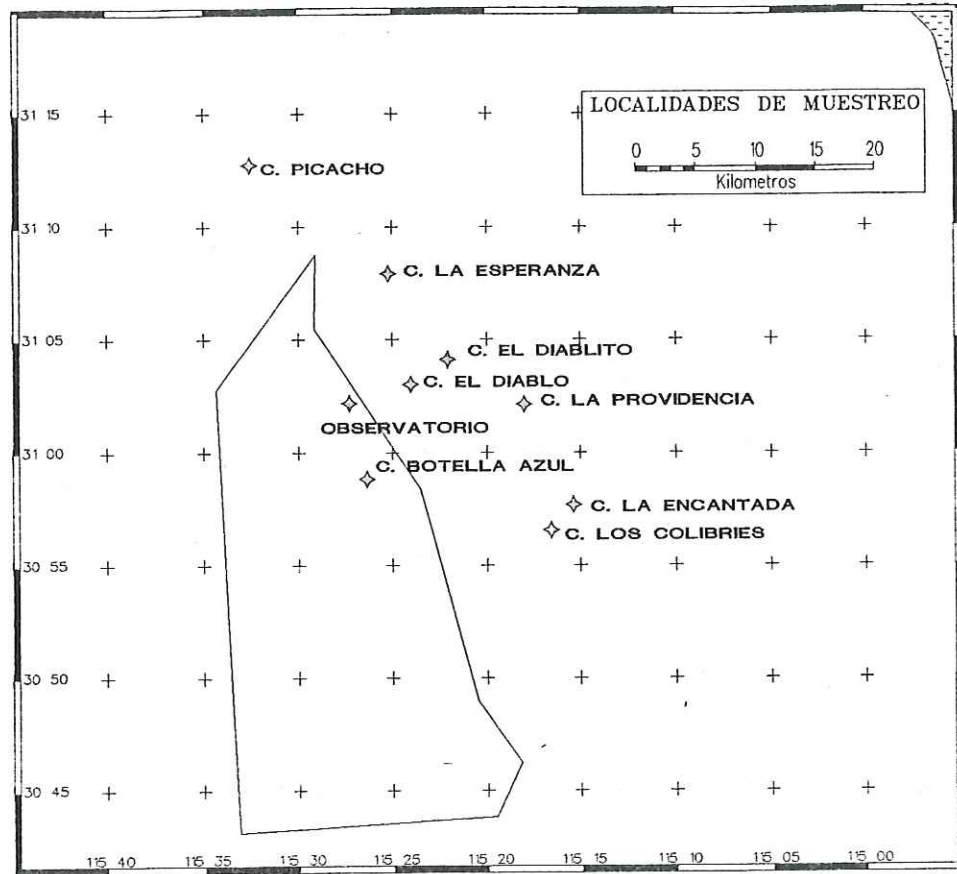


Figura. 3. Localidades de muestreo.

EVIDENCIAS DE BORREGO

Se recorrieron diferentes sitios en varias localidades de la sierra, dichos sitios fueron: senderos, echaderos, aguajes, partes altas y partes bajas del área de estudio; así como también se localizaron huellas, y las mismas excretas del borrego que la mayoría de las veces se encontraban frescas. Casi en todos los lugares que se recorrieron se encontraron muchas evidencias de borrego (excepto en el Cañón Agua Caliente), entre ellas, huellas, excretas, senderos, echaderos, etc. tanto en parte altas como a la orilla de los arroyos, así como también hubo avistamiento de los organismos en cuatro ocasiones. Para las evidencias tales como las huellas y las excretas se corroboró su originalidad mediante guías de campo y con trabajos anteriores en el área. También se obtuvo información verbal de algunas personas aledañas al área de estudio, las cuales aseguran haber visto corderos a mitad del verano y encontrado excretas chicas (desde .5 cm de largo hasta .4 cm de ancho) de dichos organismos.



Figura. 4. Excretas de borrego cimarrón en la localidad del Observatorio en la sierra San Pedro Mártir.



Figura. 5. Excretas de borrego cimarrón en la localidad del Observatorio en la sierra San Pedro Mártir.



Figura. 6. Avistamiento de borrego cimarrón en la localidad del Observatorio en la sierra San Pedro Mártir (foto tomada por Ricardo Eaton).



Figura. 7. Excretas de borrego cimarrón en el cañón La Providencia en la sierra San Pedro Mártir.

RECOLECTA DE LAS MUESTRAS

Las muestras se recolectaron en diferentes sitios como los ya anteriormente mencionados. Para cada muestra se registro su geoposición y altitud, su tamaño (grandes, medianas o chicas), si eran recientes o viejas, las características físicas del lugar, diferentes parámetros como: temperatura, cobertura vegetal, disponibilidad de agua, etc; se anotaron datos tales como fecha y hora del día, así como también las evidencias de huellas y las mismas excretas sobre los echaderos y senderos, si fueron encontradas sobre arena, pastos o sobre rocas grandes. También se registró la presencia del organismo en 4 ocasiones.

Cada muestra fue tomada como un grupo individual de acuerdo a las características propias de cada una (color, consistencia, tamaño, si estaban agrupadas o solas, si eran muchas o unas cuantas, la distancia que había entre un grupo y otro, etc.). Cada grupo se colocó en una bolsa de plástico con sus respectivos datos. Posteriormente se mantuvieron congeladas hasta su análisis.

Dado que algunas de las localidades se recorrieron varias veces el número de heces recolectado fue bastante alto (1922 grupos) (cuadro 1), tomando en cuenta que siempre se trató de levantar solo los grupos más frescos o nuevos de muestras, ya que para los grupos viejos sólo se tomaba su posición y las características de donde se encontraban.

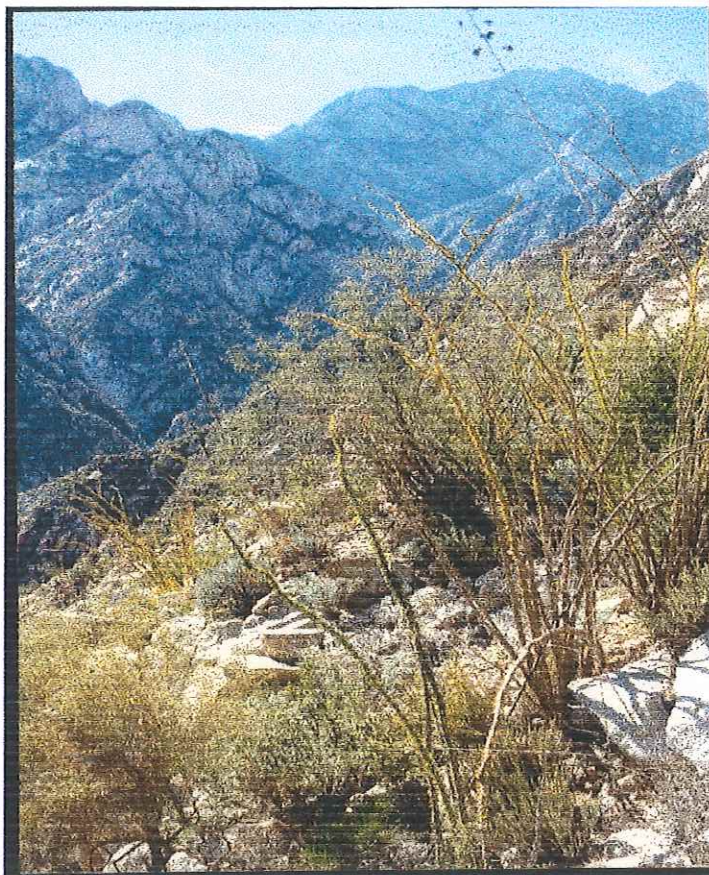


Figura. 8. Localidad Cañón la Providencia en la sierra San Pedro Mártir.

Cuadro 1. Localidades muestreadas y número de grupos de excretas de borrego cimarrón encontrados en la sierra San Pedro Mártir.

Fecha	Localidad	Vegetación	# de grupos	Observaciones
29 y 30 de noviembre de 1997	Observatorio	Bosque de Pino	126	Nevado (de 10 a 15 cm)
13 y 14 de diciembre de 1997	Providencia	Matorral Xerófilo	112	Frío (de 3 a 7°C)
16,18 y 19 de enero de 1998	Esperanza C. Diablo C. Diablito	Matorral Xerófilo	32	Frío (de 3 a 7°C)
13 y 14 de febrero de 1998	C. Diablo	Matorral Xerófilo	38	Lluvia y viento frío.
26 y 27 de febrero de 1998	Agua Caliente	Matorral Xerófilo		No encontramos muestras.
28 de febrero y 1 marzo de 1998	Encantada-E	Matorral Xerófilo	48	Viento y calor
21 y 22 de marzo de 1998	C. El Picacho	Ecotono	60	Cerros con hielo.
7, 8 y 9 de junio de 1998	Observatorio y Botella Azul	Bosque de Pino	214	Lluvioso y primer avistamiento de borrego.
6, 7 y 8 de julio de 1998	Observatorio	Bosque de pino	341	Lluvia.
22, 23 y 24 de agosto de 1998	Observatorio y Botella Azul	Bosque de Pino	339	Segundo avistamiento de borrego.
25, 26 y 27 de septiembre de 1998	Observatorio	Bosque de Pino	363	Frío.
24, 25 y 26 de octubre de 1998	Encantada Colibríes y C. Diablo	Matorral Xerófilo	94	Calor (28°C)
22 y 23 de mayo de 1999	Observatorio	Bosque de Pino	155	Tercer avistamiento de borrego.
		TOTAL	1922	

ANALISIS DE LABORATORIO

ESTANDARIZACION DEL METODO

- 1) Primeramente se realizaron pruebas con estándares de las hormonas (estradiol, progesterona y testosterona) y los anticuerpos de estas tres hormonas a diferentes diluciones : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256 (cuadro 3), para probar la sensibilidad del método.
- 2) Se obtuvieron muestras fecales de chivos (*Capra hircus*) y borregos domésticos (*Ovis aries*) de diferentes edades para obtener los niveles de estradiol y testosterona, para la prueba de progesterona las muestras fueron de hembras preñadas, de jóvenes y de corderitas.
- 3) Se prepararon los diferentes solventes y soluciones en varias cantidades y proporciones (anexo 1) para probar la eficiencia de la extracción en el análisis de las muestras recolectadas de organismos domésticos y aquellas recolectadas en el campo (muestras problema) (técnicas descritas más abajo).
- 4) También se probaron diferentes tiempos en las incubaciones para obtener el más óptimo para usarse en las muestras problema.
- 5) Se realizaron controles positivos y negativos con los estándares de las hormonas estradiol, progesterona y testosterona (E, P, T) para compararlos con las lecturas de las muestras problema. Los controles positivos consistieron en colocar los estándares con el primer anticuerpo y los negativos sin el primer anticuerpo (cuadros 4). Los demás controles consistieron en colocar desde los anticuerpos hasta el

sustrato para el positivo, y el control negativo solo contenía los anticuerpos, pero no el sustrato (cuadros 5 y 6).

- 6) Se hizo el primer ensayo con una muestra conocida de hembra de borrego cimarrón *Ovis canadensis cremnobates* (cuadro 7).
- 7) Se obtuvieron los valores de estradiol y testosterona en hembras y machos de los organismos domésticos (cuadros 8 y 9).
- 8) Se compararon los valores de estradiol y testosterona de una hembra de borrego cimarrón *Ovis canadensis cremnobates* y un macho híbrido (de una cruce entre borrega doméstica *Ovis aries* y un borrego cimarrón *Ovis canadensis cremnobates*) (cuadros 10 y 11).
- 9) Se probaron los ensayos con diferentes cantidades de muestras (5 grs, 3 grs y 1 gr), para ver como afectaba en los niveles de hormonas detectados, así como también se comparó entre organismos domésticos adultos, jóvenes y corderos (cuadros 12, 13 y 14).
- 10) Se obtuvieron los valores de estradiol y progesterona en las hembras de chivo preñadas, así como en hembras jóvenes y corderitas (cuadros 15, 16 y 17).
- 11) Los ensayos se repitieron varias veces en algunos organismos para descartar posibles errores con las muestras problema, en cada muestra se hicieron cinco repeticiones con cada hormona.

Una vez obtenida la estandarización del método se realizó el análisis completo para las muestras obtenidas en el campo (cuadro 2), las cuales se

volvieron a reclasificar y seleccionar de acuerdo a su frescura, analizando en total 605 grupos de muestras.

TECNICA DE EXTRACCION DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS

- 1)** Se pesaron 10 gr. de heces o menos en algunos casos.
- 2)** Se les agregó 15 ml de agua destilada.
- 3)** Se machacaron perfectamente.
- 4)** Se les agregó 15 ml de éter etílico.
- 5)** Se centrifugaron por 45 minutos (1000 r.p.m.).
- 6)** Se virtió cuidadosamente (con ayuda de una pipeta pasteur) la fase orgánica a otro recipiente.
- 7)** Se evaporó la fase orgánica por medio de una bomba de aire y colocando la muestra en agua caliente (entre 40 y 45° C).
- 8)** Se resuspendió la muestra en 500 microlitros de cloroformo metanol (2:1).

ANALISIS DE LAS MUESTRAS (ENSAYO DE ELISA)

- 1)** Se incubaron 50 microlitros de muestra (Ag) con 50 microlitros de PBS-Tween en cada pozo de la placa de ELISA por fila (quedando 5 pozos para cada anticuerpo por muestra) durante toda la noche a temperatura ambiente, para que absorbiera pasivamente la proteína al plástico.
- 2)** Al día siguiente se descartó el líquido.
- 3)** Se lavaron 3 veces con PBS-Tween (200 microlitros por pozo).
- 4)** Se agregó el primer anticuerpo (testosterona , estradiol o progesterona a la dilución de 1/128) con un volumen total de 50 microlitros por pozo.
- 5)** Se incubaron a 37° C por una hora.
- 6)** Posteriormente se descartó el líquido y se lavó 3 veces con PBS-Tween (200 microlitros por pozo).
- 7)** Se agregó 50 microlitros del segundo anticuerpo IgG anti-conejo conjugado con fosfatasa alcalina diluida 1000 veces en PBS-Tween.
- 8)** Se incubaron a 37° C por una hora.
- 9)** Se lavaron 2 veces con PBS-Tween (200 microlitros por pozo).
- 10)** Se volvieron a lavar 2 veces con agua destilada (200 microlitros por pozo).
- 11)** Se les agregaron 50 microlitros de solución de sustrato (p-nitrofenilfosfatasa) y se incubaron a 37° C de 15 a 20 minutos (teniendo cuidado de revisar cada 5 minutos la aparición oportuna de la reacción por que puede ser que se de antes).
- 12)** Se les agrego 50 microlitros de NaOH 3M para detener la reacción.

