

# **COMPARACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE hCG PARA INDUCIR LA ACTIVIDAD SEXUAL EN CABRAS ALPINAS ANOVULATORIAS**

**ALAN SEBASTIAN ALVARADO ESPINO**

**TESIS**

Presentada como requisito parcial  
para optar al grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN  
AGROPECUARIA**



Universidad Autónoma Agraria  
Antonio Narro

Subdirección de Postgrado

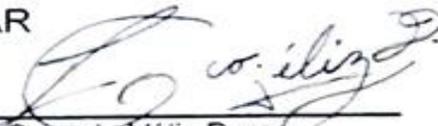
Torreón, Coahuila, julio de 2015.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**Tesis****COMPARACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE hCG PARA  
INDUCIR LA ACTIVIDAD SEXUAL EN CABRAS ALPINAS  
ANOVLATORIAS****ALAN SEBASTIAN ALVARADO ESPINO**Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada  
como requisito parcial para optar al grado de**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN  
AGROPECUARIA****COMITÉ PARTICULAR**

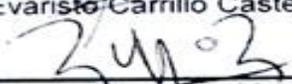
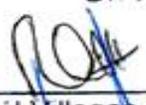
Asesor principal

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Fco. Gerardo Véliz Deras

Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Evaristo Carrillo Castellanos

Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Raymundo Rivas Muñoz  
\_\_\_\_\_  
Dr. Raúl Villegas Vizcaino  
Jefe del Departamento de Postgrado  
\_\_\_\_\_  
Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Subdirector de Postgrado

Torreón, Coahuila, julio de 2015.

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por permitirme llegar a este punto en mi preparación profesional. Al **Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras**, mi asesor principal, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado, por su confianza, por su guía durante mi proceso de aprendizaje y por su permanente apoyo durante mi formación como Maestro en Ciencias. No tengo palabras para expresarle mi gratitud. Al **Dr. Evaristo Carrillo Castellanos**, gracias por enseñarme muchas de las metodologías para hacer investigación en las cabras y por su apoyo para la realización de este estudio. Al **Dr. Raymundo Rivas Muñoz**, por su apoyo durante mi formación académica.

Al **Dr. Carlos Leyva** y al equipo del **Centro de Biotecnologías Reproductivas de la UAAAN, UL** por su orientación y enseñanzas sobre la conservación del semen en caprinos y bovinos. Al personal del **ITT**, **Juan**, **Odilón** y **Manuel** por su asistencia durante mi trabajo experimental.

A mis compañeros y amigos **Jessica Ma. Flores Salas**, **Karen I. Tapia Robles** y **Homero González** por su compañía durante esta travesía y por su apoyo. Gracias por su amistad y por los gratos momentos.

A todos **mis maestros y compañeros del Posgrado en Ciencias en Producción Agropecuaria UAAAN, UL.**, de quienes me llevo muy gratos recuerdos.

A la **C. Aurelia Najera Cruz**, por su apoyo en todos los trámites administrativos.

Al **CONACyT** por el apoyo económico para culminar exitosamente mis estudios.

## DEDICATORIA

A mis padres, **Sr. Pedro Alvarado Becerra** y **Sra. Rosa Ma. Espino Lozano**, por su apoyo incondicional, por sus palabras de aliento, sus consejos y su ánimo, que son el motivo que me impulsa a seguir adelante y nunca rendirme.

A mis hermanos **Pedro Edgar Alvarado Espino** y **Ariadna Vanessa Alvarado Espino** que hemos compartido grandes cosas y esta es una de ellas. Los quiero mucho. A mi sobrinita **Rosa Abigail Alvarado Moncada** por tu cariño y la alegría que me transmites.

## INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	3
III. OBJETIVOS.....	4
IV. HIPÓTESIS .....	5
V. REVISIÓN DE LITERATURA .....	6
5.1. Importancia del ganado caprino en México .....	6
5.2. Estacionalidad de la actividad sexual .....	18
5.2.1. Mecanismos neuroendocrinos de la estacionalidad sexual .....	19
5.2.2. Factores que modulan la estacionalidad .....	21
5.2.2.1. Fotoperiodo.....	21
5.2.2.2. Nutrición .....	23
5.3. El ciclo estral .....	7
5.3.1. Regulación endocrina del ciclo estral .....	8
5.3.2. Foliculogénesis.....	9
5.3.3. Dinámica Folicular .....	13
5.3.4. La progesterona y el desarrollo folicular .....	14
5.3.5. Fases del ciclo estral .....	15
5.3.5.1. Fase folicular .....	15
5.3.5.2. Fase lútea.....	17
5.4. Control hormonal del ciclo estral.....	24
5.4.1. Prostaglandinas (PGF <sub>2</sub> α) .....	25
5.4.2. Tratamientos a base de progesterona .....	25
5.4.3. Progesterona, gonadotropinas y estradiol .....	27
5.4.4. Gonadotropina coriónica humana (hCG) .....	27
5.4.5. Gonadotropina coriónica equina (eCG) .....	31
5.4.6. Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y FSH .....	32
5.4.7. Estradiol.....	33
VI. MATERIALES Y MÉTODOS .....	35

6.1. Localización del área de estudio .....	35
6.2. Animales y su manejo.....	35
6.3. Determinación de las cabras anovulatorias .....	35
6.4. Diseño experimental .....	36
6.5. Variables evaluadas .....	37
6.5.1. Conducta estral.....	37
6.5.2. Desarrollo folicular y ovulación .....	37
6.5.3. Gestación, partos y prolificidad.....	37
6.5.4. Análisis estadístico .....	38
VII. RESULTADOS .....	39
VIII. DISCUSIÓN.....	42
IX. CONCLUSIÓN.....	44
X. LITERATURA CITADA .....	45

## LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. MORFOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN DE LOS FOLÍCULOS OVÁRICOS. ....	11
CUADRO 2. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS PROTOCOLOS DE INDUCCIÓN Y SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN CABRAS ANOVULATORIAS CON PROGESTERONA Y GONADOTROPINAS. ....	29
CUADRO 3. APLICACIONES DE LA GONADOTROPINA CORIÓICA HUMANA EN CABRAS. .....	30
CUADRO 4. CARACTERÍSTICAS DE LA RESPUESTA SEXUAL DE LAS CABRAS ALPINAS SOMETIDAS A UN PROTOCOLO DE INDUCCIÓN DEL ESTRO UTILIZANDO 300 (G300), 100 (G100) Y 50 (G50) UI DE HCG Y SOLUCIÓN SALINA (GC) 24 H DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE 20 MG DE PROGESTERONA DURANTE EL ANESTRO ESTACIONAL.....	39
CUADRO 5. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE HCG Y SOLUCIÓN SALINA SOBRE EL NÚMERO DE FOLÍCULOS EN LOS OVARIOS AL MOMENTO (D 0) Y DOS DÍAS (D 2) DESPUÉS DE LA APLICACIÓN CON HCG.....	41

**LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1. POBLACIÓN CAPRINA EN MÉXICO DEL 2004 AL 2013.....	7
FIGURA 2. REGULACIÓN NEUROENDOCRINA DEL CICLO ESTRAL.....	10
FIGURA 3. FASES DEL CICLO ESTRAL Y DINÁMICA FOLICULAR.....	15
FIGURA 4. VARIACIÓN ESTACIONAL DE LAS OVULACIONES Y CONDUCTA ESTRAL EN CABRAS ALPINAS.....	19
FIGURA 5. MECANISMO INHIBIDOR DEL ESTRADIOL SOBRE EL HIPOTÁLAMO. ....	20
FIGURA 6. DIAGRAMA DE LOS PRINCIPALES MECANISMOS RESPONSABLES DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA. ....	22
FIGURA 7. ESQUEMA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.....	36
FIGURA 8. DISTRIBUCIÓN DEL ESTRO DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE 300 (G300), 100 (G100) Y 50 (G50) UI DE HCG Y SOLUCIÓN SALINA (GC) 24 H DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE 20 MG DE PROGESTERONA.....	40
FIGURA 9. PORCENTAJE DE CABRAS QUE OVULARON A LAS 72, 96, 120, 144 Y 168 H DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA HCG O LA SOLUCIÓN SALINA.....	41

## Resumen

### Comparación de diferentes dosis de hCG para inducir la actividad sexual en cabras Alpinas anovulatorias

Por:

Alan Sebastian Alvarado Espino

Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia del uso de la gonadotropina corionica humana (hCG) para inducir la actividad sexual en las cabras Alpinas en el Norte de México (25° N). Treinta y nueve cabras adultas anovulatorias fueron divididas aleatoriamente en cuatro grupos de acuerdo a su peso ( $37.36 \pm 8.48$ ) y condición corporal ( $1.96 \pm 0.32$ ). El día 0 (0 d) las cabras del grupo **G300** (n=10), recibieron 300 UI de hCG, el grupo **G100** (n=10) recibió 100 UI y el **G50** (n=9) recibió 50 UI, mientras que al grupo control GC se le inyectaron 0.5 mL de solución salina. Todas las aplicaciones se realizaron en la vulva. Además, todas las cabras recibieron 7.5 mg de prostaglandina sintética IM. Un día antes de la aplicación de hCG (d -1) a todos los grupos se les administraron 20 mg de Progesterona en la vulva. A partir del d 0, se evaluó el inicio y duración de la conducta estral dos veces al día por 5 min durante los siguientes siete días, para lo cual se utilizó un macho adulto. Las cabras con signos de estro fueron montadas por el macho una sola vez en las primeras 12 h de haber iniciado el estro. Se realizó ultrasonografía transrectal a partir del d 0 y hasta la detección de la ovulación. El diagnóstico de gestación se realizó 45 días después del apareamiento mediante ultrasonografía transrectal. El porcentaje de hembras en estro y que ovularon fue similar ( $P > 0.05$ ) entre los grupos G300, G100 y G50 ( $\geq 67\%$ ). Ninguna de las cabras del GC presentó conducta estral ni ovulación. Asimismo, la duración del estro ( $29 \pm 21$ ,  $33.6 \pm 5$  y  $30 \pm 6$  h), el número de ovulaciones ( $1.9 \pm 0.6$ ,  $1.4 \pm 0.5$  y  $1.8 \pm 0.4$ ) y la latencia del d 0 a la ovulación ( $108 \pm 33$ ,  $91 \pm 10$  y  $90 \pm 10$  h) no difirieron ( $P > 0.05$ ) entre los grupos G300, G100 y G50, respectivamente. Sin embargo, la latencia al estro fue mayor en el grupo G300 ( $76 \pm 29$  h;  $P < 0.05$ ) que en el G100 ( $54 \pm 6$  h).

Además, el diámetro del folículo ovulatorio fue mayor ( $P < 0.05$ ) en el G300 con respecto al G50 ( $7.8 \pm 1$  vs  $6.7 \pm 1$ , respectivamente). No se encontraron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre los grupos G300, G100 y G50 en la gestación (90, 100 y 67 %, respectivamente), tasa de partos (70, 80 y 55%) ni en la prolificidad ( $1.57 \pm 0.5$ ,  $1.5 \pm 0.5$  y  $1.6 \pm 0.5$ ). Estos resultados indican que la administración de 50 ó 100 UI de hCG podría ser usada en las cabras Alpinas anovulatorias sin la reducción de la respuesta estral ni de los parámetros reproductivos.

**Palabras Clave.** hCG, dosis bajas, anovulación, sincronización del estro, cabras

## Abstract

### Comparison of different doses of hCG to promote the induction of sexual activity in anovulatory Alpine goats

By:

Alan Sebastian Alvarado Espino

Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria

The aim of this study was to evaluate the efficacy of the use of human chorionic gonadotrophin hormone (hCG) to induce sexual activity in Alpine goats during seasonal anestrous in northern Mexico (26° N). Adult anovulatory goat (n=39) were randomly divided into four groups according to body condition score ( $1.96 \pm 0.32$ ) and weight ( $37.36 \pm 8.48$ ). On July 23 (day -1), all goats received intra-vulvo-submucosal (ivs) administration of 20 mg of progesterone. On day-0 (D0), goats in the group **G300**, (n = 10) received an ivs administration of 300 UI of hCG, the group **G100**, (n = 10) received 100 UI of hCG and de **G50**, (n=9) 50 UI, while the control group **GC**, (n=10) received 0.5 mL of saline solution. All does were injected whit intramuscular administration (im) of 7.5 mg of synthetic prostaglandin. After D0, the onset of estrous behavior was evaluated twice a day for 5 min during the first 5-d after hCG administration whit aid of sexually active buck. Goats were scanned by transrectal ultrasound (7.5 Mhz probe) on d 0 until d 7 for detection of ovulation and on day 45 after breeding for detection of pregnancy. Goats depicting estrus behavior were similar between groups (G50: 67%, G100: 100% and G300: 90%,  $P>0.05$ ), with not estrus behavior in the GC-goats neither ovulation. The onset of estrous occurred earlier in G100 than G300 ( $54 \pm 6.32$  vs  $76 \pm 30$  h, respectively;  $P<0.05$ ). Indeed, the duration of the estrous ( $32 \pm 12.9$  h), ovulations ( $1.68 \pm 0.54$ ) and hCG to ovulation interval ( $97 \pm 22.16$  h) was simililar between groups ( $P>0.05$ ). Ovulatory diameter was higher ( $P<0.05$ ) in G300 than G50 ( $7.8 \pm 1$  vs  $6.7 \pm 1$ , respectively). No differences were found ( $P>0.05$ ) in pregnancy rate between G50 (67%) G100 (100%) and G300 (70%) groups. The kidding rate (G300: 70, G100: 80 and

G50: 55 %) and prolificacy (G300:  $1.57 \pm 0.53$ , G100:  $1.5 \pm 0.53$  and G50:  $1.6 \pm 0.54$ ) were similar between groups. This result These results indicate that administration of 50 or 100 UI of hCG could be used without a reduction in both estrus behavior and reproductive outcomes in anestrous Alpine goats at 26° N.

