

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DEL MOMENTO DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON SEMEN
REFRIGERADO SOBRE LA FERTILIDAD EN CABRAS ANOVULATORIAS
TRATADAS CON PROGESTERONA INYECTABLE Y hCG

Tesis

Que presenta ARIADNA VANESSA ALVARADO ESPINO

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

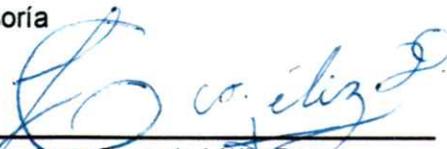
Torreón, Coahuila

Julio 2020

EFFECTO DEL MOMENTO DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON SEMEN
REFRIGERADO SOBRE LA FERTILIDAD EN CABRAS ANOVULATORIAS
TRATADAS CON PROGESTERONA INYECTABLE Y hCG

Tesis

Elaborada por ARIADNA VANESSA ALVARADO ESPINO como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras
Asesor Principal



Dra. Ma. De Los Angeles de Santiago
Miramontes
Asesor



M.C. Gerardo Arellano Rodríguez
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Jefe de Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

Dios, gracias por darme vida y permitirme llegar a esta etapa tan maravillosa para mí.

A **mis padres y hermanos**, su apoyo ha sido fundamental en mi vida.

Al **Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras**, mi asesor principal y maestro, quien siempre me ha brindado sus conocimientos, su apoyo y su confianza. Le estoy profundamente agradecida por todo.

A la **Dra. Angeles De Santiago Miramontes** y al **M.C. Gerardo Arellano Rodríguez**, por su disponibilidad como mis asesores.

A La **Dra. Leticia Gaytán Alemán**, por su humildad, por la confianza y por el apoyo que siempre me brindo en el posgrado y como mi asesora.

Al **Dr. Fernando Arellano Rodríguez**, por siempre tener disponibilidad para asesorarme en mi investigación, así como también apoyarme en mi experimento.

Al **Dr. Alan Sebastian Alvarado Espino**, no tengo palabras para agradecerle el gran apoyo en todo momento, gracias por la confianza y por todos los conocimientos que me han ayudado a reforzar mi formación.

A la **Dra. Viridiana Contreras Villareal** y a la **M.C. Julieta Ordoñez Morales**, por otorgarme la confianza durante mi periodo como estudiante de maestría.

A la **Sra. Aurelia Nájera**, secretaria del posgrado, por el apoyo brindado hacia mi persona en todo momento.

A mis compañeros del posgrado, gracias por hacer más amena mi estancia y brindarme su amistad.

Agradezco a **CONACYT**, el apoyo financiero del **Fondo Sectorial de Investigación en Materias Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Fitogenéticos: 2017-4-291691**, el cual contribuyó de gran manera a la generación de la mayor parte de la información presentada en este documento.

Gracias

DEDICATORIAS

Dios, gracias porque nunca me sueltas de tu mano y siempre me guías por el camino correcto.

A mis padres, **Rosa María Espino Lozano** y **Pedro Alvarado Espino**, siempre me han enseñado a creer en mí y me han hecho saber que soy capaz de lograr todo lo que me proponga. Gracias por apoyarme siempre.

A mis hermanos **Pedro** y **Alan**, por darme amor incondicional y brindarme un ejemplo de esfuerzo, dedicación, perseverancia y disciplina.

A mis sobrinas **Rosita** y **Genesis**.

Índice General

RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. HIPOTESIS.....	3
1.2. OBJETIVO	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Importancia del ganado caprino en México	4
2.2. Ciclo estral	4
2.2.1. Dinámica folicular	7
2.3. Estacionalidad reproductiva.....	8
2.4. Tratamientos hormonales	9
2.5. Inseminación artificial.....	12
2.5.1. Preservación del semen.....	12
2.5.2. Técnicas de IA	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Sitio de estudio, animales y manejo	15
3.2. Diseño experimental	16
3.3. Recolección de semen, evaluación y dilución.....	17

3.4. Inseminación Artificial	18
3.5. Diagnóstico de preñez	19
3.6. Análisis estadístico	19
4. RESULTADOS	20
5. DISCUSIÓN	21
6. CONCLUSION	24
7. LITERATURA CITADA.....	25

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Tasa de preñez y número de embriones obtenidos en cabras multíparas y nulíparas sincronizadas con una sola inyección de 20 mg de progesterona más 100 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sometidas a inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) durante la temporada no reproductiva (Alvarado-Espino *et al.*, 2019)11

Cuadro 2. Tasa de preñez obtenida en cabras en anestro en un sistema semi-extensivo tratadas con un protocolo basado en progesterona más hCG e inseminación artificial de tiempo fijo (IATF) con semen refrigerado.....20

Lista de figuras

Figura 1. Programas de tratamiento para cabras en anestro múltiparas inseminadas con semen frío (4-5 ° C) a las 48 y 60 h o 60 y 72 h después de la gonadotropina coriónica humana (hCG).....	17
--	----

RESUMEN

Efecto del momento de la Inseminación Artificial con semen refrigerado sobre la fertilidad en cabras anovulatorias tratadas con progesterona inyectable y hCG

Por:

Ariadna Vanessa Alvarado Espino

Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Director de tesis: Francisco Gerardo Véliz Deras

El objetivo de este estudio fue determinar el tiempo óptimo de inseminación artificial (IA) con semen refrigerado (4-5 °C) en cabras en anestro tratadas con progesterona (P4) más un protocolo basado en gonadotropina coriónica humana (hCG) administrado en un sistema semi-extensivo. Se utilizaron 72 cabras multíparas en anestro de raza mixta (local x cabras lecheras) durante la temporada no reproductiva (junio, 25 ° N). Se inyectó a las cabras 20 mg de P4 en adyuvante de aceite seguido de 100 UI de hCG 24 h más tarde. El día de la administración de hCG (Día 0), las cabras se asignaron aleatoriamente a cada uno de los dos grupos de tratamiento. Las cabras del primer grupo (n = 37) recibieron una IA a tiempo fijo (IATF) a las 48 y 60 h después de la inyección de hCG, mientras que las cabras del segundo grupo (n = 35) recibieron una IATF a las 60 y 72 h con semen frío diluido en leche descremada bovina ultra pasteurizada. Las cabras se examinaron mediante ecografía transrectal (7,5 MHz) 45 días después de la IA para determinar la tasa de preñez. No hubo

diferencias significativas en la proporción de cabras preñadas inseminadas a las 48 y 60 h (35.1%, 13/37) o 60 y 72 h (37.1%, 13/35) después de la administración de hCG ($P > 0.05$). Para concluir, los resultados del presente estudio indican que el tiempo de IA con semen frío no afectó la tasa de preñez en cabras tratadas con un protocolo basado en P4 más hCG durante el anestro.

Palabras clave: Semen refrigerado, anestro, fertilidad.