- 12) Se cuantificó la absorbancia de cada muestra a 410 nanómetros (nm), con dos diferentes aparatos (lector para placas de ELISA y espectrofotómetro), separándose las lecturas en dos grupos, en los cuales los meses variaron.

NOTA: para poder cuantificar las muestras, en el espectrofotómetro, éstas se tuvieron que diluir agregándoles 950 microlitros de PBS-TWEEN a los 50 microlitros que se tenía de muestra (dilución 1:20) y posteriormente se multiplicó el valor obtenido en la cuantificación por el número de diluciones hechas (por 20).

El blanco se realizó con 950 microlitros de PBS-TWEEN más 50 microlitros de solución amortiguadora de dietilona y se ajustó la cuantificación a cero con 410 nm.

Cuadro 2. Número de grupos analizados por mes de recolecta y localidad de las muestras de borrego cimarrón.

Año	Mes	Día	Localidad	Grupos
1997	Noviembre	29	Observatorio	23
1997	Diciembre	13	Providencia	26
1998	Enero	16	Esperanza	8
1998	Enero	18	C. Diablo	9
1998	Enero	19	C. Diablito	5
1998	Febrero	14	C. Diablo	25
1998	Marzo	1	Encantada-E	30
1998	Marzo	21	C. El Picacho	10
1998	Junio	8	Botella Azul	26
1998	Junio	9	Observatorio	52
1998	Julio	7	Observatorio	64
1998	Agosto	22	Botella Azul	51
1998	Agosto	24	Observatorio	63
1998	Septiembre	27	Observatorio	63
1998	Octubre	24	Encantada-E	10
1998	Octubre	25	Colibríes	21
1998	Octubre	26	C. Diablo	54
1999	Mayo	22	Observatorio	65
			TOTAL 9	TOTAL 605

METODO ESTADISTICO

Para llevar a cabo una comparación de los resultados se utilizó el análisis de varianza de una vía y posteriormente un análisis de rangos múltiples utilizando la prueba de Tukey con un intervalo de confianza de 95 %, en el paquete estadístico de statgraphics. Primeramente se formaron varias matrices para realizar el análisis considerando tres variables: fecha (meses de recolecta), altitud y la relación del tamaño de excreta para cada muestra, mediante un análisis de varianza múltiple considerando interacciones de segundo orden. La altitud se agrupó en dos clases (de los 500 a los 1500 mts y de los 1500 a los 2800 mts), la fecha y el tamaño de excreta se tomaron por cada mes de recolecta. Se obtuvo el promedio, la F calculada, el nivel de significancia ($p < 0.05$) de cada variable. Con esta información, se determinó las diferencias entre las variables respecto a los niveles de hormonas en las altitudes y diferentes meses muestreados en cada localidad.

RESULTADOS

ESTANDARIZACION DEL METODO

Una vez realizados los ensayos con los organismos domésticos de sexo, edad y embarazo conocidos se obtuvieron resultados positivos en todos los casos y se optó por utilizar las diluciones de los tres anticuerpos, progesterona, estradiol y testosterona a 1/128, ya que como se puede apreciar en el cuadro 3 (con el estándar de las tres hormonas), en esta dilución se observa una buena absorbancia en relación con la dilución más concentrada del antígeno y el anticuerpo. La extracción de las excretas se efectuó con 10 gramos de muestra (en algunas ocasiones se utilizó menos de 10 grs) para cada análisis, usando 15 ml de agua destilada (para machacarlas) y 15 ml de éter etílico (para separar la fase orgánica de la fase acuosa); se centrífugo por 45 minutos, y una vez evaporadas éstas se resuspendieron en 500 microlitros de cloroformo metanol (2:1). Así mismo se obtuvieron los controles positivos y negativos con las hormonas puras (E, P, T), dando una lectura más alta en los controles positivos, lo cual nos indica que el ensayo funcionó. La absorbancia de los controles negativos puede ser debido a un plegamiento no específico del segundo anticuerpo al plástico, lo que se podría tratar de eliminar en futuras pruebas incluyendo un bloqueador, como por ejemplo: albúmina de suero de bovino (cuadros 4, 5 y 6). En total se analizaron muestras de 6 ranchos, las cuales fueron de diferentes tamaños (adultos, jóvenes y corderos) tanto en hembras como en machos, con la finalidad de probar la validez del método. Los resultados

revelan que los organismos jóvenes en algunas ocasiones presentan valores más bajos de hormonas que los adultos, pero no así los corderitos los cuales tuvieron valores más altos que jóvenes y adultos (cuadros 13 y 14). También se obtuvieron los valores de estradiol y testosterona en hembras y machos adultos, de chivos (*Capra hircus*) y borregos domésticos (*Ovis aries*), así como en hembras de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) y un macho híbrido (de una cruce entre borrega domestica *Ovis aries* y borrego cimarrón *Ovis canadensis cremnobates*) (cuadros 7, 8, 9 y 10), habiendo una clara diferencia entre cada uno (a) de ellos, de igual manera se obtuvieron los valores de estradiol y progesterona en hembras adultas preñadas y no preñadas, hembras jóvenes y corderitas, presentándose más progesterona en las muestras de hembras con embarazo conocido, encontrando una clara diferencia entre cada una de ellas (cuadros 15, 16 y 17). Por tanto la distinción entre sexos (macho y hembra) en base a las pruebas de ELISA fue confiable.

Cuadro 3. Lecturas patrón de los estándares de las hormonas (lecturas realizadas con el lector de ELISA).

Dilución del Ag y Ab.	Estradiol	Progesterona	Testosterona
1/2	1.919	2.028	1.927
1/4	1.560	2.018	1.824
1/8	1.151	1.998	1.156
1/16	1.089	1.850	1.069
1/32	1.085	1.735	1.062
1/64	1.083	1.542	1.055
1/128	1.074	1.421	1.053
1/256	1.064	1.202	1.049

Ag = antígeno.

Ab = anticuerpo

Cuadro 4. Lecturas de los controles positivos y negativos de los estándares de las hormonas con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución del anti-estradiol	Con 1er Ab	Sin 1er Ab	Dilución del anti-testosterona	Con 1er Ab	Sin 1er Ab
1/32	1.525	1.168	1/64	1.487	1.153
1/32	1.462	1.417	1/64	1.475	1.165
1/32	1.510	1.156	1/64	1.487	1.149
1/32	1.468	1.146	1/64	1.529	1.177
1/32	1.493	1.172	1/64	1.519	1.160

Cuadro 5. Lecturas de los controles positivos y negativos de los estándares de las hormonas con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución del Ag y Ac.	Estradiol	Progesterona	Testosterona
1/128	(+)1.110 (-) 0.974	(+) 1.428 (-) 0.824	(+) 1.110 (-) 0.914
1/128	(+) 1.092 (-) 0.962	(+) 1.500 (-) 0.910	(+) 1.100 (-) 0.891
1/128	(+) 1.090 (-) 0.981	(+) 1.410 (-) 0.942	(+) 1.097 (-) 0.887
1/128	(+) 1.098 (-) 0.980	(+) 1.438 (-) 0.889	(+) 1.094 (-) 0.909
1/128	(+) 1.100 (-) 0.953	(+) 1.411 (-) 0.873	(+) 1.060 (-) 0.794

Cuadro 6. Lecturas de los controles positivos y negativos de los estándares de las hormonas con cinco repeticiones (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Dilución del Ag y Ac	Estradiol	Progesterona	Testosterona
1/128	(+) 0.216 (-) 0.010	(+) 0.318 (-) 0.017	(+) 0.242 (-) 0.011
1/128	(+) 0.210 (-) 0.014	(+) 0.298 (-) 0.010	(+) 0.251 (-) 0.017
1/128	(+) 0.216 (-) 0.016	(+) 0.296 (-) 0.019	(+) 0.223 (-) 0.009
1/128	(+) 0.214 (-) 0.011	(+) 0.316 (-) 0.010	(+) 0.218 (-) 0.014
1/128	(+) 0.222 (-) 0.018	(+) 0.326 (-) 0.018	(+) 0.213 (-) 0.015

Cuadro 7. Lecturas de estradiol y testosterona en una muestra (con 15 grs de heces) conocida de hembra de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución del anti-estradiol	Hembra 1	Dilución del anti-testosterona	Hembra 1
1/32	1.429	1/64	1.210
1/32	1.350	1/64	1.198
1/32	1.407	1/64	1.228
1/32	1.412	1/64	1.242
1/32	1.448	1/64	1.187

Cuadro 8. Lecturas de estradiol y testosterona en hembra y macho de borregos domésticos (*Ovis aries*) con cinco repeticiones en 11 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución anti-estradiol	Hembra 1	Macho 1	Dilución anti-testosterona	Hembra 1	Macho 1
1/256	1.824	1.472	1/64	1.300	1.618
1/256	1.742	1.304	1/64	1.274	1.709
1/256	1.643	1.342	1/64	1.290	1.583
1/256	1.721	1.458	1/64	1.388	1.725
1/256	1.732	1.333	1/64	1.284	1.620

Cuadro 9. Lecturas de estradiol y testosterona en hembra y macho de borregos domésticos (*Ovis aries*) con cinco repeticiones en 10 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución anti-estradiol	Hembra 2	Macho 2	Dilución anti-testosterona	Hembra 2	Macho 2
1/256	1.420	1.246	1/64	1.284	1.851
1/256	1.553	1.333	1/64	1.300	1.618
1/256	1.455	1.304	1/64	1.274	1.583
1/256	1.419	1.342	1/64	1.290	1.709
1/256	1.420	1.372	1/64	1.290	1.824

Cuadro 10. Lecturas de estradiol y testosterona en una hembra de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) y un macho híbrido con cinco repeticiones en 10 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución anti-estradiol	Hembra 1	Macho 1	Dilución anti-testosterona	Hembra 1	Macho 1
1/32	1.988	1.124	1/32	1.104	1.940
1/32	1.952	1.126	1/32	1.100	1.892
1/32	1.997	1.119	1/32	1.112	1.946
1/32	1.995	1.117	1/32	1.109	1.951
1/32	1.986	1.120	1/32	1.106	1.958

Cuadro 11. Lecturas de estradiol y testosterona obtenidos en una hembra de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) y un macho híbrido con cinco repeticiones en 11 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución anti-estradiol	Hembra 2	Macho 1	Dilución anti-testosterona	Hembra 2	Macho 1
1/256	1.998	1.100	1/64	1.516	1.589
1/256	1.952	1.09	1/64	1.342	1.597
1/256	2.008	1.142	1/64	1.478	1.584
1/256	2.018	1.151	1/64	1.490	1.673
1/256	2.028	1.148	1/64	1.419	1.784

Cuadro 12. Lecturas obtenidas en hembras (con estradiol) y machos (con testosterona) de chivos domésticos (*Capra hircus*) con diferentes cantidades de muestras con cinco repeticiones cada una (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

	Hembra	Hembra	Hembra		Macho	Macho	Macho
Dilución anti-estradiol	5 grs	3 grs	1 gr	Dilución anti-testosterona	5 grs	3 grs	1 gr
1/256	1.506	1.472	1.412	1/64	1.594	1.509	1.541
1/256	1.441	1.475	1.318	1/64	1.503	1.657	1.516
1/256	1.438	1.416	1.335	1/64	1.418	1.483	1.441
1/256	1.404	1.432	1.411	1/64	1.614	1.503	1.449
1/256	1.441	1.272	1.290	1/64	1.657	1.652	1.519

Cuadro 13. Lecturas obtenidas en machos de chivos domésticos (*Capra hircus*) con anti-testosterona con cinco repeticiones (cuantificación realizada con el lector de Elisa).

Dilución del anticuerpo	M. adulto 10 grs	M. joven 10 grs	M. cordero 8 grs
1/64	1.590	1.306	1.831
1/64	1.532	1.286	1.831
1/64	1.618	1.298	1.831
1/64	1.553	1.324	1.961
1/64	1.543	1.324	1.961

Cuadro 14. Lecturas obtenidas en hembras de chivas domésticas (*Capra hircus*) con anti-estradiol con cinco repeticiones en 11 grs de muestra (cuantificación realizada con el lector de ELISA).

Dilución del anticuerpo	Hembra adulta	Hembra joven
1/256	1.648	1.270
1/256	1.662	1.263
1/256	1.690	1.320
1/256	1.546	1.349
1/256	1.531	1.428

Cuadro 15. Lecturas de estradiol y progesterona obtenidos en hembras de chivas (*Capra hircus*) adultas preñadas y no preñadas con cinco repeticiones en 10 grs de muestra cada una (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Dilución anti-estradiol	Hembra 1 preñada	Hembra 2 no preñada	Dilución anti-progesterona	Hembra1 preñada	Hembra 2 no preñada
1/128	0.112	0.178	1/128	0.333	0.152
1/128	0.137	0.168	1/128	0.343	0.140
1/128	0.140	0.162	1/128	0.348	0.142
1/128	0.122	0.148	1/128	0.337	0.129
1/128	0.142	0.160	1/128	0.346	0.131

Cuadro 16. Lecturas de estradiol y progesterona obtenidos en hembras de chivas (*Capra hircus*) adultas preñadas y no preñadas con cinco repeticiones en 10 grs de muestra cada una (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Dilución anti-estradiol	Hembra 1 preñada	Hembra 2 no preñada	Dilución anti-progesterona	Hembra1 preñada	Hembra 2 no preñada
1/128	0.140	0.170	1/128	0.297	0.178
1/128	0.138	0.155	1/128	0.340	0.175
1/128	0.126	0.163	1/128	0.329	0.158
1/128	0.141	0.174	1/128	0.362	0.150
1/128	0.120	0.160	1/128	0.358	0.142

Cuadro 17. Lecturas de estradiol y progesterona obtenidos en hembras de chivas (*Capra hircus*) joven y corderita con cinco repeticiones (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Dilución anti-estradiol	Hembra joven 10 g.	Hembra cordera 6 g.	Dilución anti-progesterona	Hembra joven	Hembra cordera
1/128	0.154	0.210	1/128	0.150	0.148
1/128	0.189	0.216	1/128	0.142	0.121
1/128	0.163	0.234	1/128	0.138	0.118
1/128	0.168	0.230	1/128	0.169	0.128
1/128	0.180	0.221	1/128	0.151	0.134

Cuadro 18. Proporción de machos y hembras encontrados en los grupos de excretas analizadas de borrego cimarrón.