**Key words:** hCG, Lower doses, anovulation, estrous synchronization, goats

## I. INTRODUCCIÓN

Las cabras originarias o adaptadas a regiones subtropicales, muestran un periodo de inactividad sexual durante la primavera y el verano (Carrillo *et al.*, 2010; Duarte *et al.*, 2008; Walkden-Brown y Restall, 1996). Como consecuencia, la producción de leche y carne es estacional, convirtiéndose en un factor limitante para los sistemas de producción (Holtz, 2005). Existen múltiples protocolos a base de hormonas para inducir la ovulación durante la estación no reproductiva con resultados equiparables a los encontrados durante la estación reproductiva (Fierro *et al.*, 2013; Jackson *et al.*, 2014). Por lo tanto, la sincronización del estro es una importante herramienta de manejo que ha sido utilizada con apoyo para la inseminación artificial y abolir la estacionalidad reproductiva en las cabras (Abecia *et al.*, 2012). Sin embargo, la estimulación hormonal de la función reproductiva requiere un incremento de mano de obra, alimentación e instalaciones, lo cual incrementa los costos de producción.

Los protocolos hormonales para inducir la ovulación durante el anestro estacional utilizan progesterona y sus análogos y la forma más común de administrarla es en esponjas vaginales (Romano, 2004). Sin embargo, algunas de las desventajas del uso de esponjas es que inducen vaginitis (Penna *et al.*, 2013) y cuando son empleadas por periodos prolongados (12 días) la fertilidad disminuye (Viñoles *et al.*, 2001). Recientemente, Rodríguez-Martínez *et al.* (2013) aplicaron 25 mg de progesterona intramuscular más eCG en cabras anestrícas, induciendo el estro en el 97% de las hembras tratadas. Esto podría deberse a que la administración de progesterona exógena inicia rápidamente el surgimiento de una nueva oleada folicular con folículos capaces de ovular con el estímulo de LH (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2006).

La efectividad de la gonadotropina coriónica humana (hCG) para inducir y sincronizar la actividad sexual en las cabras, tanto en el anestro como en la temporada reproductiva, ha sido reportada por diversos autores (Fonseca *et al.*,

2005; Navanukraw *et al.*, 2014). El rango de las dosis empleadas va de 250 a 300 UI después de un tratamiento con un dispositivo vaginal impregnado con progesterona o sus análogos. En cabras shiba, Kawate *et al.* (2002) mencionan la efectividad de la hCG a dosis menores a las antes mencionadas, sin embargo, son necesarias al menos tres aplicaciones para inducir el estro después del tratamiento con progesterona, lo que hace impráctico su uso en condiciones extensivas o donde las instalaciones no permitan un manejo excesivo de los animales. Considerando lo antes mencionado, es importante determinar el efecto de una dosis de hCG para sincronizar el estro en cabras Alpinas anovulatorias durante el periodo de transición a 25° N, así como su efecto en las características ováricas y la fertilidad.

## II. JUSTIFICACIÓN

Debido a la creciente demanda de alimentos de origen animal a nivel mundial y considerando que las cabras Criollas así como como las especializadas en producción de leche presentan una época del año en la cual su actividad sexual es baja y en ocasiones nula, es necesario implementar técnicas reproductivas tanto para hembras como para machos, con la finalidad que estas cabras se puedan reproducir durante todo el año y así poder establecer un programa de reproducción anual de acuerdo a las necesidades del productor.

Los protocolos de inducción y sincronización del estro a base de hormonas son una manera efectiva de inducir la actividad sexual en las cabras anovulatorias, sin embargo, no son accesibles para la mayoría de los productores de los países en desarrollo. Por esta razón es necesario desarrollar protocolo acordes a las necesidades de nuestro país que sean efectivos, prácticos y económicos.

### III. OBJETIVOS

Comparar la eficacia de diferentes dosis de hCG para inducir la actividad sexual en las cabras Alpinas anovulatorias.

Determinar el efecto de la dosis de hCG sobre la tasa ovulatoria, fertilidad y prolificidad en las cabras Alpinas.

#### **IV. HIPÓTESIS**

La administración de una dosis baja de hCG es efectiva en la inducción y sincronización de la actividad sexual en cabras Alpinas anovulatorias durante el periodo de anestro estacional a 25°N sin afectar la fertilidad de estos animales.

## V. REVISIÓN DE LITERATURA

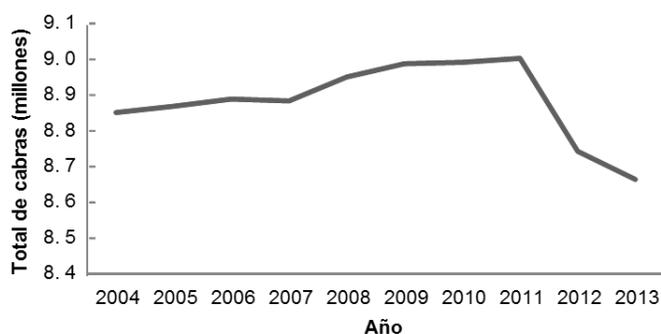
### 5.1. Importancia del ganado caprino en México

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).

México tiene aproximadamente 8.6 millones de cabras, existiendo una disminución en el inventario desde el 2004 (Figura 1; SIAP, 2013). Esto nos convierte en el segundo país con mayor número en el continente americano solo después de Brasil y el 21° a nivel mundial (FAOSTAT, 2013). En cuanto a producción de leche, en México se generan 150 mil toneladas de leche anualmente y 77 mil toneladas de carne (SIAP, 2013 ). En nuestro país, la caprinocultura se concentra en las regiones áridas y semiáridas, las cuales ocupan 128 millones de ha, lo que representa gran parte del territorio mexicano y donde vive cerca de la mitad de la población y es en estas regiones, donde la caprinocultura contribuye de manera considerable a la economía de los agricultores (Escareño *et al.*, 2012).

La principal forma de producción caprina es el pastoreo en tierras comunales o sistema extensivo, donde las cabras se alimentan durante todo el año sin ningún tipo de suplementación (Mellado *et al.*, 2003). Este sistema es la base de la producción de leche de cabra, sin embargo, presenta poco nivel de tecnificación y asistencia técnica (Escareño Sánchez *et al.*, 2011). Además, debido a la estacionalidad en la actividad sexual de los caprinos, hay estaciones del año donde la producción de leche excede a la demanda del producto y como resultado, los productores enfrentan problemas para vender el producto,

lo que dificulta la producción de productos lácteos a gran escala (Escareño *et al.*, 2012). Por esta razón es necesario conocer la fisiología del ciclo estral y así poder desarrollar estrategias para controlar la actividad sexual en las cabras y mantener la producción durante todo el año.