ABSTRACT

Effect of the moment of Artificial Insemination with refrigerated semen on fertility in anovulatory goats treated with injectable progesterone and hCG

By:

Ariadna Vanessa Alvarado Espino

To obtain the degree of Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Thesis director: Francisco Gerardo Véliz Deras

The aim of this study was to determine the optimal time of artificial insemination (AI) with chilled semen (4-5 °C) in anestrus goats treated with progesterone (P4) plus human chorionic gonadotropin (hCG)-based protocol managed in a semi-extensive condition. Seventy-two mixed-breed (local x dairy goats) anestrus multiparous goats were used during nonbreeding season (June, 25° N). Goats were injected with 20 mg of P4 in oil adjuvant followed by 100 IU of hCG 24 h later. At the day of hCG administration (Day 0), goats were assigned randomly to each of two treatment groups. Goats in the first group (n= 37) received a Fixed-Time AI (FTAI) at 48 and 60 h after hCG injection whereas goats of the second group (n= 35), received a FTAI at 60 and 72 h with chilled semen extended in ultra-high skim milk. Goats were examined by transrectal ultrasonography (7.5 MHz) 45 days after AI to determine the pregnancy rate. There was no significant differences in the proportion of pregnant goats inseminated at 48 and 60 h (35.1%, 13/37) or 60 and 72 h (37.1%, 13/35) after hCG administration ($P > 0.05$). To conclude, the results of the present study indicate that the time of AI with chilled

semen did not affect the pregnancy rate in goats treated with a P4 plus hCG-based protocol during anestrus.

Key words: Refrigerated semen, anestrus, fertility.

1. INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es una de las técnicas más simples y de bajo costo utilizadas en la cría de animales para mejorar el progreso genético y el rendimiento productivo (Nunes y Salgueiro 2011). Sin embargo, en las cabras las principales limitaciones para la adopción generalizada de IA en las granjas son las tasas de fertilidad variables después de la inseminación con semen congelado y descongelado, así como la necesidad de la detección del estro (Holtz *et al.*, 2008; Martemucci y D'Alessandro 2011).

La criopreservación de semen permite el almacenamiento a largo plazo y la dispersión internacional de gametos de machos genéticamente superiores, disociando el tiempo entre la recolección y el momento de la IA (Leboeuf *et al.*, 2000). Sin embargo, la fertilidad obtenida después de la IA por vía cervical con semen congelado / descongelado es baja (Sohnrey y Holtz 2005). El uso de semen fresco produce mejores tasas de preñez que las reportadas con el uso de semen congelado / descongelado (Ritar y Salamon 1983; Karatzas *et al.*, 1997) pero, la viabilidad de los espermatozoides es corta, limitando su uso a los primeros 30 a 60 min después de la recolección (Ritar 1993). Una alternativa es el uso de semen refrigerado a 4-5 °C diluido en leche descremada bovina ultra pasteurizada (Mara *et al.*, 2007; Gororo *et al.*, 2019). La baja temperatura reduce el metabolismo de los espermatozoides y prolonga su vida útil, lo que permite aumentar el uso de semen durante al menos 12 a 24 h después de la recolección con tasas de fertilidad aceptables (Roca *et al.*, 1997; Leboeuf *et al.*, 2004; Mara *et al.*, 2007) simplificando y reduciendo el trabajo en la recolección del semen y

la IA favoreciendo su implementación en las granjas caprinas (Gororo *et al.*, 2019).

Por otro lado, los programas de sincronización de la actividad estral y la ovulación que permiten la IA a tiempo fijo (IATF) pueden ayudar a superar los desafíos asociados con la detección del estro ya que tanto el trabajo como el tiempo para inseminar a las cabras se reduce (Menchaca y Rubianes 2004). Además, estos tratamientos se pueden aplicar en cabras en anestro, adelantando la temporada de reproducción, acortando la duración del período de cría y aumentan el rendimiento reproductivo (Sen y Onder 2016). Sin embargo, para establecer un programa de IATF exitoso, es importante conocer el momento, la frecuencia y la sincronía de la ovulación después del tratamiento, ya que el tiempo de la IA puede variar según el tratamiento y el tipo de semen utilizado (Martemucci y D'Alessandro 2011).

El uso de progesterona inyectable más la aplicación de gonadotropina coriónica humana (hCG) 24 h después ha sido utilizado para la IATF en cabras en anestro tanto multíparas como en nulíparas usando semen fresco (Alvarado-Espino *et al.*, 2019). Con este tratamiento se logra una tasa de preñez mayor al 50% luego de la IATF 60 h de la aplicación de la hCG en cabras bajo un sistema de producción intensivo y del 30% en hembras en un sistema extensivo. Sin embargo, el tiempo óptimo de la IATF después de aplicar este tratamiento inyectable basado en P4 más hCG asociado con semen refrigerado aún no se ha evaluado en cabras. Debido a lo anterior es que decidimos realizar el presente trabajo.

1.1. HIPOTESIS

El momento de la inseminación artificial con semen refrigerado no afecta la tasa de preñez en cabras en anestro tratadas con P4 inyectable y hCG.

1.2. OBJETIVO

Comparar la fertilidad en cabras en anestro tratadas con un protocolo a base de P4 inyectable más hCG inseminadas a tiempo fijo (IATF) 48 y 60 h o 60 y 72 h después de la administración de la hCG con semen refrigerado (5 °C) en un sistema semi-extensivo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia del ganado caprino en México

Las cabras fueron la primera especie domesticada como ganado hace aproximadamente 8000 años A.C., en el territorio que hoy ocupan los países de Iraq e Irán (Hatziminaoglu y Boyazoglu, 2004). Durante siglos, los humanos han utilizado a las cabras para obtener leche, carne, fibras y pieles bajo diferentes condiciones, por lo que tienen gran importancia a nivel mundial debido a su contribución económica en las áreas rurales de los países en desarrollo, contribuyendo de manera sustancial al mantenimiento de las familias (Dubeuf *et al.*, 2004).

Las primeras cabras llegaron a America hace ya más de 400 años, este ganado se adaptó muy bien en el territorio nacional (SIAP, 2018). La crianza del ganado caprino en Mexico, se destina para la producción de carne para venta y consumo, así como también para la producción de leche. En la actualidad México cuenta con aproximadamente 8.7 millones de cabras, existiendo una disminución en el inventario nacional desde el 2004 (SIAP, 2018).

2.2. Ciclo estral

Las cabras son animales poliestrónicos estacionales, es decir, presentan actividad estral solo durante una época específica del año. En regiones templadas la actividad estral inicia al final del verano y continúa hasta el final del invierno (Amoah *et al.*, 1996).

En la región árida del norte de Mexico, específicamente en la Comarca Lagunera (26 °N) la temporada de reproducción varía desde finales de julio hasta principios

de febrero, con una temporada de anestro desde fines de febrero hasta principios de junio (Luna-Orozco *et al.*, 2012). Sin embargo, algunas cabras pueden reproducirse todo el año (Mellado *et al.*, 2014).

El ciclo estral consiste en todos los cambios morfológicos y fisiológicos en los ovarios y el tracto genital que conducen a la expresión del estro o celo (fase de receptividad a los machos), la ovulación y la preparación del tracto genital para la copula, la fertilización y la implantación de embriones (Fatet *et al.*, 2011). Este patrón cíclico de la actividad sexual se alcanza durante la pubertad, que en la hembra se refiere a la edad en la que se presenta el estro por primera vez (Greyling, 2000).