Fecha	Localidad	Altura	M. Analizadas	Macho	Hembra
29 noviembre 1997	Observatorio	↑	23	20	3
13 diciembre 1997	Providencia	↓	26	18	8
16 enero 1998	Esperanza	↓	8	6	2
18 enero 1998	C. Diablo	↓	9	4	5
19 enero 1998	C. Diablito	↓	5	5	
14 febrero 1998	C. Diablo	↓	25	1	24
1 marzo 1998	Encantada-E	↓	30	10	20
21 marzo de 1998	C. El Picacho	↑	10	9	1
8 junio 1998	Botella Azul	↑	26	16	10
9 junio 1998	Observatorio	↑	52	19	33
7 julio 1998	Observatorio	↑	64	17	47
22 agosto 1998	Botella Azul	↑	51	21	30
24 agosto 1998	Observatorio	↑	64	45	18
27 septiembre 1998	Observatorio	↑	64	48	15
24 octubre 1998	Encantada-E	↓	10	2	8
25 octubre 1998	Colibríes	↓	21	3	18
26 octubre 1998	C. Diablo	↓	54	39	15
22 mayo 1999	Observatorio	↑	65	28	37
	Total		605	311	294

↑= Por arriba de los 1500 metros.

↓= Por abajo de los 1500 metros.

Cuadro 19. Relación del tamaño de excreta de borrego cimarrón en cada muestra analizada.

Fecha	Machos	Hembras
29 Noviembre 1997	16 G y 4 M	1 G y 2 M
13 Diciembre 1997	17 G y 1 M	4 G, 1 M y 3 Ch
16 Enero 1998	6 G	1 G y 1 Ch
18 Enero 1998	3 G y 1 Ch	3 G, 1 M y 1 Ch
19 Enero 1998	1 M y 4 Ch	
14 Febrero 1998	1 G	22 G y 2 M
1 Marzo 1998	10 G	19 G y 1 M
21 Marzo 1998	2 G, 5 M y 2 Ch	1 M
8 Junio 1998	7 G, 1 M y 8 Ch	5 G, 3 M y 2 Ch
9 Junio 1998	11 G, 3 M y 5 Ch	25 G, 4 M y 4 Ch
7 Julio 1998	15 G, 1 M y 1 Ch	38 G, 6 M y 3 Ch
22 Agosto 1998	9 G, 9 M y 3 Ch	13 G, 9 M y 8 Ch
24 Agosto 1998	31 G, 7 M y 7 Ch	10 G, 4 M y 4 Ch
27 Septiembre 1998	32 G, 12 M y 4 Ch	10 G, 3 M y 2 Ch
24 Octubre 1998	2 G	7 G y 1 M
25 Octubre 1998	2 G y 1 M	14 G, 3 M y 1 Ch
26 Octubre 1998	31 G, 2 M y 6 Ch	12 G y 3 Ch
22 Mayo 1999	12 G, 11 M y 5 Ch	18 G, 12 M y 7 Ch
Total	207 G, 58 M y 46 Ch	202 G, 53 M y 39 Ch

(1) G = grandes (desde 1.7 cm de largo hasta 1 cm de ancho).

(2) M = medianas (desde 1 cm de largo hasta .7 cm de ancho).

(3) Ch = chicas (desde .5 cm de largo hasta .4 cm de ancho).

RESULTADOS

ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE BORREGO CIMARRON

En total se analizaron 605 muestras de 9 localidades (cuadro 2), siendo la localidad del Observatorio la de mayor número de muestras. Siguiendo el protocolo antes descrito para el análisis de las muestras, se obtuvieron los valores de progesterona, estradiol y testosterona, discriminando entre hembras y machos con la concentración de estradiol y testosterona. Encontrando, 311 machos y 294 hembras en cuanto a la proporción de sexos (cuadro 18). Los valores de las lecturas obtenidas en cada muestra se compararon con las variables, ya descritas anteriormente en el método estadístico.

Cuadro 20. Número correspondiente a cada mes de recolecta utilizado en el análisis estadístico.

Número	Meses
1	Noviembre
2	Diciembre
3	Enero
4	Febrero
5	Marzo
6	Junio
7	Julio
8	Agosto
9	Septiembre
10	Octubre
11	Mayo

Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de colecta y tamaño de la excreta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

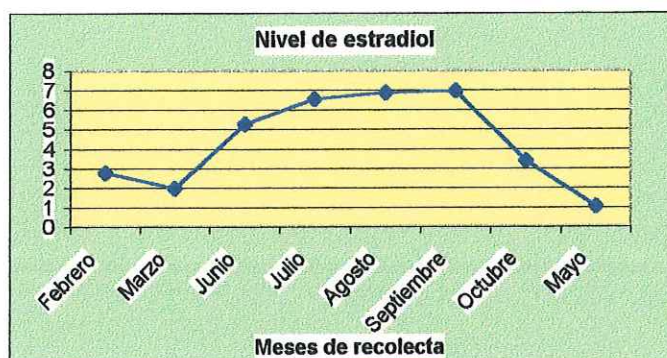
Se encuentran claras diferencias en los niveles de las hormonas en cada uno de los meses de recolecta (fecha) de las muestras, siendo mayor los niveles de progesterona, contenidos en las excretas. Sin embargo, en los niveles de las dos hormonas relacionadas con el tamaño de las excretas no se presentó ninguna diferencia. Al considerar por fechas los niveles de estradiol detectado en las excretas, se reconocieron dos grupos homogéneos de meses de recolecta que difieren significativamente entre sí ($p < 0.05$), abarcando el primero de ellos las fechas representadas por los meses **4 y 5** (febrero y marzo), en los cuales los niveles de la hormona en las excretas son menores que los niveles encontrados en las fechas **6, 7, 8 y 9** (junio, julio, agosto y septiembre), el segundo grupo lo componen los meses **6, 7, 8 y 9**, siendo mayor los niveles de estradiol en las excretas que los encontrados en los meses **10 y 11** (octubre y mayo).

En cuanto a los niveles de progesterona en las excretas por meses, el **3, 4 y 5** (enero, febrero y marzo) también conforman el primer grupo, presentando menores niveles de la hormona en las excretas que los meses **7, 8 y 9** (julio, agosto y septiembre). El segundo grupo está formado por los meses **7, 8 y 9** teniendo mayores niveles que el mes **10** (octubre) (cuadro 21, gráficas 1 y 2).

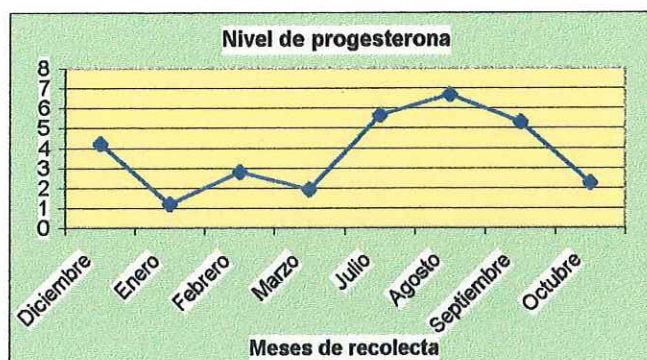
Cuadro 21. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Fecha		14.268	.0000	Fecha	4 [<] 7
4	2.7566468				4 [<] 8
5	1.9750468				4 [<] 9
6	5.2525816				5 [<] 6
7	6.5674763				5 [<] 7
8	6.8899378				5 [<] 8
9	6.9640000				5 [<] 9
10	3.3798298				6 [>] 11
11	1.0488000				7 [>] 10
Tamaño		.398	.5376		7 [>] 11
1	4.5185452				8 [>] 10
2	4.1900346				8 [>] 11
					9 [>] 11
				Tamaño	No hay diferencias
	Promedio de progesterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Fecha		22.215	.0000	Fecha	3 [<] 7
2	4.2065047				3 [<] 8
3	1.1959524				3 [<] 9
4	2.7976095				4 [<] 7
5	1.9340791				4 [<] 8
7	5.6483509				4 [<] 9
8	6.6870047				5 [<] 7
9	5.2918380				5 [<] 8
10	2.2389769				5 [<] 9
Tamaño					7 [>] 10
		1.599	.2100		8 [>] 10
1	4.0955348				9 [>] 10
2	3.4045442				
				Tamaño	No hay diferencias

Gráfica 1. Nivel de estradiol en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).



Gráfica 2. Nivel de progesterona en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).



Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona en excretas de hembras de borrego cimarrón por altura y tamaño de la excreta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Como se puede apreciar se presentan claras diferencias ($p < 0.05$) tanto para el estradiol como para la progesterona en cuanto a la altura, siendo mayor los niveles de las hormonas contenidas en las excretas en la altura **2** (por arriba de los 1500 metros). En cuanto a los niveles de las hormonas relacionados con el tamaño de la excreta, no se encontraron diferencias significativas (cuadro 22).

Cuadro 22. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Altura		27.352	.0000	Altura	1 [$<$] 2
1	2.4536163				
2	5.5439464				
Tamaño		3.746	.0579	Tamaño	No hay diferencias
1	4.6309952				
2	3.3665675				
	Promedio de progesterona	F calculada	Nivel de Significancia		Diferencias
Altura		127.969	.0000	Altura	1 [$<$] 2
1	2.2139610				
2	5.8434723				
Tamaño		2.590	.1114	Tamaño	No hay diferencias
1	4.4807443				
2	3.5766890				

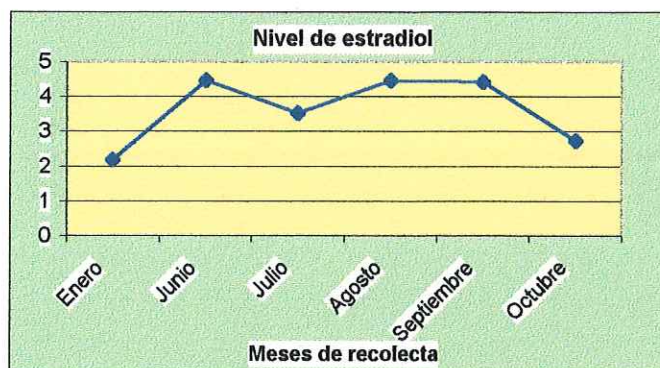
Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona relacionados con la época de celo y apareamiento en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de colecta y tamaño de la excreta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

En este caso en particular, se encontraron muy pocas diferencias ($p < 0.05$) entre los meses analizados, así como en el tamaño de las excretas para las dos hormonas, teniendo solo una diferencia entre el mes **6** (junio) el cual tiene mayor nivel de estradiol contenido en las excretas que el mes **10** (octubre) (cuadro 23, gráficas 3 y 4).

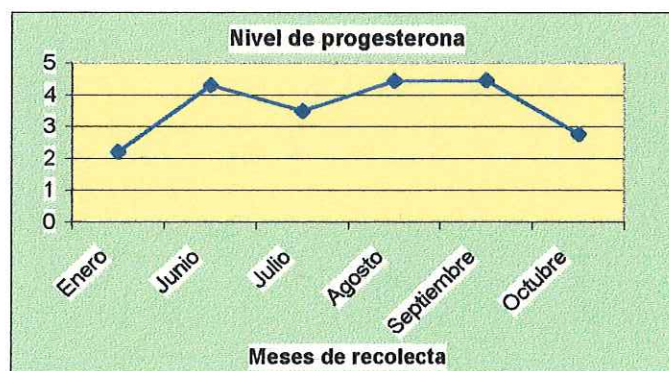
Cuadro 23. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona relacionados con la época de celo y apareamiento en excretas de hembras de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Fecha		3.101	.0139	Fecha	6 [$>$] 10
3	2.1697028				
6	4.4676934				
7	3.5321757				
8	4.4712988				
9	4.4325571				
10					
Tamaño		.333	.5720	Tamaño	No hay diferencias
1	3.7566856				
2	3.5120913				
	Promedio de progesterona	F calculada	Nivel de Significancia		Diferencias
Fecha		2.657	.0296	Fecha	No hay diferencias
3	2.1949031				
6	4.2864936				
7	3.4884758				
8	4.4331576				
9	4.4485017				
10	2.7585031				
Tamaño		.342	.5665	Tamaño	No hay diferencias
1	3.7267694				
2	3.4765755				

Gráfica 3. Nivel de estradiol relacionado con la época de celo y apareamiento en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).



Gráfica 4. Nivel de progesterona relacionado con la época de celo y apareamiento en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).



Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona relacionado con la época de celo y apareamiento en excretas de hembras de borrego cimarrón por altura y tamaño de la excreta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

También aquí las diferencias fueron muy pocas, presentándose sólo en la altura para las dos hormonas, siendo mayor los niveles contenidos en las excretas en la altura **2** (por arriba de los 1500 metros) para el estradiol y la testosterona (cuadro 24).

Cuadro 24. Análisis estadístico de los niveles de estradiol y progesterona relacionados con la época de celo y apareamiento en excretas de hembras de borrego cimarrón por altura y tamaño de la excreta. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Altura		10.118	.0022	Altura	2 [$>$] 1
1	2.6731762				
2	4.2309977				
Tamaño		.487	.4951	Tamaño	No hay diferencias
1	3.5829107				
2	3.3212632				
	Promedio de progesterona	F calculada	Nivel de Significancia		Diferencias
Altura		8.482	.0048	Altura	2 [$>$] 1
1	2.7212529				
2	4.1549369				
Tamaño		.347	.5637	Tamaño	No hay diferencias
1	3.5492056				
2	3.3269841				

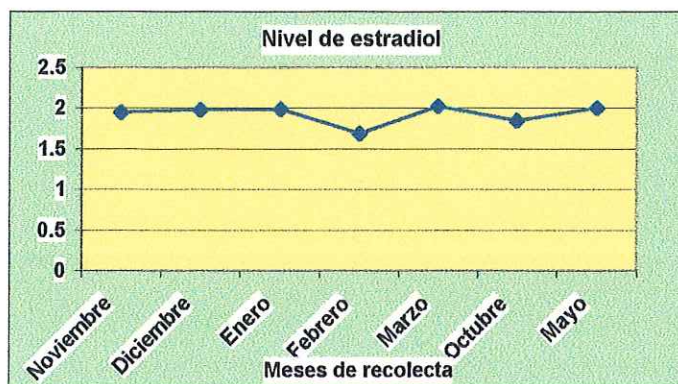
Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la excreta (cuantificación realizada con lector de ELISA).