**Figura 1.** Población caprina en México del 2004 al 2013.

## 5.2. El ciclo estral

El ciclo estral consiste en los cambios morfológicos y fisiológicos de los ovarios y útero que conllevan a la manifestación del estro (fase de receptividad sexual) y la ovulación, la preparación del aparato genital para la copula, la fecundación e implantación del embrión (Fatet *et al.*, 2011). La cabra al igual que la oveja, es considerada poliéstrica estacional (Bartlewski *et al.*, 2011; Fatet *et al.*, 2011). Es decir, presenta varios ciclos estrales durante la temporada reproductiva (otoño-invierno) y una temporada en la que cesan las manifestaciones de estro y ovulación (primavera-verano) (Rivera-Lozano *et al.*, 2011). Sin embargo, algunas cabras pueden reproducirse durante todo el año (Mellado *et al.*, 2014).

La duración del ciclo estral se define por el intervalo entre dos manifestaciones de estro u ovulaciones sucesivas (Fatet *et al.*, 2011). En la cabra, la duración media es de 21 días pudiendo variar de 18 a 22 dependiendo de la raza, la temporada reproductiva y el medioambiente (Rahman *et al.*, 2008). Se ha reportado la presencia de ciclos estrales menores a 18 días (Greyling, 2000).

Estos ciclos cortos se presentan comúnmente al inicio de la temporada reproductiva, seguidos por ciclos de duración normal (21 días) y se deben a un pobre desarrollo y regresión temprana del cuerpo lúteo (CL) (Camp *et al.*, 1983; Rahman *et al.*, 2008).

Este patrón cíclico de la actividad sexual se alcanza durante la pubertad. La cual, en la hembra, se define como la edad en la que presenta un celo por primera vez (Greyling, 2000). La edad en que inicia la pubertad es de 6 a 8 meses, sin embargo, existen diversos factores como la época del año en que nacen (primavera-verano, otoño-invierno), el peso, la raza, y la presencia permanente de machos que pueden adelantar o atrasar el inicio de la pubertad (Delgadillo *et al.*, 2007; Greyling, 2000).

### **5.2.1. Regulación endocrina del ciclo estral**

La reproducción está regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (HHG; también llamado eje gonadotropico), el cual depende de la interacción de tres grupos de señales: 1) El hipotálamo, que sintetiza y libera la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH); 2) la hipófisis anterior (adenohipófisis) que secreta la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona Luteinizante (LH); y 3) las gónadas que, además de producir los gametos, sintetizan las hormonas esteroideas (Pinilla *et al.*, 2012). En la hembra, el ovario secreta progesterona ( $P_4$ ) y oxitocina del cuerpo lúteo, estradiol ( $E_2$ ) e inhibina del folículo y prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) del útero (Forde *et al.*, 2011).

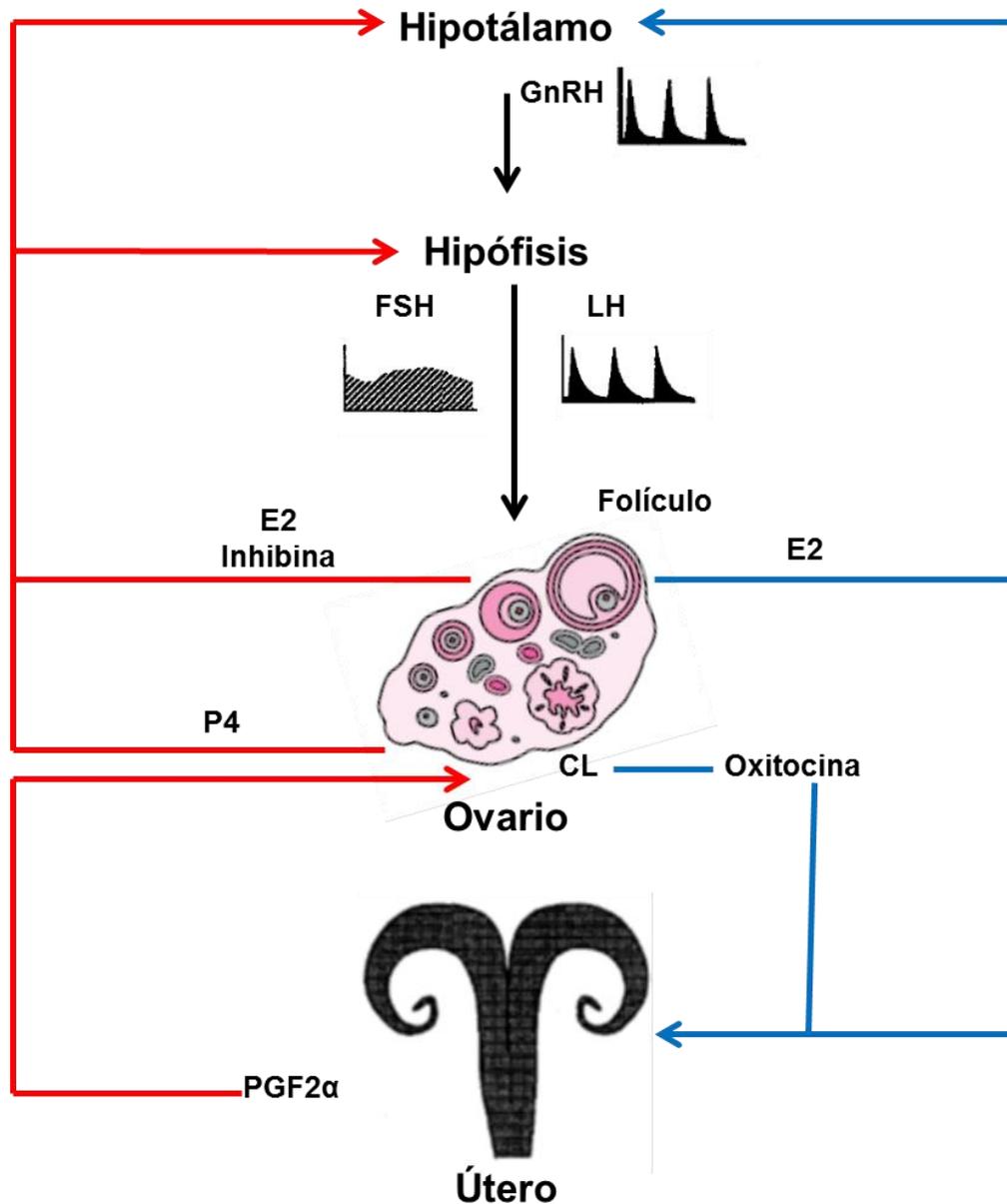
Estos componentes del eje HHG están conectados a través de circuitos de retroalimentación estimulante o inhibitoria, donde la GnRH estimula la secreción de gonadotropinas, que a su vez, promueven la maduración y función de las gónadas que secretan hormonas esteroideas que, dependiendo de la etapa del ciclo estral, estimulan o suprimen la secreción de gonadotropinas (Figura 2; Pinilla *et al.*, 2010). En ausencia de gestación, la oxitocina del cuerpo lúteo

estimula la producción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  del útero, la cual destruye al CL con lo que se inicia un nuevo ciclo estral (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