En la cabra la duración del ciclo estral es de 21 días pudiendo variar de 18 a 22 días dependiendo de la raza, el medio ambiente y la temporada reproductiva (Rahman *et al.*, 2008).

El ciclo estral se puede dividir en fases: la fase folicular que dura entre 4 y 6 días y la fase lútea de aproximadamente 15 días (Rahman *et al.*, 2008; Fatet *et al.*, 2011). La fase folicular comprende desde la lisis del cuerpo luteo (luteolisis) hasta el momento de la ovulación. Durante la fase folicular uno o más folículos de un grupo comienzan a crecer hasta convertirse en dominante y ovular mientras que el resto de los folículos se atresia. Luego de la ovulación, el folículo ovulatorio se transforma en el cuerpo lúteo (CL) dando inicio a la fase lútea (Forde *et al.*, 2011).

La regulación hormonal del ciclo estral está gobernada por el eje hipotálamo-hipófisis-gonadas (HHG; También llamado eje gonadotropico). El hipotálamo,

sintetiza y libera la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La GnRH estimula la secreción de las hormonas gonadotrofas: La hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH). Ambas hormonas son secretadas por la hipófisis anterior o adenohipófisis y liberadas al torrente sanguíneo para alcanzar su órgano blanco que es el ovario. En el ovario, la FSH estimula el crecimiento de un grupo de folículos de los cuales uno o más alcanzaran la fase de dominancia y eventualmente ovular. Por su parte la LH es la encargada del crecimiento final de los folículos preovulatorios y de la ovulación.

Cuando los folículos comienzan a crecer empiezan a producir 17β -estradiol (E2). Las concentraciones de E2 comienzan a aumentar lo que induce la aparición el estro y estimula el pico preovulatorio de la LH (Llewelyn *et al.*, 1993). Este pico preovulatorio de LH es el responsable de la ovulación que ocurre 22-26 h después del pico preovulatorio de LH o bien hacia el final del estro. Tras la ovulación, la LH transforma a las células del folículo (células de la teca y granulosa) en el CL el cual produce y secreta P4, esencial para el establecimiento y mantenimiento de la gestación (Fatet *et al.*, 2011). Conforme avanza el ciclo estral, el cuerpo lúteo comienza a crecer y las concentraciones sanguíneas de P4 aumentan (Medan *et al.*, 2003). Cuando los niveles de P4 son altos, bloquean la secreción pulsátil de LH por lo que no ocurren ni el estro ni la ovulación (Llewelyn *et al.*, 1993; Caraty y Skinner, 1999). Alrededor del día 8-9 del ciclo el tamaño del CL así como los niveles sanguíneos de P4 alcanzan su máximo nivel y permanecen constantes hasta el día en que comienza la regresión del cuerpo lúteo (de Castro *et al.*, 1999).

Si la cabra queda gestante, el embrión previene la regresión del CL y, por lo tanto, el CL y los niveles sanguíneos de P4 permanecen elevados durante toda la gestación hasta el momento del parto; si no, el cuerpo lúteo regresa y la P4 comienza a descender (Niswender *et al.*, 2000). La regresión del cuerpo lúteo o luteolisis inicia aproximadamente el día 15 del ciclo estral y es provocada por la acción de la prostaglandina F₂α (PGF₂α) la cual es secretada por el útero (de Castro *et al.*, 1999), dando lugar a un nuevo ciclo estral.

2.2.1. Dinámica folicular

El crecimiento de los folículos ocurre en forma de oleadas (Rubianes y Menchaca, 2003). El número de oleadas u ondas foliculares durante un ciclo estral es en promedio de cuatro, pero puede variar de 2 a 5 (Rubianes y Menchaca, 2003). El intervalo entre una oleada y otra es de 4 a 6 días y el surgimiento de la primera oleada folicular generalmente coincide con la ovulación (Ghinter y Kot, 1994; de Castro *et al.*, 1999; Medan *et al.*, 2003; Rubianes y Menchaca, 2003).

Una oleada se caracteriza por la secuencia de tres eventos en el crecimiento folicular dependientes de gonadotropinas conocidos como reclutamiento, selección y dominancia (Driancourt, 2001). El reclutamiento o emergencia ha sido definido como el crecimiento sincronizado de un grupo de folículos antrales de 2-3 mm de diámetro estimulado por un aumento en las concentraciones de la FSH (Medan *et al.*, 2003). A este punto, todos los folículos son dependientes de FSH y tienen el mismo potencial de ovular; sin embargo, solo uno (o dos) serán seleccionados y se convertirán en el folículo dominante (Driancourt, 2001). El folículo seleccionado continúa creciendo por acción de la LH convirtiéndose en

el folículo dominante mientras que el resto de los folículos se atresian (Ginther, 2016). Si esto sucede durante la última oleada del ciclo estral o durante la luteolisis del cuerpo lúteo, el folículo dominante ovulará; si no, también se atresia y surgirá una nueva onda folicular (Menchaca y Rubianes, 2004; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005).

2.3. Estacionalidad reproductiva

Como se mencionó anteriormente, la actividad reproductiva de las cabras es estacional y tanto el inicio como la duración de la estación reproductiva depende de diversos factores como la latitud, el clima, la raza, el estado fisiológico, la presencia del macho y principalmente el fotoperiodo (Fatet *et al.*, 2011). La estacionalidad reproductiva es un mecanismo de adaptación que permite a los mamíferos reproducirse en la época del año más adecuada para la supervivencia de las crías (Bronson, 2009).

En cabras originarias o adaptadas a latitudes templadas $>30^\circ$ latitud norte o sur, la estación reproductiva comienza a finales del verano y continua durante todo el otoño y el invierno (Amoah *et al.*, 1996; Chemineau *et al.*, 2008). En las latitudes subtropicales, algunas cabras presentan un patrón estacional (Duarte *et al.*, 2008) mientras que otras pueden ciclar durante todo el año (Mellado *et al.*, 2014). Así mismo, las cabras con presencia o ausencia del macho y el nivel de nutrición pueden acortar o alargar el intervalo entre el anestro y la época reproductiva (De Santiago-Miramontes *et al.*, 2009).

2.4. Tratamientos hormonales

Los tratamientos hormonales son ampliamente utilizados para controlar la actividad reproductiva en pequeños ruminantes (Abecia *et al.*, 2012). Desde su desarrollo en 1970 hasta el día de hoy, el uso de esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos más eCG es el tratamiento más utilizado para inducir y sincronizar el estro y la ovulación en cabras y en particular durante el periodo de anestro (Abecia *et al.*, 2012). Posteriormente se desarrollaron otras formas de administrar la P4 como los implantes subcutáneos (Rowe *et al.*, 1989) y los dispositivos intravaginales hechos de silicón que pueden ser desinfectados y reutilizados sin afectar en la fertilidad (Vilariño *et al.*, 2011). La duración de los tratamientos va de 5 a 11 y la aplicación de la eCG se realiza ya sea dos días antes o al momento de retirar la fuente de P4 (Vilariño *et al.*, 2011; Pellicer-Rubio *et al.*, 2016). Algunos autores recomiendan administrar GnRH 24 h después de retirar la esponja para mejorar la sincronización de la ovulación o sustituir la eCG por FSH o hCG (Pierson *et al.*, 2003; Fonseca *et al.*, 2017).