En este caso, se presentaron diferencias ($p < 0.05$) en los niveles de las hormonas contenidas en las excretas en los meses analizados para el estradiol y la testosterona; pero, no así entre el tamaño de la excreta. Entre los meses para el estradiol el **2, 3 y 11** (diciembre, enero y mayo) tuvieron mayores niveles de la hormonas que los meses **4 y 10** (febrero y octubre). En cuanto a la testosterona, los meses **1 y 2** (noviembre y diciembre) presentaron menos nivel de la hormona contenida en las excretas que los meses **3 y 11** (enero y mayo) (cuadro 25, gráficas 5 y 6).

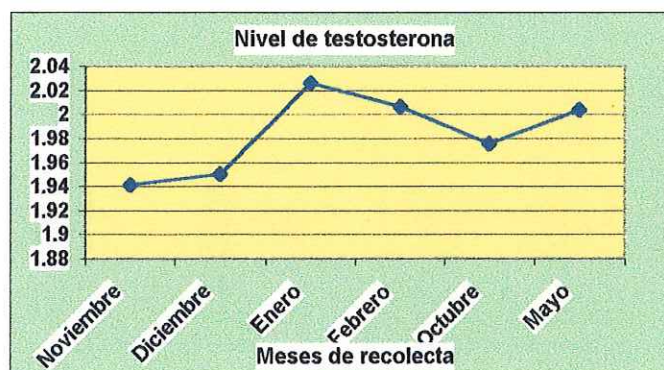
Cuadro 25. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por meses de recolecta y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Fecha		6.980	.0000	Fecha	2 [>] 4
1	1.9449167				3 [>] 4
2	1.9831250				11 [>] 4
3	1.9879500				11 [>] 10
4	1.6853214				
5	2.0277500				
10	1.8417300				
11	2.0042167				
Tamaño		.846	.3708	Tamaño	No hay diferencias
1	1.9417514				
2	1.9082514				
	Promedio de testosterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Fecha		4.264	.0020	Fecha	1 [<] 3
1	1.9410059				1 [<] 11
2	1.9502849				2 [<] 3
3	2.0263659				
4	2.0066075				
10	1.9755495				
11	2.0037210				
Tamaño		2.043	.1577	Tamaño	No hay diferencias
1	1.9723400				
2	1.9955049				

Gráfica 5. Nivel de estradiol en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con lector de ELISA).



Gráfica 6. Nivel de testosterona en excretas de macho de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con lector de ELISA).



Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por altura y tamaño de la muestra (cuantificación realizada con lector de ELISA).

En el estradiol sólo se presentaron diferencias ($p < 0.05$) en los niveles de la hormona contenida en las excretas en cuanto a la altura, pero no para el tamaño de la excreta. Siendo mayor los niveles de la hormona en la altura **2** (por arriba de los 1500 metros). En cambio en la testosterona las diferencias fueron lo contrario que lo presentado en el estradiol, ya que no hubo diferencia alguna en los niveles contenidos en las excretas en la altura, pero si las hubo en el tamaño de las excretas, teniendo mayor nivel de testosterona en las excretas el tamaño número **2** (cuadro 26).

Cuadro 26. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por altura y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Altura		17.797	.0001	Altura	1 [$<$] 2
1	1.8482721				
2	1.9999658				
Tamaño		.528	.4774	Tamaño	No hay diferencias
1					
2					
	Promedio de testosterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Altura		.001	.9802	Altura	No hay diferencias
1	1.9864590				
2	1.9860491				
Tamaño		4.636	.0348	Tamaño	1 [$<$] 2
1	1.9676318				
2	2.0048763				

Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por mes de recolecta y tamaño de la muestra (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

De nuevo sólo se presentaron diferencias ($p < 0.05$) en los niveles de las hormonas contenidas en las excretas tanto para el estradiol como para la testosterona en los meses de recolecta, pero no para los niveles de las hormonas relacionados con el tamaño de las excretas.

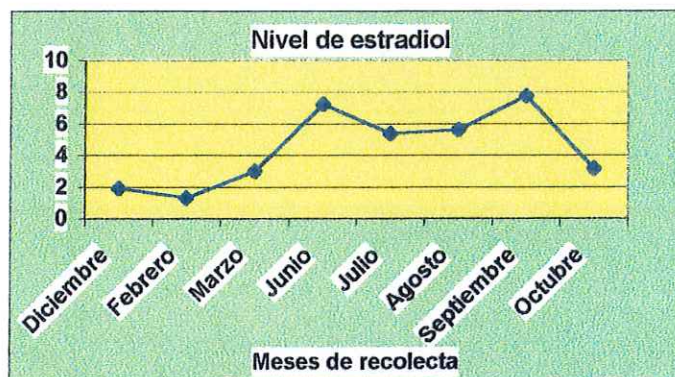
En el estradiol los meses se clasificaron en tres grupos, estando el primero formado por los meses **4 y 5** (febrero y marzo) los cuales presentan menos nivel de la hormona contenida en las excretas que los meses **6, 7, 8 y 9** (junio, julio, agosto y septiembre), el segundo grupo está conformado por los meses **6, 7, 8 y 9** que tuvieron mayor nivel de estradiol que los grupos **7, 8 y 10** (julio, agosto y octubre), por último el tercer grupo lo conforman los meses **7 y 8** que presentan menos estradiol que el mes número **9**.

En el caso de la testosterona, sólo se distinguen dos grupos por mes recolecta, y en el primero de ellos el mes número **3** (enero) presenta menos nivel de testosterona contenida en las excretas que los meses **6, 8 y 9**. En el segundo grupo los meses **6, 8 y 9** tienen mayor nivel de testosterona que el mes número **10** (octubre) (cuadro 27, gráficas 7 y 8).

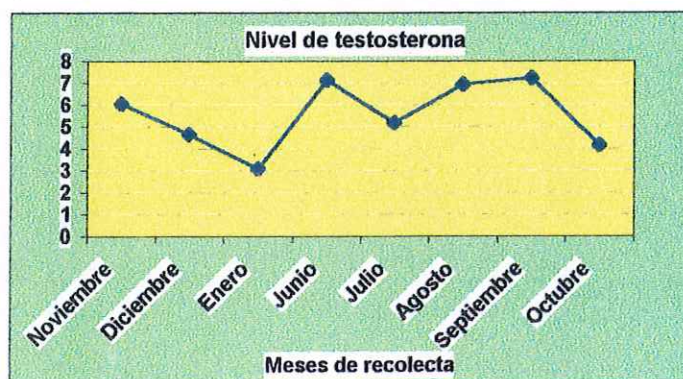
Cuadro 27. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por mes de recolecta y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Fecha		21.805	.0000	Fecha	4 [<] 6 6 [>] 7
2	1.9152924				4 [<] 7 6 [>] 8
4	1.2779868				4 [<] 8 6 [>] 10
5	2.9906698				4 [<] 9 7 [<] 9
6	7.2313439				5 [<] 6 7 [>] 10
7	5.3858490				5 [<] 7 8 [<] 9
8	5.6079146				5 [<] 8 8 [>] 10
9	7.7786959				5 [<] 9 9 [>] 10
10	3.1527924				
Tamaño		.432	.5189	Tamaño	No hay diferencias
1	4.2822757				
2	4.5528605				
	Promedio de testosterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Fecha		7.881	.0000	Fecha	3 [<] 6
1	6.0687711				3 [<] 8
2	4.6597711				3 [<] 9
3	3.0819165				6 [>] 10
6	7.1447634				8 [>] 10
7	5.1817997				9 [>] 10
8	6.9588134				
9	7.2375323				
10	4.1595278				
Tamaño		0.21	.8853	Tamaño	No hay diferencias
1	5.5258408				
2	5.5973830				

Gráfica 7. Nivel de estradiol en excretas de hembra de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).



Gráfica 8. Nivel de testosterona en excretas de macho de borrego cimarrón por meses de recolecta (cuantificación realizada con espectrofotómetro).



Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por altura y tamaño de la muestra (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

En el estradiol, la altura **2** presenta mayores niveles de la hormona contenida en las excretas, pero en los niveles de las hormonas relacionados con el tamaño de las excretas no se presentan diferencias. Así mismo, en la testosterona la altura **2** tiene mayores niveles de esta hormona contenida en las excretas y de nuevo en el tamaño de las excretas no hubo diferencias (cuadro 28).

Cuadro 28. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) en excretas de borrego cimarrón por altura y tamaño de la muestra. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Altura		98.377	.0000	Altura	2 [$>$] 1
1	2.4096483				
2	6.1939753				
Tamaño		.222	.6430	Tamaño	No hay diferencias
1	4.1988564				
2	4.4047673				
	Promedio de testosterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
Altura		42.998	.0000	Altura	2 [$>$] 1
1	4.0580137				
2	6.9105650				
Tamaño		.400	.5347	Tamaño	No hay diferencias
1	5.3307205				
2	5.6378582				

Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta por muestra con interacciones de segundo orden (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

En las pruebas con interacciones de segundo orden hubo diferencias ($p < 0.05$) en las excretas entre los meses de recolecta en el estradiol, pero no así entre los niveles de la hormona relacionado con el tamaño de las excretas y en la interacción de las dos variables. Los meses con los niveles de estradiol se dividieron en dos grupos, en el primero de ellos, el mes número **5** (marzo) presenta menos nivel de estradiol contenido en las excretas que los meses **6, 7, 8 y 9** (junio, julio, agosto y septiembre). En el segundo grupo los meses **6, 7, 8 y 9** tienen mayores niveles de estradiol que el mes número **11** (cuadro 29).

Cuadro 29. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta por muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
A. Fecha		7.945	.0000	A. Fecha	5 [$<$] 6
4	2.6695000				5 [$<$] 7
5	2.1585000				5 [$<$] 8
6	5.5252500				5 [$<$] 9
7	6.2910000				6 [$>$] 11
8	5.8075000				7 [$>$] 11
9	6.9640000				8 [$>$] 11
10	2.9224000				9 [$>$] 11
11	1.0488000				
B. Tamaño		1.240	.2715	B. Tamaño	No hay diferencias
1	4.4905000				
2	3.8562375				
Interacción					
A.B		1.139	.3568		
4-1	2.9790000				
4-2	2.3600000				
5-1	2.0170000				
5-2	2.3000000				
6-1	4.8715000				
6-2	6.1790000				
7-1	6.7820000				
7-2	5.8000000				
8-1	7.2510000				
8-2	4.3640000				
9-1	6.4360000				
9-2	7.4920000				
10-1	3.7728000				
10-2	2.0720000				
11-1	1.8147000				
11-2	.2829000				

Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta por muestra con interacciones de segundo orden (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

En esta prueba solo hubo diferencias en la altura, teniendo mayor nivel de estradiol la altura **2** (por arriba de los 1500 metros) (cuadro 30).

Cuadro 30. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta por muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
A. Altura		14.482	.0004	A. Altura	2 [$>$] 1
1	2.6161538				
2	5.4916248				
B. Tamaño		2.092	.1536	B. Tamaño	No hay diferencias
1	4.6003453				
2	3.5074333				
Interacción		.213	.6512		
A.B					
1-1	2.9883077				
1-2	2.2440000				
2-1	6.2123829				
2-2	4.7708667				

Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden (cuantificación realizada con lector de ELISA).

En este caso se presentaron pocas diferencias en las excretas entre las variables analizadas, ya que sólo las hubo en los meses de colecta, pero no entre los niveles de las hormonas relacionados con el tamaño de las excretas. En las interacciones de las dos variables no hubo diferencia alguna para los dos casos.

Para el estradiol el mes número **3** presento mayor nivel de la hormona contenida en las excretas que el mes número **4**, el mes número **4** tiene menor nivel de estradiol que el mes número **11** y el mes número **10** presenta mayor nivel de estradiol que el mes número **11**. En la testosterona el mes número **1** presenta menos nivel de la hormona contenida en las excretas que el mes número **11** (cuadro 31).

Cuadro 31. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Estradiol
A. Fecha		6.063	.0001	Fecha	3 [$>$] 4
1	1.9235000				44 [$<$] 11
2	1.9713333				10 [$>$] 11
3	1.9815000				
4	1.6534167				
5	3.4926315				
10	1.8082440				
11	2.0094167				
B. Tamaño		.000	1.0000	Tamaño	No hay diferencias
1	2.3514525				
2	1.8885595				
Interacción		.692	.6569		
A.B					
1-1	1.8760000				
1-2	1.9710000				
2-1	2.0116667				
2-2	1.9310000				
3-1	2.0090000				
3-2	1.9540000				
4-1	1.7148333				
4-2	1.5920000				
5-1	4.9742629				
5-2	2.0110000				
10-1	1.8742381				
10-2	1.7422500				
11-1	2.0001667				
11-2	2.0186667				
	Promedio de testosterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
A. Fecha		2.415	.0462	Fecha	1 [$<$] 11
1	1.9356667				
2	1.9715769				
3	2.0268333				
4	2.0118500				
10	1.9815000				
11	2.0037879				
B. Tamaño		1.774	.1879	Tamaño	No hay diferencias
1	1.9744979				
2	2.0025737				
Interacción		.263	.9317		
A.B					
1-1	1.9340000				
1-2	1.9373333				
2-1	1.9351538				
2-2	2.0080000				
3-1	2.0146667				
3-2	2.0390000				
4-1	2.0125000				
4-2	2.0112000				
10-1	1.9600000				
10-2	2.0030000				
11-1	1.9906667				
11-2	2.0169091				

Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden (cuantificación realizada con lector de ELISA).

En esta prueba solo hubo diferencias en el estradiol para la altura, no habiendo diferencia alguna para la testosterona y en los niveles de las hormonas relacionadas con el tamaño de la excreta ni tampoco en las interacciones.

En el estradiol los mayores niveles de la hormona contenidos en las excretas se presentaron en la altura **2** (por arriba de los 1500 metros) (cuadro 32).