### **5.2.2. Foliculogénesis**

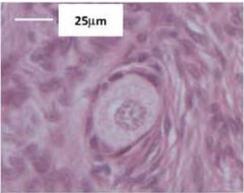
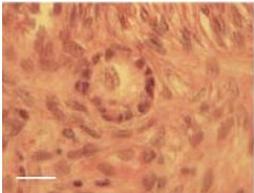
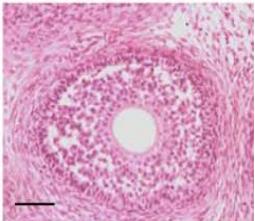
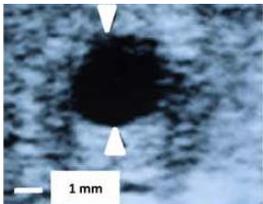
La foliculogénesis es el proceso que conduce a la formación de los folículos y toma lugar durante la vida fetal (Scaramuzzi *et al.*, 2011). Los folículos están formados por células de la granulosa, células de la teca y capilares que rodean al ovocito (Picton, 2001). Durante el periodo fetal, se forman las células germinales primordiales originarias del saco vitelino, que migran hacia las gónadas y después de múltiples divisiones mitóticas se diferencian en ovogonias, las cuales son rodeadas por células del mesonéfros que posteriormente se convertirán en células de la pre-granulosa (van den Hurk y Zhao, 2005). Una vez que la ovogonia se une a las células de la pre-granulosa, entra en meiosis, durante la cual cerca del 80% de ellas experimentan apoptosis (Scaramuzzi *et al.*, 2011). En los mamíferos, entre el 70 y el 99.9 % de los folículos ováricos experimentan atresia y solo unos cuantos ovulan (Yu *et al.*, 2005). Una vez que las ovogonias están rodeadas por las células de la granulosa y se encuentran en la fase de Diploteno de la Meiosis I, se forman los primeros folículos llamados folículos primordiales (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Los folículos pueden ser clasificados de acuerdo a su morfología (Bartlewski *et al.*, 2011) y a su sensibilidad y dependencia a las gonadotropinas (Scaramuzzi *et al.*, 2011). De acuerdo a su morfología (número de capas de células de la granulosa y formación del antro), los folículos son clasificados en primordiales, primarios, preantrales y antrales (Picton, 2001). El tiempo requerido para que un folículo primordial se convierta en antral y ovulé, es de meses a semanas, respectivamente (Driancourt, 2001). En el cuadro 1, se describe la clasificación de los folículos según su morfología.



**Figura 2.** Regulación neuroendocrina del ciclo estral. El ciclo estral es regulado por la interrelación entre las hormonas del hipotálamo (GnRH), la hipófisis (FSH y LH), folículos (Estradiol ( $E_2$ ) e Inhibina), cuerpo lúteo (CL; Progesterona ( $P_4$ ) y oxitocina) y útero (Prostaglandina  $F_{2\alpha}$ ,  $PGF_{2\alpha}$ ) en un circuito de retroalimentación negativa (—) y positiva (—). La GnRH del hipotálamo estimula la secreción de LH y FSH de la hipófisis. Las gonadotropinas estimulan el desarrollo folicular que desencadena la ovulación y la formación del cuerpo lúteo. El folículo produce  $E_2$  e inhibina que suprimen la liberación de FSH. Además, el estradiol estimula la liberación de GnRH la cual desencadena el pico preovulatorio de LH causando la ovulación. En el útero, el  $E_2$  estimula la síntesis de los receptores a oxitocina. Después de la ovulación, el CL secreta  $P_4$  la cual ejerce una retroalimentación negativa sobre la secreción de LH previniendo la ovulación. En ausencia de gestación, el CL secreta oxitocina estimulando la liberación de  $PGF_{2\alpha}$  desencadenando la luteolisis, iniciando un nuevo ciclo estral. Adaptado de Scaramuzzi *et al.*, 1993 y Pinilla *et al.*, 2012.

**Cuadro 1.** Morfología y clasificación de los folículos ováricos.

Imagen de los folículos	Clasificación del folículo	Descripción
	Primordial	Ovocito rodeado por células aplanadas (pre-granulosa)
	Primario	Ovocito rodeado por una capa de células cuboidales (granulosa). Se inicia la formación de la zona pelúcida
	Preantral (secundario)	Ovocito rodeado por múltiples capas de células de la granulosa. Se forma la zona pelúcida. Comienza la diferenciación de las células de la teca
 (Visto con ultrasonido)	Antral (de Graff)	El ovocito está rodeado por múltiples células de la granulosa y las células de la teca se diferencian. Se forma una cavidad central llena de líquido (Antro)

Adaptado de: Picton, 2000 y Bartelewski *et al.*, 2011.

Basados en su respuesta al estímulo de las gonadotropinas, los folículos se clasifican en cinco clases: Primordiales, comprometidos, folículo sensibles a gonadotropinas, folículo dependientes de gonadotropinas y folículo ovulatorio (Sacaramuzzi *et al.*, 2011). Los folículos primordiales y comprometidos son independientes al estímulo de las gonadotropinas y su crecimiento y desarrollo esta mediado por estímulos paracrinos del ovocito (Scaramuzzi *et al.*, 2011; van den Hurk y Zhao, 2005).

El folículo se hace dependiente a gonadotropinas cuando las células de la granulosa y de la teca expresan receptores a FSH y LH, respectivamente (Findlay *et al.*, 1996). Si no reciben un estímulo adecuado de estas hormonas se atresian (Scaramuzzi *et al.*, 2011). Solo los folículos antrales alcanzan esta etapa, los cuales son reclutados durante una oleada folicular y pueden tener el potencial de ovular (Driancourt, 2001). Este desarrollo final, es un proceso dividido en tres fases denominadas: Reclutamiento, selección y dominancia (Rosales-Torres y Guzmán-Sánchez, 2011).

El reclutamiento folicular se refiere al surgimiento de un grupo de folículos de 2 a 4 mm de diámetro en el ovario y es dependiente de FSH (Evans, 2003; Medan *et al.*, 2003). En cabras, el número de folículos reclutados durante una oleada folicular es en promedio de seis folículos (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2006; Nogueira *et al.*, 2015). Los folículos reclutados tienen altas concentraciones de la enzima aromatasa en sus células de la granulosa, la cual convierte los andrógenos producidos por las células de la teca a E<sub>2</sub> (van den Hurk y Zhao, 2005). Esta habilidad para producir estradiol habilita al folículo para responder al estímulo de FSH y por lo tanto ser reclutado (Rosales-Torres y Guzmán-Sánchez, 2011).