Con este tratamiento, las cabras presentan celo aproximadamente 24-32 h más tarde y la ovulación ocurre 50 a 70 h después de finalizar el tratamiento (Freitas *et al.*, 1997; Menchaca *et al.*, 2007; Zarazaga *et al.*, 2014). La IATF se realiza 45 a 60 h después o antes de que ocurra la ovulación (Ritar *et al.*, 1990). De esta forma se asegura que cuando la ovulación ocurra, hay suficientes espermatozoides en el sitio de la fecundación listos para fecundar al óvulo. De lo contrario, si la IA se realiza justo al momento o después de la ovulación es probable que el ovocito envejezca afectando la fecundación y el desarrollo

embrionario posterior, lo que conlleva a una disminución de la fertilidad (Saacke *et al.*, 2000).

Estudios recientes mencionan que la aplicación de una sola dosis de P4 por vía IM seguida 24 h después por una dosis de 100 UI de hCG genera una buena respuesta estral y sincronización de la ovulación en cabras en anestro (Alvarado-Espino *et al.*, 2016; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2018). Con este tratamiento las cabras presentaron celo 48-60 h después de la aplicación de la hCG y ovularon en un periodo de 24 h. De acuerdo con Alvarado-Espino *et al.*, (2019) la IATF con semen fresco debe realizarse 60 h después de la aplicación de la hCG. En cabras bajo condiciones de manejo intensivo la fertilidad obtenida fue del 50% tanto en cabras multíparas como nulíparas, sin embargo, bajo condiciones de manejo extensivo la fertilidad fue menor al 30% (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tasa de preñez y número de embriones obtenidos en cabras multíparas y nulíparas sincronizadas con una sola inyección de 20 mg de progesterona más 100 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sometidas a inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) durante la temporada no reproductiva (Alvarado-Espino *et al.*, 2019).

Sistema de producción intensivo	Preñez/cabras tratadas	No. embriones/cabras preñadas
No. partos		
Multíparas	42.8% (48/112) ^a	1.7 ± 0.5 ^a
Nulíparas	53.6% (22/41) ^a	1.6 ± 0.5 ^a
Momento IATF		
60 h	55.6% (44/79) ^a	1.6 ± 0.5 ^a
72 h	35.1% (26/74) ^b	1.7 ± 0.5 ^a
Interacción partos*IATF	P = NS	P = NS
Sistema de producción extensivo	Preñez/cabras tratadas	No. embriones/cabras preñadas
No. partos		
Multíparas	29.4% (25/85) ^a	1.7 ± 0.5 ^a
Nulíparas	21.3% (13/61) ^a	1.5 ± 0.5 ^b
Momento de IATF		
60 h	29.4% (23/78) ^a	1.7 ± 0.4 ^a
72 h	22.0% (15/68) ^a	1.7 ± 0.5 ^a
Interacción partos*IATF	P = NS	P = NS

NS= No significativo P>0.05

2.5. Inseminación artificial

Las técnicas de reproducción asistida como la IA son utilizadas en la reproducción animal para promover un uso eficiente del germoplasma para el mejoramiento genético tanto en animales de compañía como en animales de producción (Sathe, 2018). En cabras, la IA ha estado disponible desde la década de 1960. El semen utilizado para la IA puede ser fresco, refrigerado o congelado y las técnicas son la vaginal, cervical y laparoscópica (Cseh *et al.*, 2012). El empleo de una técnica por otra dependerá de varios factores como el tipo de semen utilizado, el equipamiento o la habilidad del técnico (Cseh *et al.*, 2012; Sathe, 2018).

2.5.1. Preservación del semen

El semen fresco es el más adecuado cuando el macho se encuentra en la granja y en especial durante la época de reproducción cuando la producción y calidad del semen se encuentran en su punto máximo (Baldassarre y Karatzas, 2004). Cuando se utiliza fuera de la época de reproducción puede ser necesario tratar a los machos con Testosterona para mejorar la libido y la producción y calidad espermática (Angel-Garcia *et al.*, 2015). Una vez recolectado, el semen se diluye con leche de vaca descremada ultrapasteurizada a una temperatura de 30 °C y se debe utilizar dentro de los siguientes 30 o 60 min luego de la recolección.

El semen almacenado a 4-5 °C (refrigerado) puede prolongar la vida útil de los espermatozoides y su habilidad fecundante (Gororo *et al.*, 2019). Los métodos empleados para diluir y almacenar el semen varían de un lugar a otro, pero el método más utilizado consiste en diluirlo con leche descremada UTH o medios a

base de TRIS-citrato-Fructosa con yema de huevo (Mata-Campuzano *et al.*, 2015). Luego, la temperatura se baja gradualmente a razón de 0.25 °C por min hasta alcanzar los 4-5 °C. Bajo estas condiciones la viabilidad de los espermatozoides se extiende de 12 a 24 h (Leboeuf *et al.*, 2004). Así, el semen puede ser recolectado en un lugar y transportado a otro durante este periodo.

El semen congelado tiene claras ventajas en el tiempo de almacenamiento y la distribución. El semen normalmente se diluye con medios que contienen yema de huevo, TRIS, fructosa, glicerol y antibióticos (Barbas y Mascarenhas, 2009). Una vez diluido, la temperatura del semen se baja a 4-5 °C, se envasa en pajillas de 0.25 o 0.5 mL y se congela en nitrógeno líquido a -196 °C (Leboeuf *et al.*, 2000). Sin embargo, la criopreservación disminuye significativamente la viabilidad de los espermatozoides afectando seriamente la fertilidad luego de la IA (Nordstoga *et al.*, 2010).

2.5.2. Técnicas de IA

La IA por vía vaginal es la más simple de todas. Esta consiste en la introducción de la pipeta de IA con la dosis de semen hasta el fondo de la vagina y una vez ahí se deposita el semen (Nordstoga *et al.*, 2010). Si bien esta técnica es fácil y rápida, la fertilidad es de aceptable a pobre (30-50%) recomendándose emplearla especialmente con semen fresco y en cabras inseminadas a celo visto con un número de espermatozoides por inseminación de 400×10^6 (Cseh *et al.*, 2012).