Cuadro 32. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con lector de ELISA).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
A. Altura		19.817	.0000	Altura	2 [$>$] 1
<u>1</u>	1.8260441				
<u>2</u>	2.0027158				
B. Tamaño		.964	.3401	Tamaño	No hay diferencias
<u>1</u>	1.9338599				
<u>2</u>	1.8949000				
Interacción					
A.B		2.072	.1544		
<u>1-1</u>	1.8740882				
<u>1-2</u>	1.7780000				
<u>2-1</u>	1.9936316				
<u>2-2</u>	2.0118000				
	Promedio de testosterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
A. Altura		.070	.7952	Altura	No hay diferencias
<u>1</u>	1.9915833				
<u>2</u>	1.9858586				
B. Tamaño		3.771	.0563	Tamaño	No hay diferencias
<u>1</u>	1.9676875				
<u>2</u>	2.0097544				
Interacción					
A.B		.140	.7136		
<u>1-1</u>	1.9665000				
<u>1-2</u>	2.0166667				
<u>2-1</u>	1.9688750				
<u>2-2</u>	2.0028421				

Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

Este caso es igual al anterior, presentándose solo diferencias en los niveles de estradiol contenidos en las excretas en las alturas, de las cuales la número **2** presenta los mayores niveles de esta hormona (cuadro 33).

Cuadro 33. Análisis estadístico de los niveles de estradiol (en hembras) y testosterona (en machos) de borrego cimarrón relacionado con el tamaño de excreta en cada muestra con interacciones de segundo orden. Y diferencias encontradas con las variables analizadas en la prueba de rangos múltiples de Tukey con una $p < 0.05$ (cuantificación realizada con espectrofotómetro).

	Promedio de estradiol	F calculada	Nivel de significancia		Estradiol
A. Altura		30.130	.0000	Altura	2 [$>$] 1
1	1.7610360				
2	6.2274189				
B. Tamaño		.300	.5905	Tamaño	No hay diferencias
1	4.2170257				
2	3.7714293				
Interacción					
A.B		.901	.3540		
1-1	2.3699721				
1-2	1.1521000				
2-1	6.0640792				
2-2	6.3907586				
	Promedio de testosterona	F calculada	Nivel de significancia		Diferencias
A. Altura		1.025	.3126	Altura	No hay diferencias
1	5.5815956				
2	6.8777744				
B. Tamaño		2.063	.1527	Tamaño	No hay diferencias
1	5.3105215				
2	7.1488485				
Interacción					
A.B		1.671	.1978		
1-1	3.8351911				
1-2	7.3280000				
2-1	6.7858519				
2-2	6.9696970				

DISCUSION

El conocimiento de los procesos reproductivos de cualquier especie en estudio, implica una gran variedad de factores tanto técnicos, sociales así como materiales, entre otros, para poder entender y aplicar los diferentes métodos utilizados para dicho trabajo. Los sucesos reproductivos son críticos para mantener e incrementar la productividad de las poblaciones silvestres, en las cuales hay una gran variación entre especies en cuanto a la relación de sexos, estacionalidad y procesos reproductivos. Por tanto, las diferentes estrategias para monitorear la reproducción y mantener las poblaciones silvestres depende del conocimiento empleado y adquirido en cualquier estudio. El conocimiento de la actividad reproductiva del borrego cimarrón es escasa, siendo necesario obtener este conocimiento a través de investigaciones de la fisiología reproductiva de esta especie bajo condiciones naturales lo cual implica un gran esfuerzo y dedicación.

Evidencias de borrego

Para llevar a cabo un estudio de seguimiento del borrego cimarrón, el cual es un animal difícil de ver en el campo, se requiere del uso de las evidencias indirectas tanto de excretas, huellas, senderos, etc, entre otros, dado que muy pocas veces se tiene la oportunidad de observarlo. Las evidencias indirectas aportan mucha información sobre su hábitat, hábitos (reproductivos, de alimentación, etc), territorialidad, entre otros, los cuales nos ayudan a entender y determinar los diferentes procesos por los que

pasa este organismo a la largo de su vida. En este caso, se usaron las excretas las cuales son relativamente fáciles de distinguirse de otras, como por ejemplo las de venado (que son más largas), pero, son más difíciles de encontrar. Las excretas son una buena herramienta indicadora de la presencia del borrego en los diferentes lugares donde se encuentra, nos pueden indicar si el área evaluada es ocupada por los organismos en diferentes épocas, aunque, no dan la cantidad exacta de los animales en el lugar, pero si una aproximación, además se pueden distinguir claramente un grupo de otro diferenciando los tamaños y la frescura de cada uno.

Recolecta de las muestras

En la recolecta de las muestras, necesarias para un posterior estudio de laboratorio, se tienen que tener en cuenta el número de localidades muestreadas, así como el número de veces que se van a visitar cada área, las temporadas que se van a registrar y lo más importante es tratar de homogeneizar el número de muestras recolectadas, lo cual la mayoría de las ocasiones es muy difícil de realizarse. Además se debe tomar las muestras lo más frescas posibles para la obtención de mejores resultados, algo muy importante es registrar todos los parámetros y condiciones encontrados en el lugar, así como la presencia de los organismos en caso de que se llegaran a presentar.

El método y su aplicación

En el presente trabajo se logró estandarizar la técnica de ELISA para aplicarla directamente en la investigación del borrego cimarrón y para otras especies, como el venado bura. Dicha técnica tiene una amplia perspectiva de uso ya que no se requiere utilizar equipo especial y sofisticado, ni tampoco radioisótopos (como es el caso del radioinmunoensayo, RIA), entre otros. Este inmunoensayo es de fácil aplicación, dado que solo se utilizan algunos anticuerpos (dependiendo de las hormonas a analizarse) y de algunos solventes orgánicos. Pero, también tiene una desventaja, ya que las hormonas, los anticuerpos y los solventes que se utilizan tienen un alto costo, teniendo en cuenta que no siempre se tiene un buen apoyo financiero en los proyectos de investigación, así mismo no siempre esta disponible el equipo necesario, ni tampoco el apoyo de la gente capacitada en esta área. Por tanto, esto provoca que se dificulte y atrasen este tipo de investigaciones. En lo particular, a lo largo de todo el trabajo se presentaron algunas dificultades desde la estandarización hasta el análisis de las muestras problema, ya que se necesitó adecuar y equipar un laboratorio para su uso diario, así como también se requirió de la utilización de algunos aparatos de otros lugares para poder obtener el análisis completo de las muestras. Una vez reunido el equipo básico, en el desarrollo de la estandarización uno de los principales problemas fue la colecta de las muestras de organismos domésticos, ya que no siempre estuvieron disponibles ni tampoco se lograba reunir todas las tallas (adultos, jóvenes y

corderos) por lo que se colectó en diferentes lugares. Cuando ya se tuvo estandarizado el método, el análisis de las muestras problema fue relativamente rápido, dado que se tuvieron que leer las muestras con dos aparatos diferentes (lector de ELISA y espectrofotómetro) por lo que los resultados se agruparon en dos rubros diferentes.

Al finalizar este trabajo, tanto el objetivo general como los objetivos particulares se cumplieron satisfactoriamente dado que se logró detectar los niveles de las hormonas esteroidales en las diferentes temporadas y alturas, la proporción de sexos (macho:hembra), se logró establecer la dinámica reproductiva para el periodo de estudio, así como una comparación entre el método anteriormente utilizado en el estudio del borrego cimarrón y la aplicación del inmunoensayo utilizado en este trabajo.

Estandarización del método

Durante la estandarización de la técnica de ELISA, los resultados que se presentaron fueron muy variados entre los organismos, mostrando grandes diferencias entre unos y otros. Los resultados obtenidos son muy semejantes a los encontrados en los trabajos descritos por Hafez (1996) y Bearden (1982), en donde los organismos jóvenes presentan en algunas ocasiones valores más bajos de las hormonas que los organismos adultos, lo cual se puede deber a que muchas veces todavía no se encuentran en espermatogenesis, pero esto no sucede en todos los casos ya que unos organismos son más precoces que otros. Por otro lado, los corderitos presentaron valores más altos que los jóvenes y los adultos, debido a que los machos prepúberes presentan un aumento de la amplitud de los picos de LH (hormona leutinizante) aproximadamente a los 3 meses de edad, tiempo en que comienza a declinar y consecuentemente la frecuencia de los pulsos de LH aumenta hasta los 4 meses de edad, y las concentraciones plasmáticas de hormona se incrementan de manera lineal. Inicialmente las células de Leydig requieren una elevada concentración de LH para la secreción de testosterona. Este umbral comienza a declinar hacia los 6 meses de edad aproximadamente. En las hembras este fenómeno es muy semejante, dado que, con el acercamiento de la pubertad, la frecuencia de los picos de LH o luteotropina aumenta, seguida de un aumento transitorio en la oleada preovulatoria de la misma, que se relaciona con estro conductual durante el periodo puberal. Sin embargo, hay que tener en

cuenta que tanto en el macho como en la hembra la pubertad no es la madurez sexual, por lo que la reproducción entre estos individuos pocas veces llega a tener éxito.

Por último, se encontró que los niveles de las hormonas entre hembras y machos adultos varían dependiendo tanto de la temporada, de la altitud, así como del estado reproductivo en el que se encuentren, es decir, si están o no en periodo de celo, de gestación, etc, como lo describe Morrison (1981), por ejemplo : en la gestación la secreción continúa de progesterona suprime el estro, las concentraciones de estrógenos son bajas durante la primera parte de la gestación pero aumenta a la mitad y última parte de la misma.

Desarrollo del análisis y determinación de los niveles hormonales

En este estudio, se logró el desarrollo del inmunoanálisis (ELISA) aplicándose a 605 muestras recolectadas en diferentes áreas de la sierra San Pedro Mártir a lo largo de un año y medio, logrando analizar todas las muestras en las cuales se encontraron diferencias en los niveles de las hormonas de unos meses a otros por alturas y tamaños, la obtención de estos resultados se podrán aplicar directamente en la investigación del borrego cimarrón, misma que servirá de apoyo para futuras aplicaciones de este método. Dicha técnica se desarrolló por medio del antígeno-anticuerpo, siendo el antígeno las hormonas que se pudieran encontrar en las excretas y los anticuerpos fueron los ya comúnmente conocidos de estradiol, progesterona y testosterona desarrollados en suero de bovinos, al igual que el IgG anti-conejo conjugado con fosfatasa alcalina.

Los resultados obtenidos por medio de la técnica del inmunoensayo son de gran confiabilidad y aplicación para llegar a establecer la dinámica reproductiva del borrego cimarrón, ya que por medio de los niveles de las hormonas se pueden definir las diferentes etapas reproductivas en las que se encuentran a lo largo del año, además de que se pueden analizar un número ilimitado de muestras sin tener que trabajar directamente con el organismo. Por esta razón, se optó por la aplicación de esta técnica, dado que comúnmente se han empleado varias técnicas para estudiar las hormonas, basándose principalmente en bioanálisis y radioinmunoanálisis (RIA) mismos que se aplican generalmente a animales en cautiverio, por

medio de la toma de sangre y algunas veces en excretas. En el caso del bioanálisis la hormona se administra al animal, en el cual se induce una respuesta biológicamente medible, en cambio el radioinmunoanálisis constituye uno de los principales avances en la endocrinología analítica, permitiendo una rápida medición de grandes concentraciones de hormonas. Hafez en 1996 menciona que el principio de RIA se basa que en ausencia de un antígeno u hormona no marcados, la hormona marcada radiactivamente tiene la máxima oportunidad de reaccionar con un número limitado de sitios de unión para los anticuerpos. Sin embargo, y de acuerdo a lo descrito por Shideler y sus colaboradores en 1994, los procedimientos por medio de RIA tienen una limitada aplicación para su uso en los estudios de campo, ya que se requiere de una labor intensiva, equipo especial y el uso de radioisótopos. Por lo cual, debido a este tipo de problema recientemente se ha venido desarrollando el inmunoensayo, el cual proporciona las concentraciones de los diferentes metabolitos esteroidales en excretas, teniendo grandes posibilidades de uso para las investigaciones de campo y sobre todo para conocer el estado reproductivo de las especies silvestres. Finalmente, se llegó a la conclusión que es necesario la utilización y aplicación de nuevas técnicas, como esta, para un mejor desarrollo del trabajo y la obtención de resultados confiables, en las investigaciones de campo, en los diferentes organismos silvestres, mismas que sirvan para un mejor manejo y aprovechamiento de las especies cinegéticas de la región, así como para su conservación.

Metodologías empleadas en la determinación de la proporción de sexos el estudio del borrego cimarrón

Los métodos comúnmente utilizados en el estudio del borrego de esta región están basados en los censos aéreos principalmente, obteniendo con ello la proporción de sexos de los organismos en las diferentes sierras de la localidad. Dicho método puede caer en errores de registros, ya que se puede confundir a un macho joven con una hembra, como lo explica Geist en 1971 dado que algunas veces los machos jóvenes y algunos de 2 años son difíciles de distinguirse entre las hembras adultas, especialmente en el invierno cuando el pelaje cambia de color y los genitales y las ubres no son visibles. Así mismo, las características de las sierras son diferentes por lo que no se puede extrapolar datos de una sierra a otra, además de que la mayoría de las veces se vuela a una cierta altura (hasta los 1500 mts), y en el caso de la sierra San Pedro Mártir, la cual tiene las mayores altitudes de las sierras en el estado, presenta cañones y pendientes muy pronunciadas así como una zona de pinos, por lo que esta zona no se considera durante los censos, ocasionando con ello un sesgo bastante fuerte en los resultados, por otra parte el tiempo empleado en los censos no son lo suficientemente buenos como para llegar a determinar el número de individuos para una población o área determinada, ya que no todos los organismos son vistos en tan poco tiempo. Por ejemplo, los resultados del censo aéreo de 1992, realizado por DeForge (DeForge, *et al.*, 1992) en ocho sierra de Baja California, muestran que San Pedro Mártir tiene el quinto lugar en el número

de individuos por kilómetro cuadrado, siendo las sierras con mayor número de organismos las de Santa Rosa, Santa Isabel y las Tinajas, sierras con una menor cobertura vegetal y mayormente especies xerófitas (Montoya, 1998), lo que es un poco contradictorio ya es precisamente en la sierra San Pedro Mártir donde se presenta una gran heterogeneidad ambiental, en la cual hay desde bosque de pino hasta desierto y un ecotono entre matorral costero y chaparral de montaña, además de las innumerables fuentes de agua disponibles durante el año, también presenta una gran cantidad de especies de plantas las cuales sirven de fuente de alimento al borrego.

Otro obstáculo en la utilización de censos aéreos es su alto costo, por lo que solo se realiza una vez al año, cada cierto tiempo, lo cual no aporta la suficiente información para asegurar el estado de una población, además de que no se le da un estudio de seguimiento, por la falta de presupuesto. Por otro lado, no se tiene el conocimiento de la aplicación de nuevas técnicas, adecuadas para el seguimiento de este tipo de investigaciones, además de que no se le ha dado un real interés y apoyo a las investigaciones del borrego cimarrón, por lo que siempre se cae en lo mismo. Por estas razones el conocimiento de la dinámica reproductiva del borrego cimarrón en Baja California hasta ahora ha sido escasa.