Durante la selección folicular uno o más folículos de 4 mm reclutados son elegidos para continuar creciendo (Fatet *et al.*, 2011). El número de folículos que son seleccionados y se convierten en dominantes es específico de especie y es cercano al número de crías (Evans, 2003). La selección toma lugar durante la disminución de los niveles de FSH (van der Hurk y Zhao, 2005). Esta caída en los niveles de FSH se debe al incremento en los niveles de E<sub>2</sub> e inhibina producidos por los folículos >5 mm de diámetro, que ejercen una retroalimentación negativa sobre la hipófisis y por esta razón los demás folículos reclutados se atresian (Driancourt, 2001). Además, los folículos seleccionados tienen más receptores a LH en las células de la teca y granulosa que aquellos que no, y de esta manera pueden continuar creciendo sin el estímulo de FSH (Rosales-Torres y Guzmán-Sánchez, 2011). Este cambio de

FSH a LH hace que él o los folículos seleccionados continúen creciendo hasta alcanzar un tamaño de 7 mm y se convierta en dominante (Nogueira *et al.*, 2015) .

El folículo dominante produce grandes cantidades de estradiol e inhibina bajo el estímulo de LH (Driancourt, 2001). El factor de crecimiento insulínico (IGF-1) y al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), estimulan la inducción de receptores a LH y la angiogénesis del folículo dominante, por lo que maximizan la entrega de gonadotropinas y es por esta razón, que el folículo dominante producirá mayores cantidades de E<sub>2</sub> e inhibina (Driancourt, 2001; Rosales-Torres y Guzmán-Sánchez, 2012). La dominancia en cabras no es tan absoluta como en las especies mono-ovulares, sin embargo, el mecanismo es similar a pesar de que en cabras dos folículos tengan el potencial de ovular en vez de uno (Rubianes y Menchaca, 2003).

### **5.2.3. Dinámica Folicular**

Una oleada folicular se define como la emergencia de un grupo de folículos antrales de 3 mm de diámetro, de los cuales uno o dos de ellos serán seleccionados para crecer más de 5 mm de diámetro (Ginther y Kot, 1994; Rubianes y Menchaca, 2003). En las cabras, se presentan cuatro oleadas foliculares en promedio durante un ciclo estral de 21 días (Nogueira *et al.*, 2015). La emergencia de las oleadas uno, dos, tres y cuatro (oleada ovulatoria) ocurre los días 0, 5-6, 10-11 y alrededor del día 15 después de la ovulación (Rubianes y Menchaca, 2003). El nacimiento de una nueva oleada también se ve reflejado en el número de folículos pequeños (3 mm) en el ovario, ya que los días 0, 5, 12 y 15 del ciclo estral, es mayor (Yu *et al.*, 2005). El crecimiento de los folículo entre el día de la emergencia (primer día con tamaño de 3 mm) y el día en que alcanza su máximo tamaño (6 - 9 mm) es de 1 mm por día (Evans, 2003; Ginther y Kot, 1994). Esta dinámica folicular también se presenta durante la temporada de anestro (Nogueira *et al.*, 2015)

Durante la emergencia de cada oleada folicular, los niveles plasmáticos de FSH se incrementan (Medan *et al.*, 2005). Este incremento en la FSH causa el reclutamiento de los folículos al comienzo de cada oleada folicular además de estimular el crecimiento y selección de los mismos (Ganguly *et al.*, 2013). Conforme los folículos crecen, secretan mayores cantidades de E2 e Inhibina las cuales inhiben la secreción de FSH y causan la atresia de los folículos subordinados (Medan *et al.*, 2005). Las cabras con cuatro oleadas durante el ciclo están tienen mayores niveles de progesterona que aquellas que tienen dos a tres oleadas (Rubianes y Menchaca, 2003). Este efecto se debe a que la progesterona inhibe la pulsatilidad de la LH y por lo tanto los niveles de estradiol, permitiendo así un nuevo pico de FSH la cual promueve el reclutamiento de los folículos y con ellos, una nueva oleada (Rubianes y Menchaca, 2003).

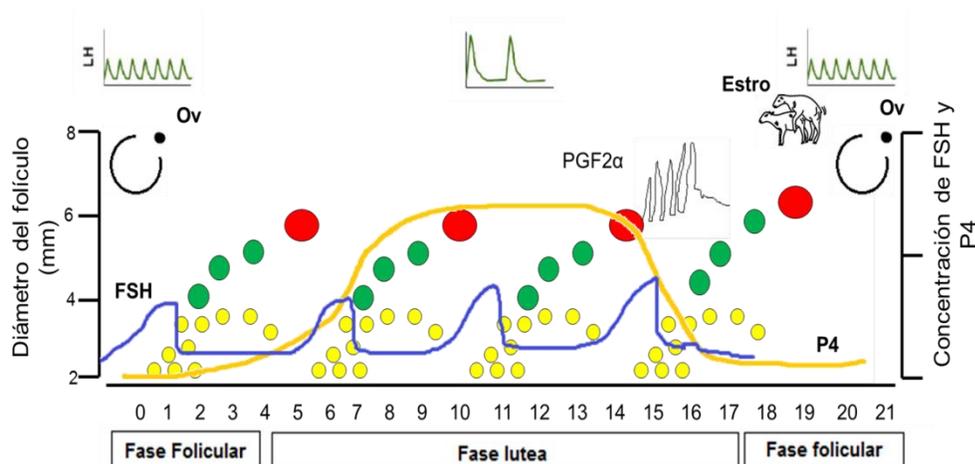
#### **5.2.4. La progesterona y el desarrollo folicular**

El efecto de la P<sub>4</sub> sobre el desarrollo y crecimiento folicular es dependiente de la cantidad de P<sub>4</sub> alcanzada durante la fase lútea (de Castro *et al.*, 1999). Estos autores encontraron que las cabras con mayores concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> durante la fase lútea tenían cuatro oleadas foliculares, mientras que aquellas con niveles más bajos presentaban solo tres. Además, las altas concentraciones al inicio de la fase lútea aceleran el surgimiento de una nueva oleada folicular (Rubianes y Menchaca, 2003). Esto también ha sido comprobado durante el anestro estacional, ya que cuando se administra P<sub>4</sub> ya sea en dispositivo vaginal por seis días o una aplicación de 25 mg IM, antes de la eCG o “efecto macho”, se inicia rápidamente el surgimiento de una nueva oleada folicular acompañada por manifestación del celo y ovulación (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2006; Vilariño *et al.*, 2011) . Sin embargo, niveles menores a 1 ng/mL por periodos prolongado promueven la persistencia del folículo dominante provocando baja fertilidad (Menchaca y Rubianes, 2004). El surgimiento de una nueva oleada folicular al inicio de la fase lútea o después de

un tratamiento de  $P_4$ , puede deberse a que la  $P_4$  estimula la síntesis de receptores  $FSH\beta$  en la pituitaria y a que fármacos antagonistas a  $P_4$  bloquean la secreción de FSH (Thackray *et al.*, 2010).

### 5.2.5. Fases del ciclo estral

El ciclo estral consta de dos fases: la fase lútea (15 días) y la fase folicular (4-6 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 (proestro y estro) mientras que, la fase lútea sigue a la ovulación cuando el CL se forma (metaestro y diestro; Forde *et al.*, 2011). En la Figura 3 se esquematizan las fases del ciclo estral y su relación con la dinámica folicular y las hormonas.