La IA cervical es una de las más utilizadas en cabras ya que a diferencia de la oveja, en las cabras el cervix no es tan tortuoso y en algunas hembras se puede depositar el semen en el útero por esta vía. Para esta técnica es necesario utilizar

un vaginoscopio con luz para localizar la entrada del cérvix y depositar la dosis de inseminación, lo que incrementa la tasa de concepción (Paulenz *et al.*, 2005). La inseminación cervical puede utilizarse con semen fresco o congelado con tasas de concepción del 40-80% (Cseh *et al.*, 2012),

Finalmente, la IA por laparoscopia permite la colocación del semen directamente en el útero. La fertilidad luego de la inseminación por laparoscopia es de entre el 60 y el 80% incluso con semen congelado (Ritar *et al.*, 1990). Además, es posible reducir la cantidad de espermatozoides por inseminación maximizando el número de cabras inseminadas por eyaculado (Ritar *et al.*, 1990). Sin embargo, la principal desventaja de esta técnica es el equipamiento y que se requiere entrenamiento quirúrgico para realizarla (Sathe, 2018).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Sitio de estudio, animales y manejo

Este estudio se realizó en el norte de México durante la temporada no reproductiva (junio, 25 ° N). Se utilizaron 72 cabras multíparas multirraciales. Al inicio del experimento todas las cabras se encontraban en anestro, el cual se determinó por la ausencia de cuerpo lúteo mediante dos exámenes de ultrasonido por vía transrectal (Aloka SSD 500, Tokyo, Japón; Transductor 7.5 MHz). Los ultrasonidos se realizaron con ocho días de diferencia entre ellos con el segundo justo antes de comenzar el experimento. Las cabras tenían una condición corporal de 2.8 ± 0.3 (media \pm DE; escala 1-5, Atasever *et al.*, 2015) y pesaban 45.2 ± 7.2 kg. Durante el estudio, las cabras fueron pastoreadas por el propietario en un agostadero donde predominaban la gobernadora (*Larrea tridentata*), mezquite (*Prosopis glandulosa*), acacia (*Vachellia farnesiana*), pastos (como *Bouteloua gracilis* y *B. curtipendula*) y ocasionalmente en residuos de cultivos como maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum spp.*) durante aproximadamente 8 h diarias. Por la noche, las cabras se alojaban en corrales y recibían sal mineral y agua *ad libitum*. Las cabras fueron ordeñadas a mano todos los días por la mañana y se les ofrecía un concentrado (150 g animal x animal). Todos los animales estaban en buen estado de salud y todos los procedimientos estaban en estricta conformidad con las pautas aceptadas para el uso ético, el cuidado y bienestar de los animales de investigación (NAM, 2002; FASS, 2010).

3.2. Diseño experimental

Las cabras fueron tratadas con un protocolo a base de P4 inyectable más hCG (Alvarado-Espino *et al.*, 2019). Se inyectó a las cabras con 20 mg de P4 disuelta en un adyuvante oleoso (0.4 mL / cabra, Progesterona, Zoetis, México), más 100 UI de hCG (0.1 mL / cabra, Chorulon, Intervet, México) 24 h después. Ambas hormonas se administraron por vía intramuscular en la mañana. El día de la administración de la hCG (Día 0), las cabras fueron asignadas aleatoriamente a cada uno de los dos grupos de tratamiento de acuerdo a condición corporal como parte del procedimiento de aleatorización para minimizar la confusión de esta variable entre tratamientos. Las cabras del primer grupo (n = 37) recibieron una IATF a las 48 y 60 h después de la inyección de hCG, mientras que las cabras del segundo grupo (n = 35) recibieron una IATF a las 60 y 72 h con semen frío sin detección de estrógeno para ninguno de los grupos. En la Figura 1 se muestra un esquema del diseño experimental.

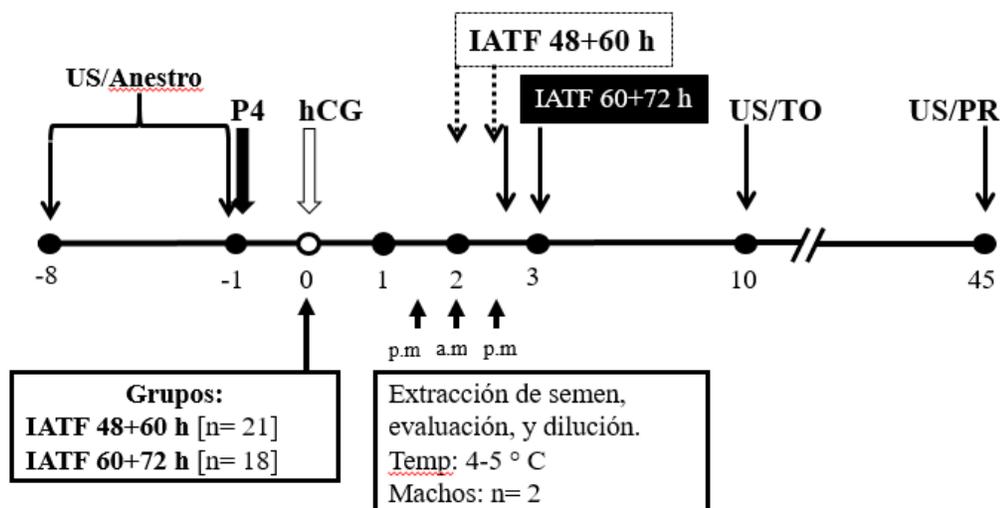


Fig. 1. Esquema experimental. Las cabras fueron tratadas con un protocolo a base de P4 inyectable más hCG. US = Ultrasonido. IATF = Inseminación Artificial de Tiempo Fijo. PR = tasa de preñez.

3.3. Recolección de semen, evaluación y dilución

Para la IA, se utilizó el semen de dos machos caprinos Alpino-Francés y de un macho Toggenburg de fertilidad probada. Los machos estaban alojados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna, (aproximadamente a 45 min de la granja caprina donde se llevó a cabo la IATF). La recolección del semen se realizó entre 6 y 16 h antes de la IA mediante una vagina artificial y una cabra en estro. La cabra fue tratada con 20 mg de P4 más 0.2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol, Ourofino, Brazil) 48 h después. El semen se recolectó en unos tubos de 15 mL y cada eyaculado se evaluó inmediatamente después de la recolección. Se evaluó el volumen (mL), la concentración espermática (SDM 1, Minitube®, Alemania), la motilidad en masa en una escala de 6 puntos (0= no movimiento; 5= numerosas olas rápidas; David

et al., 2015), y la viabilidad (%) mediante la tinción de eosina-nigrosina. Las evaluaciones se realizaron siempre por el mismo técnico y solo se usaron las eyaculaciones que tenían un volumen ≥ 0.5 mL, una motilidad en masa ≥ 3 (escala 0-5) y una concentración $\geq 2500 \times 10^6$ espermatozoides por mL. Después de la evaluación, el semen se mantuvo en un baño maría a 30 °C durante 5-10 minutos hasta la dilución. La dilución del semen se realizó con leche descremada bovina ultra pasteurizada en un solo paso para obtener una concentración final de 800×10^6 por mL (Mara *et al.*, 2007). Posteriormente, los eyaculados se transfirieron en un baño maría (30 °C) al refrigerador y se enfriaron lentamente a 0.25 °C/min hasta alcanzar una temperatura de 4-5 °C.

3.4. Inseminación Artificial

El semen de cada macho fue transportado en una caja de espuma de poliestireno en condiciones refrigeradas (4-5 °C) a la granja. En el momento de la IATF, el semen se cargo en pajillas francesas de 0.25 ml que contenían 200×10^6 espermatozoides y el semen de los machos se distribuyó de manera homogénea para la inseminación en ambos grupos. La inseminación cervical se realizó con la ayuda de vaginoscopio tubular equipado con una fuente de luz y un catéter IA ovino-caprino (IMV, Francia). Las cabras fueron levantadas por sus extremidades posteriores y el semen se depositó en el orificio cervical externo. Para evitar sesgos, todas las inseminaciones fueron realizadas por el mismo técnico.