En cambio, mediante el uso de las evidencias indirectas se puede obtener información mucho más clara y fidedigna, ya que se pueden recorrer a pie la gran mayoría de las localidades y sobre todo a diferentes alturas y temporadas, al igual de que se puede observar si el lugar ha sido o

es frecuentemente visitado por los organismos en diferentes tiempos. Aunado a esto se pueden analizar las muestras colectadas por medio de técnicas precisas, sin tener que ver directamente al organismo, para determinar la proporción de sexos, la presencia de embarazo y la (o las) temporada(s) reproductiva(s) al año de cualquier área.

Algunos de los sesgos que se pueden llegar a presentar en la determinación de sexos por medio del método aquí propuesto se deberían principalmente por factores a nivel endocrino y conductual, ya que la especificidad de sexo de las hormonas esteroides (andrógenos en el macho y estrógenos en la hembra) hace surgir la interrogante acerca de la existencia de una influencia directa de la hormona sobre la respuesta conductual. Sin embargo, el ritmo de secreción difiere entre machos y hembras, y una posible sexualización del encéfalo puede influir en la reacción del organismo. Este tipo de alteraciones se da principalmente en entre los machos jóvenes y con poca frecuencia (Hafez, 1996). En el caso del borrego cimarrón, dada sus jerarquía social en la cual los machos adultos permanecen apartados del resto de la manada, los machos jóvenes permanecen con el grupo de hembras hasta que llegan a tener el suficiente desarrollo para incorporarse con los machos de más edad, lo cual podría propiciar que algunos de los jóvenes tomaran conductas semejantes a las de las hembras debido al efecto de la sexualización en el cerebro al encontrarse entre ellas la mayor parte de tiempo, lo cual también propiciaría cambios a nivel hormonal y por lo tanto se puede llegar a determinar a un macho

joven como hembra. Como ya se menciono anteriormente este evento es poco probable que llegue a darse, aunque no imposible, por lo cual las posibilidades de error al determinar la proporción de sexos con evidencias indirectas como las excretas son muy bajas.

Por tanto la eficacia del método utilizado en este trabajo comparado con el anterior es de mayor perspectiva y aplicación, dadas las características ecológicas, económicas así como las sociales en las cuales se encuentra actualmente el borrego cimarrón .

Como ya se ha mencionado en estudios anteriores la proporción de sexos varía entre las diferentes altitudes, localidades, entre las diferentes especies y especialmente entre las hembras reproductivas, es decir, la edad a la cual se están reproduciendo, ya que algunas veces en las hembras viejas la descendencia tiende más hacia los machos, como lo explica Briedermann (1992). En este trabajo se encontró una proporción de sexos favoreciendo ligeramente a los machos (311:294), aunque hay una gran variación respecto a la época del año y altitud, ya que en otoño-invierno la proporción fue de 156:118 y para primavera verano fue de 155:176; y para la altitud por debajo de los 1500 mts se encontró una proporción de 108:103, mientras que por arriba de los 1500 hasta los 2800 mts fue de 203:191 lo que se puede atribuir a las características del área de estudio, la cual es un ambiente heterogéneo que propicia que se establezcan grupos familiares, por otro lado, las condiciones climáticas también tienen gran influencia en las diferentes proporciones de sexos que se presentaron,

siendo mayor la proporción en primavera-verano que es cuando empieza el crecimiento vegetativo y hay una mayor frecuencia de agua, por las lluvias que se presentan en esa temporada, llevando con ello a una mayor fuente de alimento para los organismos al igual que mayores posibilidades de sobrevivencia de la descendencia, que se dio a finales del invierno y principios de la primavera. En cuanto a la altitud, el número de grupos de excretas recolectados por arriba de los 1500 mts es más grande, esto probablemente se debe a que en este rango altitudinal hay una mayor cantidad de alimento disponible para los animales, al encontrarse bosque de pino por el oeste y parte del matorral xerófilo del lado este de la sierra, además de presentar más lugares óptimos como refugio, lo que favorece tanto a las hembras preñadas como a los corderos, caso contrario a lo que sucede en el área de los cañones por debajo de los 1500 mts, ya que aquí, contrariamente a lo que se podría pensar, los organismos están más expuestos tanto a los depredadores como a los cazadores, evitando con ello estos lugares para el establecimiento de los grupos familiares. Como se puede apreciar, no sólo se puede obtener una estimación de la proporción de sexos para un área determinada, por medio de la técnica del inmunoensayo, si no que además se pueden comparar los resultados por alturas y temporadas para un mejor establecimiento de los parámetros reproductivos de una población, de acuerdo con las características propias de cada lugar. Estos resultados concuerdan con un trabajo anteriormente desarrollado también por medio de excretas (en este caso tomando en

cuenta las medidas de cada muestra por mes y altura) en las mismas localidades y en la misma época, encontrándose diferencias significativas en la distribución de los diferentes grupos de animales (Ayala, *et al.*, en prensa). Por otra parte, Geist (1971) menciona que son los machos adultos los que se alejan de los grupos familiares y los que guían al grupo por los corredores que unen los diferentes ámbitos hogareños (de invierno y de verano) (Montoya, 1998), este comportamiento explica la gran variación de la proporción de sexos encontrada tanto en términos espaciales como temporales. Por otro lado, teniendo en cuenta que las mayores concentraciones de las tres hormonas se presentaron en la altura dos (por arriba de los 1500 mts), de igual manera nos está indicando la presencia de los grupos heterogéneos en este lugar, en donde hay desde corderos, jóvenes y adultos durante la mayor parte del año.

Por otra parte, se ha documentado que existen dos factores que están relacionados con la proporción de sexos en los ungulados silvestres : 1) la nutrición o condición física lo cual es un reflejo del rango en una manada silvestre; y 2) la edad de las hembras, lo cual es a menudo un reflejo del estatus dominante. De acuerdo con Clutton-Brook y Iason en 1986, la interpretación de las observaciones en los estudios no es muy consistente y la distorsión de la proporción de sexos permanece sujeto a muchas conjeturas. De igual manera la medida y composición de los grupos así como el tiempo y la duración de los periodos reproductivos varía en las diferentes manadas de borregos, de acuerdo con las diferentes

circunstancias ambientales (Risenhoover y Bailey, 1988).

En algunos estudios se ha registrado la proporción de sexos de algunos ungulados silvestres. En uno de ellos Hoefs y Cowan en 1979 al igual que Nichols en 1978 y Woodgerd en 1964 asumen que la proporción de sexos en el borrego silvestre es igual o semejante al de la cabra de montaña. Sin embargo, Houston y Stevens en 1988, encontraron una proporción de sexos en la cabra de montaña (*Oreamnus americanus*) de 0.65:1.00 (macho:hembra). Y Nichols en 1978 en el borrego Dall's encontró una proporción de 1.00:1.00 (macho:hembra). En otro estudio Cowan y Hoefs en 1979 examinaron 23 fetos resultando una proporción de 1.30:1.00 (macho:hembra).

En cambio, en el borrego mufflon (*Ovis ammon musimon*), pequeño borrego silvestre que esta siendo introducido en algunas áreas de Europa central, Briedermann (1992) estudio su estado reproductivo en el este de Alemania encontrando que la proporción de sexos (macho:hembra) en fetos (1.09:1.00) no difiere significativamente de los que nacen, pero las hembras jóvenes de 1 a 4 años producen solo 34.6% de machos, mientras que la proporción en las hembras viejas entre los 5 y 9 años es constante. Briedermann documenta que en los años posteriores a la introducción de los organismos entre 1982 a 1987, nacieron 48 individuos de los cuales dominaban las hembras (0.78:1.00). Después la capacidad del rango es alcanzada y la medida de la población se estabilizó entre 1988 y 1990, naciendo 49 corderos y teniendo una proporción de sexos de 1.45:1.00. Los

resultados de estos estudios de alguna manera son semejantes, pero no iguales, a los encontrados en el borrego cimarrón, salvo que aquí no se han realizados estudios en fetos, por otra parte los datos obtenidos en el borrego mufflon (*Ovis ammon musimon*) si son muy parecidos a los del presente estudio, teniendo en cuenta que son una especie emparentada, sobre todo por las características de las hembras, debido a que se encontró que la mayoría de las excretas analizadas fueron de tamaño grande y mediano (255), lo que indica que son de organismos adultas y por lo tanto reproductivas, las cuales podrían estar pariendo más machos que hembras, mientras que del tamaño chico sólo se encontraron 39 hembras, lo que nos lleva a una proporción de sexos que favorece a los machos. Quedando claro que no siempre se presentan estas mismas características entre los organismos de una misma familia, raza o especie, ya que las condiciones de hábitat de las poblaciones del borrego en Norteamérica son muy diferentes, presentándose desde regiones muy frías con hielo hasta desiertos con poca agua.

Presencia de embarazo y época de nacimientos

De 245 muestras analizadas en las hembras encontradas (sin tomar en cuenta a las corderas o de tamaño de excreta chico), tenemos que para otoño- invierno se presentan 65 hembras con progesterona, 19 con estradiol y 16 con cantidades semejantes de las dos hormonas, para primavera-verano fueron 23 con progesterona, 63 con estradiol y 59 con cantidades semejantes. Por abajo de los 1500 mts se encontraron 57 con progesterona, 17 con estradiol y 13 con cantidades semejantes, por arriba de los 1500 hasta los 2800 mts fueron 31 con progesterona, 65 con estradiol y 62 con cantidades semejantes. De acuerdo con lo anterior, y basándonos en los resultados obtenidos del tamaño de las excretas relacionadas con los meses de recolecta y la altura, se puede apreciar que entre las excretas grandes y medianas las diferencias no son muchas en los niveles de estradiol y progesterona, lo cual puede estar indicando la presencia de hembras receptivas (o en celo) al igual que hembras preñadas. Lo cual sugiere que hay reproducción la mayor parte del año.

Si se considera el tiempo de gestación (180 días), entonces las concentraciones de hormonas indican que muy probablemente se estén presentando dos picos de nacimientos al año quedando separados los periodos de gestación entre un grupo de hembras y otro, teniendo en cuenta que no todas las hembras son receptivas ya que se presentan desde corderas, jóvenes y adultas. Nuestros resultados se asemejan a los encontrados en un estudio hecho por Bon *et al* en 1993, en el cual ellos

estimaron el periodo de nacimientos en la hembra mouflon (*Ovis gmelini*) al sur de Francia, observando que el primer nacimiento se presento el 30 de marzo y el último durante la primera semana de junio, durando el periodo de nacimientos cerca de 9 semanas. Ellos distinguieron dos periodos de nacimientos, presentándose el primero a principios de abril hasta mediados de mayo, que es cuando ocurren casi todas los nacimientos, y el segundo se presenta a finales de mayo y todo junio, en las hembras que se reproducen a finales del otoño. Encontrando que las hembras mayores de dos años y medio de edad entran en celo desde finales de octubre hasta principios de enero, y las hembras de un año y medio desde la primera semana de noviembre hasta la tercera semana de diciembre. Concluyeron que el periodo de reproducción depende de la edad de la hembra. Los resultados del anterior estudio son similares a los encontrados en el presente estudio, dado el hecho de que se presentan dos épocas de nacimientos y una temporada larga de celo. Aunque en estas dos épocas hay una ligera variación, en los dos estudios, en cuanto al tiempo en el cual se presentan, las características del ambiente parecen favorecer a las dos poblaciones. Por otra parte, también se detectó que las hembras y los corderos aparecen más a medida que aumenta la altura, hecho que se atribuye a las características del lugar, en donde encuentran mas áreas óptimas como refugio, esto mismo es sustentado por Geist en 1971, el cual dice que la sobrevivencia de los corderos depende de la calidad de la hábitat.

En un estudio realizado por Bunnell en 1982 y por Festa-Bianchet en

1988, ellos llegaron a la conclusión de que la iniciación del periodo de partos en los borregos de América del Norte (*Ovis sp.*) es retrasada y sincronizada a medida que aumenta la latitud. Y que las poblaciones que se encuentran en latitudes menores no sufren inviernos difíciles o estrecho crecimiento estacional, al contrario, tienen una buena selección de la temporada de parir. En el área de estudio se encontró que la población de *Ovis canadensis cremnobates* presenta dos picos de nacimientos, el ya comúnmente registrado entre febrero y abril y el detectado entre julio y septiembre, esto probablemente este dado porque el hecho de encontrarse en el extremo sureño de la distribución de la especie, como se menciono anteriormente, así como también por el hecho de que en la Sierra San Pedro Mártir los borregos encuentran un hábitat de alta calidad y condiciones ambientales menos estresantes que las que se encuentran en las poblaciones de esta especie en áreas más norteñas y por lo tanto esto permite a la población estudiada tener una mayor actividad reproductiva durante el año. Así mismo las características de esta región permiten que la reproducción de esta población de borrego cimarrón sea exitosa al haber intercambio y flujo genético entre los individuos aún en la época de invierno, dicho argumento es sustentado por Bronson en 1989, el cual afirma que la conducta de celo generalmente es estimulada por el frío, pero se inhibe con las altas temperaturas.

El reflejo de estos resultados demuestran la utilidad y aplicación de los inmunoensayos, por medio de heces fecales, para la determinación de

las diferentes etapas reproductivas en los organismos silvestres, lo cual va a proporcionar valiosa información que se podrá usar para tener mejores herramientas en el manejo y conservación de las especies, tal como lo han venido desarrollando en los estudios con las poblaciones de California, en Estados Unidos, en uno de ellos Borjesson y colaboradores en 1996, determinaron el estado de preñez en hembras adultas durante todo 1992, por medio de esta técnica, encontrando que menos del 85 % de las hembras analizadas resultaron preñadas. Lo cual nos aporta mucha más información que en un momento dado pueden servir de antecedentes para posteriores estudios que nos llevaran a conocer más detalladamente lo que sucede en las diferentes poblaciones de borrego cimarrón.