**Figura 3.** Fases del ciclo estral y dinámica folicular. Reclutamiento (●), selección (●), dominancia (●) y ovulación (Ov). Basado de: Driancourt, 2000; Medan *et al.*, 2005; Fatet *et al.*, 2011; Forde *et al.*, 2011; Rosales-Torres y Guzmán-Sánchez, 2012.

#### 5.2.5.1. Fase folicular

En la fase folicular los niveles de progesterona se encuentran por debajo de 1 ng/mL debido a la lisis del CL y su duración es de aproximadamente seis días (Bono *et al.*, 1983; de Castro *et al.*, 1999). Esto permite que durante la fase folicular el folículo ovulatorio madure y produzca mayores cantidades de

estradiol provocando la manifestación del celo y ocurra la ovulación liberando al ovocito en el oviducto, donde será fecundado (Forde *et al.*, 2011).

El incremento en los niveles de E<sub>2</sub> producido por el folículo dominante, desencadena el estro y el pico preovulatorio de LH (Saïd *et al.*, 2007). Durante el estro, la cabra se encuentra inquieta, emite vocalizaciones, realiza conductas de cortejo hacia otras hembras y permanece inmóvil cuando el macho la monta (Fabre-Nys y Gelez, 2007). Esta fase de receptividad sexual dura de 24 a 48 h, no obstante, diversos factores como la raza, la edad y la copula afectan su duración (Romano y Benech, 1996). El día del estro, los niveles de E<sub>2</sub> alcanzan los 24 ± 5 pg/mL (Leyva-Ocariz *et al.*, 1995). Este incremento de E<sub>2</sub> estimula la liberación de GnRH por el Hipotálamo, que en turno, induce el pico preovulatorio de LH, el cual causa la ovulación y la subsecuente formación del cuerpo lúteo (Kawate *et al.*, 2000; Saïd *et al.*, 2007). El intervalo entre el inicio del estro y el pico preovulatorio de LH es de 12 h cuyos niveles durante el pico son de 60 ± 3.5 ng/mL (Simões *et al.*, 2008). La ovulación en las cabras ocurre al final del estro, 20 h después del pico de LH (Greyling, 2000).

La ovulación es la ruptura del folículo ovulatorio con la liberación de su contenido el cual incluye al ovocito, células del cumulus (granulosa) y líquido folicular (Rahman *et al.*, 2008). El número de folículos ovulados o tasa ovulatoria durante el estro, es el principal determinante de la prolificidad en los animales (Findlay *et al.*, 1996). Generalmente, las cabras ovulan de uno a dos ovocitos sin embargo, la nutrición así como la raza afectan la tasa ovulatoria (Amoah *et al.*, 1996; Fitz-Rodríguez *et al.*, 2009). En cabras bien alimentadas, la tasa ovulatoria es de 2.0 ± 0.1 mientras que aquellas que no recibieron ningún tipo de suplementación la tasa ovulatoria fue menor (1.6). Así mismo, en cabras Boer y Toggenburg se reporta una tasa ovulatoria de 1.72 ± 0.9, mientras que en cabras Pygmeas, el número de cabritos nacidos es de tres (Amoah *et al.*, 1996; Greyling, 2000; Sousa *et al.*, 2011).

### 5.2.5.2. Fase lútea

Después de que ocurre la ovulación y se forma el CL, comienza la fase lútea (Fatet *et al.*, 2011). El CL se forma a partir de las células de la granulosa y de la teca del folículo ovulatorio, bajo el estímulo de LH que es esencial para la diferenciación celular y el crecimiento del CL (Bartlewski *et al.*, 2011; Niswender *et al.*, 2000). Una vez formado, la principal función del CL es producir  $P_4$  para el mantenimiento de la gestación y la manifestación del estro (Fabre-Nys y Gelez, 2007). Además, la  $P_4$  bloquea la síntesis y secreción de GnRH y LH, y bloquea los receptores a  $E_2$  por lo que durante la fase lútea no se manifiesta el celo ni ocurre la ovulación (McCracken *et al.*, 1999; Thackray *et al.*, 2010). El CL es detectado mediante ultrasonografía tres días después de la ovulación (día 0 del ciclo estral), alcanzando su máximo tamaño ( $13.5 \pm 0.8$ ) entre el día ocho y 14 del ciclo estral (de Castro *et al.*, 1999). Está formado por cuatro tipos de células: Células lúteas pequeñas y grandes, formadas a partir de las células de la granulosa y de la teca, respectivamente, fibroblastos y células endoteliales (capilares) (Niswender *et al.*, 2000; Bartlewski *et al.*, 2011). Las células lúteas grandes secretan la mayor cantidad de  $P_4$ , cuyos niveles comienzan a incrementarse a partir del día uno del ciclo estral alcanzando su máximo nivel ( $5.9 \pm 0.4$  ng/mL) el día 10 del ciclo (Chemineau *et al.*, 2006; de Castro *et al.*, 1999). La concentración sérica de  $P_4$  comienza a declinar a partir del día 15 del ciclo estral y alcanza su nivel basal ( $<1.0$  ng/mL) 24 a 48 h antes del estro y permanece así durante seis días (Bono *et al.*, 1983; de Castro *et al.*, 1999).

La disminución en los niveles de  $P_4$  al final de la fase lútea se debe a la destrucción del CL o luteolisis por parte de la  $PGF_{2\alpha}$ , la cual, es sintetizada por las células endometriales del útero a partir de ácido araquidónico, el cual es convertido a  $PGF_{2\alpha}$  por las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2, cuya estimulación está a cargo del  $E_{2\beta}$  y oxitocina (McCracken *et al.*, 1999). La  $PGF_{2\alpha}$  es secretada de manera pulsátil los días 16 a 18 del ciclo estral, alcanza el CL a través de un sistema de contra corriente entre la vena uterina y la arteria ovárica y ejerce la lisis del cuerpo lúteo al unirse a los receptores de las células lúteas grandes, a partir del 4° al 16° día del ciclo estral (Romano, 1998;

McCracken *et al.*, 1999; Niswender *et al.*, 2000; Forde *et al.*, 2011). La luteolisis inducida de manera natural y por lo tanto, la disminución de la P<sub>4</sub>, se logra 72 horas después de la liberación de PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , mientras que, si se emplean análogos sintéticos de PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  la lisis del CL se logra 6 a 24 h (Fierro *et al.*, 2013). Esto remueve la inhibición de la secreción de GnRH y LH por parte de la P<sub>4</sub> e inicia una nueva fase folicular (Fatet *et al.*, 2011).