3.5. Diagnóstico de preñez

Para determinar la tasa de preñez, las cabras fueron examinadas por ultrasonografía transrectal (7.5 MHz, Aloka SSD 500, Tokio, Japon) 45 días después de la IATF. La preñez de las cabras fue confirmada por la presencia de al menos un feto viable y sus membranas extraembrionarias (Padilla-Rivas *et al.*, 2005).

3.6. Análisis estadístico

La tasa de preñez se analizó mediante regresión logística utilizando GENMOD con el enlace logit (SAS Institute Inc., Cary, NC). Se consideró una diferencia significativa entre los grupos de tratamiento cuando $P \leq 0.05$.

4. RESULTADOS

Los resultados se resumen en el cuadro 2. No hubo diferencias significativas en la proporción de cabras preñadas en el día 45 después de la IATF con semen refrigerado a las 48 h y 60 h o 60 y 72 h después de la administración de hCG ($P > 0.05$).

Cuadro 2. Tasa de preñez obtenida en cabras en anestro tratadas con un protocolo basado en progesterona inyectable más hCG e inseminadas a tiempo fijo (IATF) con semen refrigerado en un sistema semi-extensivo (25° N).

	IATF 48 y 60 h	IATF 60 y 72 h	Valor <i>P</i>
Tasa de preñez (%)	13/37 (35.1)	13/35 (37.1)	0.85

5. DISCUSIÓN

Los resultados indican que el momento de la de la IATF con semen refrigerado a 4-5 °C no afecto la tasa de preñez en cabras en anestro tratadas P4 inyectable más hCG manejadas en un sistema de pastoreo semi-extensivo.

Estudios recientes indican que la aplicación de una dosis de P4 seguida de hCG son suficientes para inducir y sincronizar el estro y la ovulación en cabras multíparas y nulíparas anovulatorias en un corto período de tiempo, lo que permite la implementación de la IATF (Alvarado-Espino *et al.*,2019).

En el presente estudio, la tasa de preñez después de la IATF a las 48 y 60 h o a las 60 y 72 h después de hCG con semen refrigerado fue similar (Tabla 1). La tasa de preñez similar obtenida en ambos grupos, independientemente del momento de la IATF, podría deberse a que en ambos grupos la IA se realizó cuando las cabras estaban en celo y antes de la ovulación y/o por un aumento en el número de espermatozoides viables disponibles en el sitio de fertilización por las dos IATF (Martemucci y D'Alessandro, 2011).

La tasa de fertilización depende del tiempo óptimo entre la IA y la ovulación en relación con momento de la ovulación y la viabilidad de los ovocitos y espermatozoides en el aparato genital de la hembra (Leboeuf *et al.*, 2000). Para obtener tasas de fertilidad más altas, la IA debe realizarse antes del tiempo esperado de ovulación (Ritar *et al.*, 1990; Martemucci y D'Alessandro 2011). Aunque en este experimento no se realizó la detección del estro o la ovulación a las cabras, estudios previos indican que en cabras tratadas con este protocolo el

inicio del estro ocurre entre 48 y 60 h después de la administración de hCG y ovulan 24-36 h más tarde (Alvarado-Espino *et al.*, 2016; Rodríguez-Martínez *et al.*, 2018). De acuerdo con esto, es probable que en la mayoría de las hembras de ambos grupos al menos una IATF se haya realizado antes o alrededor del tiempo esperado de ovulación, favoreciendo la capacitación espermática y un reservorio de espermatozoides en el sitio de fertilización (Hawk 1983).

Los resultados de las tasas de preñez después de la inseminación simple o doble son contradictorios. Algunos estudios reportan un aumento en la fertilidad al realizar una segunda IA con semen fresco o congelado/descongelado (Ritar y Salamon 1983; Karatzas *et al.*, 1997). Por el contrario, en otros estudios se informa que la fertilidad después de una IA con un total de 200 millones de espermatozoides fue similar a la obtenida con dos IA en cabras lecheras sincronizadas con P4 y eCG (Corteel *et al.*, 1988), o en cabras IA después del estro natural (Nordstoga *et al.*, 2010). Es probable que las ventajas realizar una segunda IA dependen del momento de la IA en relación con la ovulación, la sincronía de la ovulación en las cabras después del tratamiento o relacionadas con bajas tasas de detección de celo (Roca *et al.*, 1997; Nordstoga *et al.*, 2010). Dado que, en el presente estudio, las cabras en ambos grupos fueron inseminadas dos veces, es necesario realizar más estudios para determinar si una IA con semen frío es suficiente para tener tasas de preñez similares.

En el presente estudio, la tasa general de preñez (36.1%) es consistente con las reportadas previamente en cabras tratadas con este mismo tratamiento de sincronización del estro (Alvarado-Espino *et al.*, 2019), o tratadas con esponjas

intravaginales y eCG (Mehmood *et al.*, 2011; Arrebola *et al.*, 2012) inseminadas con una dosis de 200×10^6 espermatozoides de semen fresco o refrigerado bajo condiciones de manejo extensivas o semi-extensivas. En estos estudios, la tasa de fertilidad varió entre el 26% y el 35.1%. Esta fertilidad es considerablemente menor a la obtenida en cabras bajo sistemas de manejo intensivo donde la fertilidad llega a ser superior al 50% (Vilariño *et al.*, 2011; Arrebola *et al.*, 2012; Alvarado-Espino *et al.*, 2019). En el norte de México, las bajas tasas de reproducción son comunes en las operaciones de cabras (Mellado *et al.*, 2004). Uno de los principales factores que pueden contribuir a las bajas tasas de fertilidad en este tipo de sistema marginal de producción es que las cabras son propensas a tener un bajo nivel de nutrición impactando negativamente en la fertilidad (Mellado *et al.*, 2004; Alvarado-Espino *et al.*, 2019). Además, la nula o escasa sanidad y programas de vacunación y desparasitación aunado al mal manejo de los animales son otros factores que contribuyen a la baja fertilidad en estos sistemas de producción (Nordstoga *et al.*, 2010; Arrebola *et al.*, 2012).

6. CONCLUSION

Los resultados del presente estudio indican que la fertilidad en cabras tratadas con P4 inyectable más hCG durante el anestro fue similar independientemente del momento de la IATF con semen refrigerado (IATF a las 48 y 60 o 60 y 72 h después de la hCG). Estos resultados podrían tener importantes implicaciones en los programas de IA aplicados en sistemas extensivos y semi-extensivos para el mejoramiento genético de las cabras. Sin embargo, se requieren más investigaciones para aumentar la fertilidad después de la IA en cabras en condiciones de manejo extensivas y semi-extensivas.