Temporada reproductiva

Según la literatura y algunos investigadores, la subespecie de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en Baja California, de manera general, se reproduce una vez al año en las diferentes sierras de la región, apareándose entre septiembre y noviembre, naciendo los corderitos entre febrero y abril, cuando empieza el crecimiento vegetativo el cual proporciona la cantidad de nutrientes necesarios para el éxito del parto y la lactancia. Se supone que las manadas de estos organismos se desplazan hacia los lugares más cálidos (huyendo de la nieve) durante el invierno, bajando desde los pinos en la parte del observatorio hacia los cañones por el lado del desierto. Así mismo, también se tiene reportado que las hembras cuando van a parir buscan los lugares más óptimos como refugio, el cual los proteja de los depredadores y el frío. Sin embargo, durante el trabajo de campo en este estudio, se encontraron excretas muy chicas en la nieve durante el invierno a los 2700 mts (diciembre de 1997) lo cual es indicativo de la posible presencia de corderitos. Por otro lado, los ejidatarios y personas aledañas al área de estudio también nos indicaron que ellos han observado corderitos entre las manadas al final del verano y durante el otoño (1998). Así mismo, durante el trabajo de captura de borrego cimarrón en esta misma área de estudio (durante noviembre de 1999) realizado por Jim DeForge y el Dr. Roberto Martínez, se detectó la presencia de un corderito con su madre, teniendo entre 3 y 4 meses de edad aproximadamente. Estos datos, relacionados con los obtenidos en este

estudio nos indican que se presentan organismos reproductivos la mayor parte del año en la sierra San Pedro Mártir llegando a presentar dos periodos de nacimientos.

Los expertos en la reproducción de los animales han documentado que la mayoría de las especies silvestres tienen una estación de apareamiento que se inicia cuando el medio permite una mejor sobrevivencia de los neonatos, estos patrones se han desarrollado a través de la selección natural de muchas generaciones. Los patrones de reproducción estacional van desde especies que tienen un periodo estrual al año (monoestro) a especies que tienen una serie de ciclos estruales, como lo es el borrego cimarrón, limitados a una época del año (poliestros estacionales) (Bearden, 1982). De igual manera Bearden en 1982 y Hafez en 1996 documentan que el apareamiento se limita al tiempo del estro, en el que coincide con la ovulación y que la duración del estro depende de la especie y varía ligeramente de una hembra a otra de la misma especie, la duración del estro y el momento de la ovulación también varían de acuerdo con factores internos y externos.

Dadas estas características y los resultados obtenidos en los cuales se presentan elevaciones de los niveles de estradiol y testosterona durante la mayor parte de año, tenemos que esta población de borrego cimarrón no sólo se aparea durante una época del año, si no que se sincroniza de tal manera que cuando unas hembras acaban de parir las otras hembras empiezan a entrar en celo y a aparearse. Estos datos se confirman con los

que obtuvieron Lincon y Short en 1980, encontrando un aumento de los niveles de testosterona en sangre en borregos, durante el verano, como resultado de la preparación de los organismos para el celo; periodo que esta muy estrechamente relacionado con el estado nutricional, peso corporal, y las concentraciones periféricas de testosterona, estradiol y progesterona. Los resultados encontrados podrían estar indicando la presencia de un cambio en las poblaciones de borrego, en las sierras de Baja California, cambio que consiste en desarrollar mayores estrategias de sobrevivencia, lo cual lleva a modificar tanto sus hábitos reproductivos como sociales. Este cambio puede ser debido a las presiones que ejercen los diferentes factores ambientales así como también los generados por el ser humano, dichas presiones obligan a los borregos a adecuarse a sus nuevas circunstancias.

Un ejemplo de cómo se afecta o se propician cambios en la estructura social así como también en la actividad reproductiva de la población de borrego cimarrón lo representa la cacería ya que lo que provoca, al ejercerse una remoción de los machos adultos con las mejores características reproductivas (o individuos con mayor vigor genético), por ejemplo mayor talla corporal, cornamenta bien desarrollada, mayor habilidad de combate, etc. que son los individuos predominantemente reproductivos, es que los machos se reproduzcan a edades más tempranas, es decir sin que aún alcancen su máxima expresión en las características reproductivas, lo que también lleva a modificar sus hábitos sociales permitiendo con ello la integración de los individuos más jóvenes en el

cortejo reproductivo.

CONCLUSIONES

- ◆ Los inmunoensayos son de fácil aplicación y proporcionan una útil alternativa para estimar la proporción de individuos y tasa reproductiva de una población silvestre en estudio.
- ◆ Se logró estimar la proporción de sexos del borrego cimarrón, siendo 311:294 (macho:hembra) teniendo 1.05 macho por hembra.
- ◆ Se logró establecer la dinámica reproductiva de la población en estudio.
- ◆ Se detectaron organismos reproductivos durante la mayor parte del año en la sierra San Pedro Mártir.
- ◆ En altitudes por arriba de los 1500 mts es donde se presenta una mayor actividad reproductiva a lo largo del año del borrego cimarrón en la sierra San Pedro Mártir.
- ◆ El método utilizado en el presente trabajo, es una herramienta básica y sistemática que permite obtener resultados que pueden ser comparados con otros, en los lugares donde se aplique este método.
- ◆ La utilización de las evidencias indirectas (en este caso excretas), es una alternativa para evaluar el estado reproductivo del borrego cimarrón así como de otras especies de importancia cinegética.

RECOMENDACIONES

- ◆ Es de suma importancia que se realicen más estudios sobre la biología de las poblaciones silvestres, ya que éstos son la base para la aplicación en el manejo y su conservación.
- ◆ La información generada sobre la biología del borrego cimarrón debe de ser comparada entre las diferentes poblaciones o sierras, para obtener un estudio sistemático y poderlo aplicar adecuadamente en su manejo.
- ◆ La aplicación de los inmunoensayos (método de ELISA) deben de ser considerados en los estudios de las especies silvestres en la región.

LITERATURA CITADA

- .- Aguilar, R. J. 1991. La Interesante Historia del Borrego Cimarrón en Baja California, Revista de Divulgación Científica, volumen 2, Facultad de Ciencias, Ensenada Baja California México, 3-7 pp.
- .- Alexander, G. 1974. Birth Weight of Lambs : Influences and Consequenses. Pp. 215-245, in Ciba Foundation Simposiums on Size at Birth (K. Elliot and J. Knight). Associated Scientific Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 27:1-408 pp.
- .- Argote, D. L. 1991. El plutón de San Pedro Mártir: Una Visita Geológica. División de Ciencias de la Tierra, CICESE. Memoria de la III Semana de la Exploración y la Historia. Sierra de San Pedro Mártir, 25 pp.
- .- Auvray, F. 1983. Recherche Sur l'ecoethologie du Mouflon (*Ovis ammon musimon* Schreber, 1782) Dans Le Massif Du Caroux-Espinouse (Herault) En Vue De Deffinir De Nouveaux Sitúes D'accueil. Theses De Doctoras De 3 Cycle, Universite Des Sciences et Techniques Du Languedoc, Montpellier, France, 567 pp.
- .- Ayala, S; E. Galindo; R. Martínez. Análisis del tamaño de excretas como un método para la evaluación de la distribución espacial del borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en la sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. En prensa.
- .- Bearden, H. J. 1982. Reproducción Animal Aplicada. Editorial El Manual Moderno. México, D. F. 50-61 pp.
- .- Berger, J. 1978. Social Development and Reproductive Strategies in Bighorn Sheep. Ph. D. Diss; University of Colorado, Boulder (British Columbia, California, and Oregon), 134 pp.
- .-..... 1979. Weaning Conflict in Desert and Mountain Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*): An Ecological Interpretation. Zeitschrift Fur Tierpsychologie, 50:188-200 pp.
- .-..... 1982. Female Mating Age and Lamb Survival in Desert Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*). Mammalia, (Arizona, California, Nevada, and Utah), 46:183-190 pp.
- .- Blood, D. A; D. R. Flook and W. D. Wishart. 1970. Weights and Growth of Rocky Mountain Bighorn Sheep in Western Alberta. J. Wildl. Mgmt, 34:451-455 pp.

Blunt, F. M; H. A. Dawson and E. T. Thorne. 1977, citado por Shackleton, 1984. Birth Weights and Gestation in a Captive Rocky Mountain Bighorn Sheep. *J. Mamm*, 58:106 pp.

Bon, R; M. Dardaillon and I. Estevez. 1993. Mating and Lambing Periods As Related to Age of Female Mouflon. *Journal of Mammalogy*, 74(3):752-757 pp.

Borjesson, D. L; W. M. Boyce; I. A. Gardner; J. R. DeForge and B. Lasley. 1996. Pregnancy Detection in Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*) Using a Fecal- based Enzyme Immunoassay. *Journal of Wildlife Diseases*, 32:67-74 pp.

Briedermann, L. 1992. Ergebnisse Von Untersuchungen Zur Reproduktion des Mufflon (*Ovis ammon musimon*). *Zeitschrift fur Jagdwissenschaft*, 38:16-25 pp.

Bronson, F. H. 1989. MAMMALIAN Reproductive Biology, University of Chicago, United States of America, 114-120 pp.

Brown, J. L; S. K. Wasser; D. E. Wildt and L. H. Graham. 1994. Comparative Aspects of Steroid Hormone Metabolism and Ovarian Activity an Felids, Measured Non-invasively in Feces. *Biol. Reprod*; 51:776-786 pp.

Buechner, H. K. 1974. Implications of Social Behavior in the Management of Uganda Kob. Pp. 853-870, *in* The Behavior of Ungulates and its Relation to Management (V. Geist and F. Walther, eds.). IUCN, Publ. new series, N.24, Morges, Switzerland, 2:512-940 pp.

Bunch, T. D; J. Karpowitz; J. Connor; G. W. Workman. 1986. Pregnancy Diagnosis in Free Rancing Nelson's Desert Bighorn Ewes. *Desert Bighorn Council Transactions*.

Bunnell, F. L. 1980. Factors Controlling Lambing Period of Dall's Sheep. *Canadian Journal of Zoology*, 58:1027-1031 pp.

----- . 1982. The Lambing Period of Mountain Sheep : Hypotheses, and Tests. *Canadian Journal of Zoology*, 60:1-14 pp.

Coblentz, B. E. 1980. A Unique Ungulate Breeding Pattern. *J. Wildl. Mgmt*; 44:929-933 pp.

Clutton-Brock, T. H; F. E. Guinness and S. D. Albon. 1982. Red Deer : Behavior and Ecology of Two Sexes. University Chicago Press, 378 pp.

Clutton-Brock, T. H and S. D. Albon. 1982. Parental Investment in Male and Female Offspring in Mammals. Pp. 223-247, *in* Current Problems in Sociobiology (King's College Sociobiology Group, ed.). Cambridge University Press, United Kingdom, 349 pp.

Clutton-Brock, T. H and E. R. Iason. 1986. Sex Ratio Variation in Mammals. *The Quarterly Review of Biology*, 61:339-374 pp.

Cugnasse, J. M; M. García and T. Veyrac. 1985. Contribution a L'étude De La Biologie De La Reproduction Du Mouflon (*Ovis ammon musimon*), Par Examens Post-Mortem, Dans LE Massif DU Caroux-Espinouse. *Bulletin Mensuel De L'Office National De La Chasse*, 89:33-35 pp.

De Forge, J. R; S. Ostermann; D. Towell; P. Cyrog and E. Barrett. 1992. Helicopter Survey of Peninsular Bighorn Sheep in Northern Baja California. *Desert Bighorn Council Transactions*, 37:24-28 pp.

De Forge, J. R; E. M. Barrett; S. D. Ostermann; M. C. Jorgensen and S. G. Torres. 1995. Population Dynamics of Peninsular Bighorn Sheep in the Santa Rosa Mountains, California, 1983-1994. *Desert Bighorn Council Transactions*, 39:50-67 pp.

Deming, O. V. 1963. Bighorn Breeding. *Trans. Desert Bighorn Council*, 7:92-113 pp.

Escoto, R. M. 1994. Balance del Agua del Suelo en Tres Sitios de Estudio en la Sierra de San Pedro Mártir, Baja California. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Campus Ensenada. Universidad Autónoma de Baja California, México, 96 pp.

Estes, R. D. 1976. The Significance of Breeding Synchron in the Wildebeest. *East African Wildlife Journal*, 14:135-152 pp.

Festa-Bianchet, M. 1988a. Age-Specific Reproduction of Bighorn Ewes in Alberta, Canada. *Journal of Mammalogy*, 69:157-160 pp.

----- . 1988b. Birthdate and Survival in Bighorn Lambs (*Ovis canadensis*). *Journal of Zoology (London)*, 214:653-661 pp.

Flowerdew, J. R. 1987. *Mammals, Their Reproductive Biology and Population Ecology*. Edward Arnold, Baltimore, Maryland, 241 pp.

Gastil, R. G; R. P. Phillips and E. C. Allison. 1975. *Reconnaissance Geology of the State of Baja California*. The Geological Society of America,

Inc. Memoir, 140 pp.

📖.- Geist. V. 1971. Mountain Sheep : A Study in Behavior and Evolution. The University of Chicago Press, United States of America, 384:107-130 pp.

📖.-------. 1974. On The Relationship of Ecology and Behaviour in The Evolution of Ungulates : Theoretical Considerations. Pp 235-246, *in* The Behavior of Ungulates and its Relation to Management (V. Geist and F. Walther, eds.). IUCN, Publ. New Ser; N24, Morges, Switzerland, 1:1-511 pp.

📖.- Gerardo A. A. 1993. Composición Sistemática y Ecológica de la Ornitofauna del habitat del Noroeste de Baja California, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Campus Ensenada. Universidad Autónoma de Baja California, 74 pp.

📖.- Hafez, E. S. E. 1996. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Editorial McGraw-Hill Interamericana, 6ta edición. México, D. F. Capítulos: 3, 4, 9, 10 y 15.

📖.- Hall, R. E. 1981. The Mammals of North America. 2da edición. A Wiley Interscience Publication. New York. Vol I y II. 1175 pp.

📖.- Hansen, C. G. 1967. Bighorn Sheep Populations of The Desert Game Range. J. Wildl. Mgmt; 31:693-706 pp.

📖.- Hass, C. 1997. Seasonality of Births in Bighorn Sheep. Journal of Mammalogy, 78(4): 1251-1260 pp.

📖.- Hoefs, M and I. M. Cowan. 1979. Ecological Investigation of a Population of Dall Sheep. Syesis, 12 (Supl. 1):1-81 pp.

📖.- Hogg, J. T. 1984. Mating in Bighorn Sheep : Múltiple Creative Strategies. Science, 225: 526-529 pp.

📖.-------. 1987. Intrasexual Competitivos and Matechoice in Rocky Mountain Bighorn Sheep. Ethology, 75:119-144 pp.

📖.- Houston, D. B and V. Stevens. 1988. Resource Limitation in Mountain Goats: a Test by Experimental Cropping. Canadian Journal of Zoology, 66:228-238 pp.