7. LITERATURA CITADA

- Abecia, J.A., Forcada, F., González-Bulnes, A., 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 130, 173–9. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011
- Alvarado-Espino A. S., Menchaca A., Meza-Herrera C. A., Mellado M., Arellano F., and Véliz F. (2019). Use of injectable progesterone and hCG for fixed-time artificial insemination during the non-breeding season in goats. *Theriogenology* 127, 21–25. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.12.035
- Alvarado-Espino A. S., Meza-Herrera C. A., Carrillo E., González-Álvarez V. H., Guillen-Muñoz J. M., O. Ángel-García, Mellado M., and Véliz-Deras F. G. (2016). Reproductive outcomes of Alpine goats primed with progesterone and treated with human chorionic gonadotropin during the anestrus-to-estrus transition season. *Anim. Reprod. Sci.* 167, 133–138. doi:10.1016/j.anireprosci.2016.02.019
- Ángel-García O., Meza-Herrera C.A., Contreras Villarreal V., Guillen-Muñoz J.M., Leyva C., Robles-Trillo P.A., Rivas-Muñoz R., Rodríguez-Martínez R., Mellado M., Véliz F.G. (2015). Effect of different male-to-female rations and testosterone administration upon the male sexual behavior and the out-of-season reproductive response of anestrus goats. *Small Ruminant Research*. 133, 21-29. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.013
- Amoah, E.A., Gelaye, S., Guthrie, P., Rexroad Jr, C.E., 1996. Breeding season

and aspects of reproduction of female goats. *J. Anim. Sci.* 74, 723–728.

Arrebola F. A., Pardo B., Sanchez M., Lopez M. D., and Perez-Marin C. C. (2012).

Factors influencing the success of an artificial insemination program in Florida goats. *Spanish J. Agric. Res.* 10, 338. doi:10.5424/sjar/2012102-223-11

Atasever S., Sen U., and Onder H. (2015). A study on the determination of body condition score and somatic cell count in Turkish Saanen goats. *J. Appl. Anim. Res.* 43, 445–449.

Baldassarre, H. y C. Karatzas. 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science* 82: 255-266

Barbas J.P. y Mascarenhas R.D. (2009). Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Nature research.* 10: 49-62.

Bartlewski, P. M., T. E. Baby y J. L. Giffin. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal reproduction science* 124: 259-268.

Bronson, F. H. 2009. Climate change and seasonal reproduction in mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364: 3331-3340.

Caraty, A., Skinner, D.C., 1999. Progesterone Priming Is Essential for the Full Expression of the Positive Feedback Effect of Estradiol in Inducing the Preovulatory Gonadotropin-Releasing Hormone Surge in the Ewe. *Endocrinology* 140, 165–170. <https://doi.org/10.1210/endo.140.1.6444>

Chemineau, P., D. Guillaume, M. Migaud, J. Thiery, M. Pellicer-Rubio y B.

- Malpaux. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reproduction in Domestic Animals* 43: 40-47.
- Cole, L.A., 2010. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 8, 102.
- Corteel J. M., Leboeuf B., and Baril G. (1988). Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rumin. Res.* 1, 19–35.
- Cseh S., Faigl V., Amiridis G.S. (2012). Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Animal reproduction science.* 130: 187-192. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.014
- David I., Kohnke P., Lagriffoul G., Praud O., Plouarboué F., Degond P., and Druart X. (2015). Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 161, 75–81. doi:10.1016/j.anireprosci.2015.08.006
- de Castro, T., E. Rubianes, A. Menchaca y A. Rivero. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 52: 399-411.
- De Santiago-Miramontes, M. A., B. Malpaux y J. A. Delgadillo. 2009. Body condition is associated with a shorter breeding season and reduced ovulation rate in subtropical goats. *Animal Reproduction Science* 114: 175-182.

- Driancourt, M. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55: 1211-1239.
- Duarte, G., J. A. Flores, B. Malpoux y J. A. Delgadillo. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domestic Animal Endocrinology* 35: 362-370.
- Dubeuf, J. P., P. Morand-Fehr y R. Rubino. 2004. Situation, changes and future of goat industry around the world. *Small Ruminant Research* 51: 165-173.
- FASS (2010). Guide for the care and use of agricultural animals in agricultural research and teaching. p. 177. (Federation Animal Science Society: Champaign, IL, USA,).
- Fatet, A., M.-T. Pellicer-Rubio y B. Leboeuf. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science* 124: 211-219.
- Fonseca, J.F., Souza-Fabjan, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Cruz, R.C., Esteves, L. V, Matos de Paiva, M.P.S.L., Brandão, F.Z., Mancio, A.B., 2017. Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. *Reprod. Biol.* 17, 363–369. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2017.10.002>
- Freitas, V.J.F., Baril, G., Saumande, J., 1997. Estrus synchronization in dairy goats: use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear

implants. *Anim. Reprod. Sci.* 46, 237–244.

Forde, N., M. Beltman, P. Lonergan, M. Diskin, J. Roche y M. Crowe. 2011.

Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal reproduction science* 124: 163-169.

Ginther, O. y K. Kot. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in

goats. *Theriogenology* 42: 987-1001. Ginther, O.J., 2016. The theory of follicle selection in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 57, 85–99.

Gonzalez-Bulnes, A., J. Carrizosa, B. Urrutia y A. Lopez-Sebastian. 2006.

Oestrous behaviour and development of preovulatory follicles in goats induced to ovulate using the male effect with and without progesterone priming. *Reproduction, Fertility and Development* 18: 745-750.

Greyling, J. P. C. 2000. Reproduction traits in the Boer goat doe. *Small Ruminant*

Research 36: 171-177.

Gororo E., Zulu P. T., Chatiza F. P., and Mhuka C. (2019). Effects of different

extenders and storage temperatures on longevity of small East African goat (*Capra hircus*) semen. *Small Rumin. Res.* 175, 83–89.

Hawk H. W. (1983). Sperm survival and transport in the female reproductive tract.

J. Dairy Sci. 66, 2645–2660.

Hatziminaoglu, I. y J. Boyazoglu. 2004. The goat in ancient civilizations: from the

fertile crescent to the aegean sea. . *Small Rumin Res* 51: 123-129.

Holtz W., Sohnrey B., Gerland M., and Driancourt M.-A. (2008). Ovsynch

synchronization and fixed-time insemination in goats. *Theriogenology* 69,

785–92. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.10.004

- Karatzas G., Karagiannidis A., Varsakeli S., and Brikas P. (1997). Fertility of fresh and frozen-thawed goat semen during the nonbreeding season. *Theriogenology* 48, 1049–1059. doi:10.1016/S0093-691X(97)00331-2
- Leboeuf, B., J. Delgadillo, E. Manfredi, A. Piacère, V. Clément, P. Martin, M. Pellicer, P. Boué y R. De Cremoux. 2008. Management of goat reproduction and insemination for genetic improvement in France. *Reproduction in domestic animals* 43: 379-385.
- Leboeuf B., Guillouet P., Bonné J. L., Forgerit Y., and Magistrini M. (2004). Goat semen preserved at 4 °C until 76 hours before artificial insemination: Different attempts to maintain the fertility. *South African J. Anim. Sci.* 34, 233–235.
- Leboeuf B., Restall B., and Salamon S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 113–141. doi:10.1016/S0378-4320(00)00156-1
- Luna-Orozco , J. R., J. M. Guillen-Muñoz, M. d. I. A. De Santiago-Miramontes, J. E. García, R. Rodríguez-Martínez, C. A. Meza-Herrera, M. Mellado y F. G. Véliz. 2012. Influence of sexually inactive bucks subjected to long photoperiod or testosterone on the induction of estrus in anovulatory goats. *Trop Anim Health Prod.* 44:: 71–75.
- Llewelyn, C.A., Perrie, J., Luckins, A.G., Munro, C.D., 1993. Oestrus in the British white goat: timing of plasma luteinizing hormone surge and changes in