📖.- James, A and T. N. Bailey. 1984. Principles of Wildlife Management. United States of America, 143-154 pp.

📖.- Jorgenson, J. T and W. D. Wishart. 1984. Growth Rates of Rocky

▣.- Jorgenson, J. T and W. D. Wishart. 1984. Growth Rates of Rocky Mountain Bighorn Sheep on Ram Mountain, Alberta. Proc. Northern Wild Sheep and Goat Council, 4, 270-284 pp.

▣.- Leopold, A. 1977. Fauna Silvestre de México. Segunda edición .Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables, editorial Pax-México, México, D.F, 598 pp.

▣.- Lenarz, M. 1979. Social Structure and Reproductive Strategy in Desert Bighorn Sheep (*Ovis canadensis mexicana*). Journal of Mammalogy, 60(4):671-678 pp.

▣.- Leslie, D. M and C. L. Douglas. 1979. Desert Bighorn Sheep of The River Mountains, Nevada. Wildlife Monographs, 66:1-56 pp.

▣.- Lincoln, G. A and R. V. Short. 1980. Seasonal Breeding: Natures Contraceptive. REC. Prog. Horm. Res, 36:1-52 pp.

▣.- López, G; G. C. Ruiz and M. R. Meraz. 1995. Population Density of Desert Bighorn in Northrn Baja California, México (Cañadas Arroyo Grande and Jaquejel). Desert Bighorn Council Transactions, 39:42-49 pp.

▣.- Loskutoff, N. M; J. E. Ott and B. L. Lasley. 1983. Strategies for Assessing Ovarian Function in Exotic Species. Journal of Zoo Animal Medicine 14:3-12 pp.

▣.- Millar, J. S. 1977. Adaptive Features of Mammalian Reproduction. Evolution, 31:370-386 pp.

▣.- Minnich, R. A; y E. Franco-Vizcaíno. 1999. Protección de la Vegetación y los Regímenes de Incendios de la Sierra de San Pedro Mártir en Baja California. Fremontia. Revista de la Sociedad de las Plantas Nativas de Baja California. Edición Especial, 29 pp.

▣.- Mitchell, B and G. A. Lincoln. 1973. Conception Dates in Relation to Age and Condition in Two Populations of Red Deer in Scotland. J. Zool; 171:141-152 pp.

▣.- Montoya, M. 1998. Evaluación del Hábitat del Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates* Elliot, 1903) con Fines de Manejo en la Sierra San Pedro Mártir, Baja California- México. Tesis de licenciatura. Campus Ensenada. Universidad Autónoma de Baja California, 18,21,22 pp.

- Monfort, S. L; C. C. Schwartz and S. K. Wasser. 1993. Monitoring Reproduction in Captive Moose Using Urinary and Fecal Steroid Metabolites. *Journal of Wildlife Management*, 57:400-407 pp.
- Morrison, M. V; Davis, S. L and Spicer, L. J. 1981. Age-associated Changes in Secretory Patterns of Growth Hormone, Prolactin, and Thyrotropin the Hormonal Responses to Thyrotropin-releasing Hormone in Rams. *Journal Anim. Sci.*;53:160-170 pp.
- Nichols, I. 1978. Dall Sheep Reproduction. *J. Wildl. Mgmt*; 42:570-580 pp.
- Oftedal, O. T. 1985. Pregnancy and Lactation. Pp 215-238, in *Bioenergetics of wild herbivores* (R. J. Hudson and R. G. White, eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, 314 pp.
- Ozaga, J. J and L. J. Verme. 1986. Initial and Subsequent Maternal Success of Whiteth-Tailed Deer. *The Journal of Wildlife Management*, 50:122-124 pp.
- Reyes, C. S y J. García. 1991. Climatología de Baja California: Sierra de San Pedro Mártir. Grupo de Meteorología. CICESE. Memorias de la III Semana de la Exploración y la Historia, 29 pp.
- Risenhoover, K. L and J. A. Bailey. 1988. Growth Rates and Birthing Period of Bighorn Sheep in Low Elevation Environments in Colorado. *Journal of Mammalogy*, 69:592-597 pp.
- Rodriguez M. M. 1991. Las Aves de la Sierra San Pedro Mártir, Baja California. Memorias de la III Semana de la exploración y la Historia, 41, 44 pp.
- Ruiz-Campos, G. 1991. Caracterización Limnológica de los Arroyos de la Sierra San Pedro Mártir, como Hábitats de la Trucha Endémica *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (Evermann). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Baja California. Memorias de la III Semana de la Exploración y la Historia, 39, 40 pp.
- Rutberg, A. T. 1987. Adaptive Hypotheses of Birth Synchrony in Ruminants : An Interspecific Test. *The American Naturalist*, 130:692-710 pp.
- Sadler, R. M. F. S. 1969. The Ecology of Reproduction in Wild and Domestic Mammals. Methuen Co; Ltd; London, 321 pp.
- Shackleton, D. M; R. G. Peterson; J. Haywood and A. Bottrell. 1984.

Period of Gestation of *Ovis canadensis*. Department of Animal Sciences. Journal of Mammalogy, 65:337-338 pp.

■.- Shideler, S. E; C. J. Munro, L. Tell; G. Owitt; L. Laughlin; R. Chatterton and B. L. Lasley. 1990. The Relationship of Serum Estradiol and Progesterone Concentrations to the Enzyme Immunoassay Measurements of Urinary Estrone Conjugates and Immunoreactive Pregnanediol-3-glucuronide in *Macaca mulatta*. American Journal of Primatology, 22:113-122 pp.

■.- Shideler, S. E; A. Savage; A. M. Ortuno; E. A. Moorman and B. L. Lasley. 1994. Monitoring Female Reproductive Function of Fecal Estrogen and Progesterone Metabolites in the White-faced Saki (*Pithecia pithecia*). American Journal of Primatology, 32:95-108 pp.

■.- Sosa, R. J. 1991. Los Bosques de la Sierra de San Pedro Mártir. CICESE. Memoria de la III Semana de la Exploración y la Historia. San Pedro Mártir, 34 pp.

■.- Thompson, R. W and J. C. Turner. 1982. Temporal Geographic Variation in The Lambing Season of Bighorn Sheep. Canadian Journal of Zoology, 60:1781-1793 pp.

■.- Turner, J. C; and C.C. Hansen. 1980, citado por Shackleton, 1984. Reproduction. Pp 145-151, in the Desert Bighorn; its Life History, Ecology and Management (G. Monson and L. Summer, eds). Univ. Arizona Press, Tucson, 370 pp.

■.- Vaughan.T. A. 1988. Mamíferos, editorial interamericana tercera edición, México, D.F. 431, 435, 443, 444, 446 pp.

■.- Verme, J. J. 1985. Birth Weights of Fawns From Doe Fawn White-Tailed Deer. J. Wildl. Mgmt, 49:962-963 pp.

■.- Wasser, S. K; A. D. L. Velloso and M. D. Rodden. 1995. Using Fecal Steroids to Evaluate Reproductive Function in Female Maned Wolves. Journal of Wildlife Management, 59:889-894 pp.

■.- Wasser, S. K. 1996. Reproductive Control in Wild Baboons Measured by Fecal Steroids. Biology of Reproduction. Vol. 55. N 2, 393-399 pp.

■.- Watson, R. H and H. M. Radford. 1960. The Influence of Rams on the Onset of Oestrus in Merino Ewes in the Spring. Australian. J. Agric. Res; 8:460-470 pp.

■.- Welsh, H. H. Jr. 1988. An Ecogeographic Analysis of the Herpetofauna of the Sierra San Pedro Mártir Region, Baja California, with a Contribution to

▣.- Woodgerd, W. 1964. Population Dynamics of Bighorn Sheep on Wildhorse Island. J. Wild. Mgmt; 28:381-391 pp.

ANEXO 1. PREPARACION DE LAS SOLUCIONES UTILIZADAS EN EL ENSAYO.

Las soluciones se fueron preparando de acuerdo con la cantidad que se requería para cada número de análisis.

✓ PARA EL ESTANDAR DE LAS HORMONAS.

Estradiol y progesterona.

100mg-----0.1grs-----1ml
1mg-----X = 0.001grs en 1ml de Cl/M.

Testosterona.

250mg-----1ml testosterona
50mg-----X = 0.2ml=200 microlitros de testosterona en 1ml de Cl/M.

La dilución de los estándares y los anticuerpos (E, P, T) se realizaron comenzando con 50 microlitros (μ l) de cada uno o más 50 μ l de PBS, y se fueron agregando de pozo en pozo de la siguiente manera :

1/2 (50 μ l de Ag ó Ab más 50 μ l de PBS) $\Rightarrow$ 1/4 (50 μ l + 50 μ l de PBS) $\Rightarrow$ 1/8 (50 μ l + 50 μ l de PBS) $\Rightarrow$ 1/16 (50 μ l + 50 μ l de PBS) $\Rightarrow$ 1/32 (50 μ l + 50 μ l de PBS) $\Rightarrow$ 1/64 (50 μ l + 50 μ l de PBS) $\Rightarrow$ 1/128 (50 μ l + 50 μ l de PBS) $\Rightarrow$ 1/256 (50 μ l + 50 μ l de PBS).

Para la dilución del segundo anticuerpo (IgG anti-conejo conjugado con fosfatasa alcalina diluida 1000 veces).

5 μ l de Ab + 45 μ l de PBS = 50 μ l de 1:10
10 veces 5 μ l de los 50 μ l + 450 μ l de PBS = 500 μ l de 1:100
100 veces 5 μ l de los 500 μ l + 4500 μ l de PBS = 5000 μ l de 1:1000

✓ PBS 0.01M fosfato de sodio (buffer) PH 7.2

-0.9% NaCl-----0.9% = 1000ml-----1 lt = 9grs
-Na₂HPO₄ (básica)
-NaH₂PO₄ (ácida)

Para 1 litro = 1.42 gr. de solución básica
Para 1 litro = 1.38 gr. de solución ácida
y .9 gr. de NaCl para cada una.

La solución básica se ajusto a un PH de 7.2 con la solución ácida, y ya una

vez obtenido se le agrego 0.875ml de Tween 20, ya que aumento el volumen a un total de 1250ml con el ajuste del PH. Finalmente se le agregaron 10 gotas de cloroformo para que la solución no se contaminara y durara por más tiempo.

CALCULOS :

Solución básica

Peso molecular =142.0-----1N
 $\frac{1,42 \text{ grs}}{142.0} = X \text{-----} 0.01$ para 1 litro.

Solución ácida

Peso molecular =138.0-----1N
 $\frac{1.38 \text{ grs}}{138.0} = X \text{-----} 0.01$ para 1 litro.

√ TWEEN 0.05% en PBS

70%-----0.05 saturación de la solución Tween

70%-----100

0.05%-----X = 0.07ml

0.07ml de Tween-----100ml de solución

$\frac{0.7}{100} = X \text{-----} 1000\text{ml}$

1000ml de solución-----0.7ml de Tween

1250ml de solución-----X = 0.875ml

√ BUFFER DE DIETALONAMINA.

-10% de dietalonamina (9.7ml) o 10 gr.

-0.02% NaN₃ para que no se contamine la solución =0.02 gr.

-0.5 milimolar (mM) de MgCl₂.6H₂O.

- Agua destilada.

Se ajusta el PH a 9.8 con HCl.

CALCULOS :

Peso molecular de MgCl =203.30

203.30 gr.-----1 litro-----1000 mM (1M)

$\frac{0.10\text{grs}}{203.30} = X \text{-----} 0.5\text{mM}$

0.10 gr.-----1000 ml

0.01grs =X-----100 ml

✓ **SOLUCION DE SUSTRATO (P-nitrofenilfosfatasa).**

Una tableta de 5mg disuelta en 5 ml de buffer de dietalonamina.

✓ **SOLUCION PARA DETENER LA REACCION.**

NaoH 3M

Peso molecular =40.00

Para 300 ml

PM gr. (vol. Lt)=gr./Lt (M)=gr.

40.0 gr. (0.3 Lt)=12 gr./Lt (3M)=36 gr.

✓ **SOLUCION PARA RESUSPENDER LAS MUESTRAS UNA VEZ EVAPORADAS.**

-Cloroformo/Metanol 2:1

para 60 ml son :

40 ml de cloroformo y 20 ml de metanol.

CALCULOS :

Para 60 ml-----40 ml de cloroformo

250 ml----X =166.66 ml

Para 60 ml-----20 ml de metanol

250 ml----X =83.3 ml

Con todas la pruebas y cambios que se presentaron se opto por utilizar los anticuerpos a las diluciones de 1/128, ya que como se comprobó es viable, dado que los valores que se obtuvieron en las lecturas son altas comparadas con el estándar, además de que se realizaron algunos cálculos de cuanto se gastaría de anticuerpo de acuerdo a la dilución utilizada, siendo los siguientes :

Para la dilución de 1/32 partiendo de 50µl se obtienen 1600µl, los cuales alcanzarían para 3.2 pruebas, ya que para cada prueba se ocupan 500µl (50µl en 10 pozos), por lo tanto :

50µl-----1600µl

1000µl =1ml (1 frasco)-----X =32,000µl

y en 3 frascos serían 96,000µl

-y si para

1000 μ l = 1ml (1 frasco)-----X = 32,000 μ l
y en 3 frascos serían 96,000 μ l

-y si para

1600 μ l-----3.2 pruebas
32,000 μ l-----X = 64 pruebas

y dado que son alrededor de 740 pruebas en total
32,000 μ l-----64 pruebas
96,000 μ l-----X = 192 pruebas

por lo que para las 740 pruebas se utilizaría en total :

96,000 μ l-----192 pruebas
370,000 μ l = X-----740 pruebas

lo cual equivaldría a casi 13 frascos de anticuerpos

1000 μ l = 1ml-----32,000 μ l
11562.5ml = X-----370,000 μ l

A la dilución de 1/64 :

500 μ l-----1 prueba
3200 μ l-----X = 6.4 pruebas

50 μ -----3200 μ l
1000 μ l-----X = 64,000 μ l

que en tres frascos serían : 192,000 μ l

3200 μ l-----6.4 pruebas
64,000 μ l-----X = 128 pruebas

64,000 μ l-----128 pruebas
192,000 μ l-----X = 384 pruebas con 3 frascos de anticuerpo.

Para la dilución de 1/128 :

500 μ l-----1 prueba
6,400 μ l-----X = 12.8 pruebas

50 μ l-----6,400 μ l
1000 μ l-----X = 128,000 μ