- behavioural and vaginal traits in relationship to onset of oestrus. *Br. Vet. J.* 149, 171–82. [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(05\)80087-9](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(05)80087-9)
- Mara L., Dattena M., Pilichi S., Sanna D., Branca A., and Cappai P. (2007). Effect of different diluents on goat semen fertility. *Anim. Reprod. Sci.* 102, 152–7. doi:10.1016/j.anireprosci.2007.02.007
- Martemucci G., and D'Alessandro A. G. (2011). Induction/synchronization of oestrus and ovulation in dairy goats with different short term treatments and fixed time intrauterine or exocervical insemination system. *Anim. Reprod. Sci.* 126, 187–194. doi:10.1016/j.anireprosci.2011.05.011
- Mata-Campuzano M., Alvarez-Rodriguez M., Álvarez M., Tamayo-Canul J., Anel L., de Paz P. Martínez-Pastor F. (2015). Post-thawing quality and incubation resilience of cryopreserved ram spermatozoa are affected by antioxidant supplementation and choice of extender. *Theriogenology*. 10.1016/j.theriogenology.2014.10.018
- Medan, M., G. Watanabe, K. Sasaki, Y. Nagura, H. Sakaime, M. Fujita, S. Sharawy y K. Taya. 2003. Effects of passive immunization of goats against inhibin on follicular development, hormone profile and ovulation rate. *Reproduction* 125: 751-757.
- Mehmood A., Andrabi S. M. H., Anwar M., and Rafiq M. (2011). Estrus Synchronization and Artificial Insemination in Goats during Low Breeding Season-A Preliminary Study. *Pak. Vet. J.* 31, 157–159. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=666551>

98&site=ehost-live

- Mellado, J., F. G. Veliz, A. de Santiago, C. Meza-Herrera y M. Mellado. 2014. Buck-induced estrus in grazing goats during increasing photoperiod and under cold stress at 25 N. *Vet Med Zoot* 88: 40-45.
- Mellado M., Valdez R., Lara L. M., and García J. E. (2004). Risk factors involved in conception, abortion, and kidding rates of goats under extensive conditions. *Small Rumin. Res.* 55, 191–198. doi:10.1016/j.smallrumres.2003.10.016
- Menchaca, A., Rubianes, E., 2007. Pregnancy Rate Obtained with Short-term Protocol for Timed Artificial Insemination in Goats. *Reprod. Domest. Anim.* 42, 590–593.
- Menchaca A., and Rubianes E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fertil. Dev.* 16, 403–413. doi:10.1071/RD04037
- NAM (2002). Guide for the care and use of laboratory animals. Guide for the care and use of laboratory animals. Co-produced by the National Academy of Medicine-Mexico and the Association for assessment and accreditation of laboratory animal care international. (Harlan Mexico: D. F., México)
- Niswender, G.D., Juengel, J.L., Silva, P.J., Rollyson, M.K., McIntush, E.W., 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev.* 80, 1–29.
- Nordstoga A. B., Söderquist L., Adnøy T., Farstad W., and Paulenz H. (2010).

Vaginal deposition of frozen-thawed semen in Norwegian Dairy goats: comparison of single and double insemination with equal total number of spermatozoa. *Theriogenology* 74, 895–900.
doi:10.1016/j.theriogenology.2010.04.014

Nunes J. F., and Salgueiro C. C. M. (2011). Strategies to improve the reproductive efficiency of goats in Brazil. *Small Rumin. Res.* 98, 176–184.
doi:10.1016/j.smallrumres.2011.03.036

Pellicer-Rubio M.T., Boissard K. Forgerit Y., Pougard J.L., Bonné J.L., Leboeuf B. (2016). Evaluation of hormone-free protocols based on the "male effect" for artificial insemination in lactating goats during seasonal anestrus. *Theriogenology*. 85: 960-969.
doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.005

Pierson, J.T., Baldassarre, H., Keefer, C.L., Downey, B.R., 2003. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. *Theriogenology* 60, 397–406. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00037-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00037-2)

Ritar A. J. (1993). Control of ovulation, storage of semen, and artificial insemination of fibre-producing goats in Australia: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 33, 807–820.

Ritar A., Ball P., and O'May P. (1990). Artificial insemination of Cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa

- and age of females. *Reprod. Fertil. Dev.* 2, 377. doi:10.1071/RD9900377
- Ritar A. J., and Salamon S. (1983). Fertility of fresh and frozen-thawed semen of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.* 36, 49–60.
- Roca J., Carrizosa J. A., Campos I., Lafuente A., Vazquez J. M., and Martinez E. (1997). Viability and fertility of unwashed Murciano-Granadina goat spermatozoa diluted in Tris-egg yolk extender and stored at 5 °C. *Small Rumin. Res.* 25, 147–153. doi:10.1016/S0921-4488(96)00978-9
- Rodríguez-Martínez R., Meza-Herrera C. A. A., Tapia-Robles K. I. I., Alvarado-Espino A. S. S., Luna-Orozco J. R. R., Leyva C., Mellado M., and Véliz-Deras F. G. G. (2018). Effect of two routes of administration of human chorionic gonadotropin upon oestrus induction and reproductive outcomes in adult acyclic mix-breed goats. *J. Appl. Anim. Res.* 46, 190–194. doi:10.1080/09712119.2017.1284075
- Rubianes, E. y A. Menchaca. 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science* 78: 271-287.
- Saacke, R.G., Dalton, J.C., Nadir, S., Nebel, R.L., Bame, J.H., 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Anim. Reprod. Sci.* 60, 663–677.
- Sen U., and Onder H. (2016). The effect of estrus synchronization programmes on parturition time and some reproductive characteristics of Saanen goats. *J. Appl. Anim. Res.* 44, 376–379.
- SIAP. 2018 Resumen Nacional. Población ganadera, avícola y apícola. .

<https://www.gob.mx/siap>. 20/04/ 2020).

Sohnrey B., and Holtz W. (2005). Technical Note: Transcervical deep cornual insemination of goats. *J. Anim. Sci.* 83, 1543–1548. doi:/2005.8371543x

Vilariño M., Rubianes E., and Menchaca A. (2011). Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the Short-term Protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology* 75, 1195–200. doi:10.1016/j.theriogenology.2010.11.030

Zarazaga, L.A., Gatica, M.C., Gallego-Calvo, L., Celi, I., Guzmán, J.L., 2014. The timing of oestrus, the preovulatory LH surge and ovulation in Blanca Andaluza goats synchronised by intravaginal progestagen sponge treatment is modified by season but not by body condition score. *Anim. Reprod. Sci.* 146, 170–5. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.02.012>