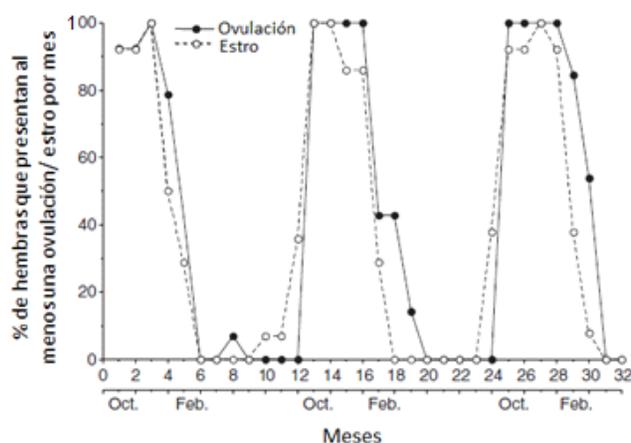
### 5.3. Estacionalidad de la actividad sexual

La reproducción en las cabras es descrita como estacional y el inicio y 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. La estacionalidad reproductiva existe en todas las latitudes, incluso en los trópicos y permite a los mamíferos reproducirse en un momento determinado del año (Bronson, 2009). Muchas especies de rumiantes presentan un patrón estacional en su reproducción como una estrategia desarrollada para garantizar que el nacimiento de sus crías ocurra en la temporada en la cual existan mayor disponibilidad de recursos y así, maximizar la sobrevivencia y el crecimiento de éstas (Zerbe *et al.*, 2012).

En las cabras originarias o adaptadas a latitudes templadas (>40°), la frecuencia de ovulaciones y de conducta estral, incluso con buena condición corporal, presentan un periodo de reposo sexual o anestro de 0% durante la primavera y el verano y del 100% en el otoño e invierno (Chemineau *et al.*, 2008). En los machos alpinos, la estación reproductiva comienza al inicio del verano y termina al final del invierno (Leboeuf *et al.*, 2008). Si bien, la espermatogénesis y el comportamiento sexual no se detienen, si decrecen durante la temporada no reproductiva (Chemineau *et al.*, 2008).

En las latitudes subtropicales, las cabras nativas son estacionales en su actividad sexual (Duarte *et al.*, 2008). En estas regiones, la actividad sexual se extiende de septiembre a febrero en el hemisferio Norte y de marzo a septiembre en el

hemisferio Sur (Duarte *et al.*, 2008; Rivera *et al.*, 2003). Sin embargo, algunas cabras presentan ciclos estrales al final de la primavera y el invierno (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). Del mismo modo, los machos cabríos nativos o adaptados a estas latitudes también muestran un patrón estacional en la calidad espermática, libido y peso testicular que se extiende de enero a julio (Carrillo *et al.*, 2010; Delgadillo *et al.*, 1999)



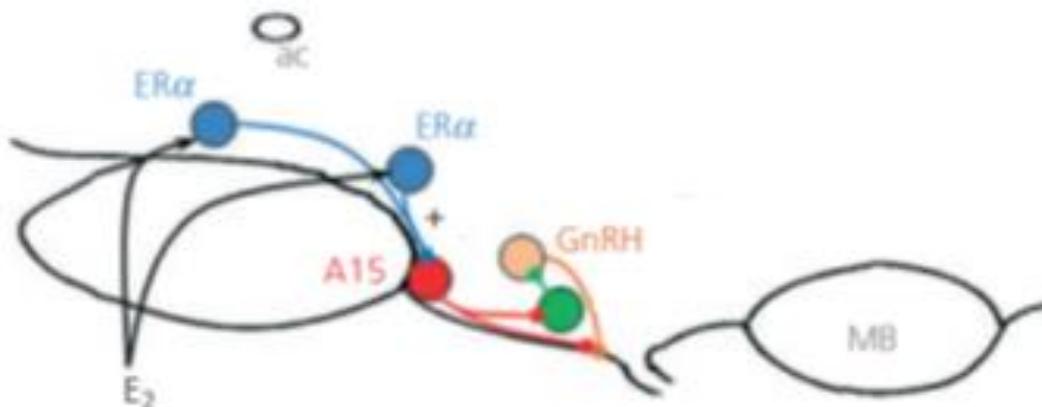
**Figura 4.** Variación estacional de las ovulaciones y conducta estral en cabras alpinas. Adaptada de Chemineau *et al.*, 2008.

Las cabras nativas de las regiones tropicales, no presentan estacionalidad en su actividad sexual o solo existen cortos periodo de anestro (Chemineau *et al.*, 2004), asociados a la época calurosa (Navanukraw *et al.*, 2014). Las concepciones se presentan todos los meses del año, con periodos de alta fertilidad, relacionados a la disponibilidad de alimento (Chemineau, 1993).

### 5.3.1. Mecanismos neuroendocrinos de la estacionalidad sexual

La mayoría de las investigaciones sobre la regulación neuroendocrina de la estacionalidad se han hecho en ovejas (Chemineau *et al.*, 2008). Durante el

anestro estacional, existen pocos pulsos de LH en un periodo de 24 h que se mantienen así durante el anestro y es responsable de la baja actividad sexual en este periodo (Gallegos-Sánchez *et al.*, 1998). Esta variación estacional en la pulsatilidad de LH se debe a un incremento de la retroalimentación negativa del E<sub>2</sub> sobre el hipotálamo inhibiendo la frecuencia de los pulsos de LH (Gallegos-Sánchez *et al.*, 1998). El estradiol estimula a un grupo de neuronas localizadas en el área retroquiasmática del hipotálamo denominadas A15, las cuales secretan dopamina (DA) considerada como un neurotransmisor inhibitorio de la GnRH (Thiéry *et al.*, 2002); Goodman *et al.*, 2010). A pesar de que el E<sub>2</sub> estimula a las neuronas A15 en el anestro, ellas no presentan receptores a E<sub>2α</sub> (ERα), responsable del mecanismo inhibitorio en ratones y ovejas, por lo que se piensa que existen neuronas con ERα en el área retroquiasmática y preóptica media, que envían sus axones a las neuronas A15 estimulándolas (Goodman *et al.*, 2010; Figura 5).



**Figura 5.** Mecanismo inhibitorio del estradiol sobre el hipotálamo. Las neuronas sensibles a E<sub>2</sub> (azul) en el área preóptica media y retroquiasmática envían señales aferentes a las neuronas A15 que secretan dopamina (DA) (rojo) que inhibe la secreción de GnRH (café). MB; hipotálamo mediobasal. Adaptado de Goodman *et al.*, 2010.

El cambio estacional en la sensibilidad del hipotálamo al E<sub>2</sub> se debe a cambios morfológicos a nivel cerebral mediados por la hormona tiroidea T<sub>3</sub>, ya que esta

afecta la expresión y sensibilidad de los genes que sintetizan los receptores a  $E_2$  (Yasuo *et al.*, 2006). Esto concuerda con lo revisado por Thiery *et al.* (2002) quienes mencionan que en los días largos hay un mayor número de  $ER\alpha$  en el área preóptica media del hipotálamo, lugar donde se concentran el 60 % de las neuronas que sintetizan y secretan GnRH. Todos estos cambios a nivel cerebral, están mediados por la melatonina, quien actúa sobre la *pars tuberalis* donde la prohormona  $T_4$  es convertida a  $T_3$  (Ebling, 2010).

### **5.3.2. Factores que modulan la estacionalidad**

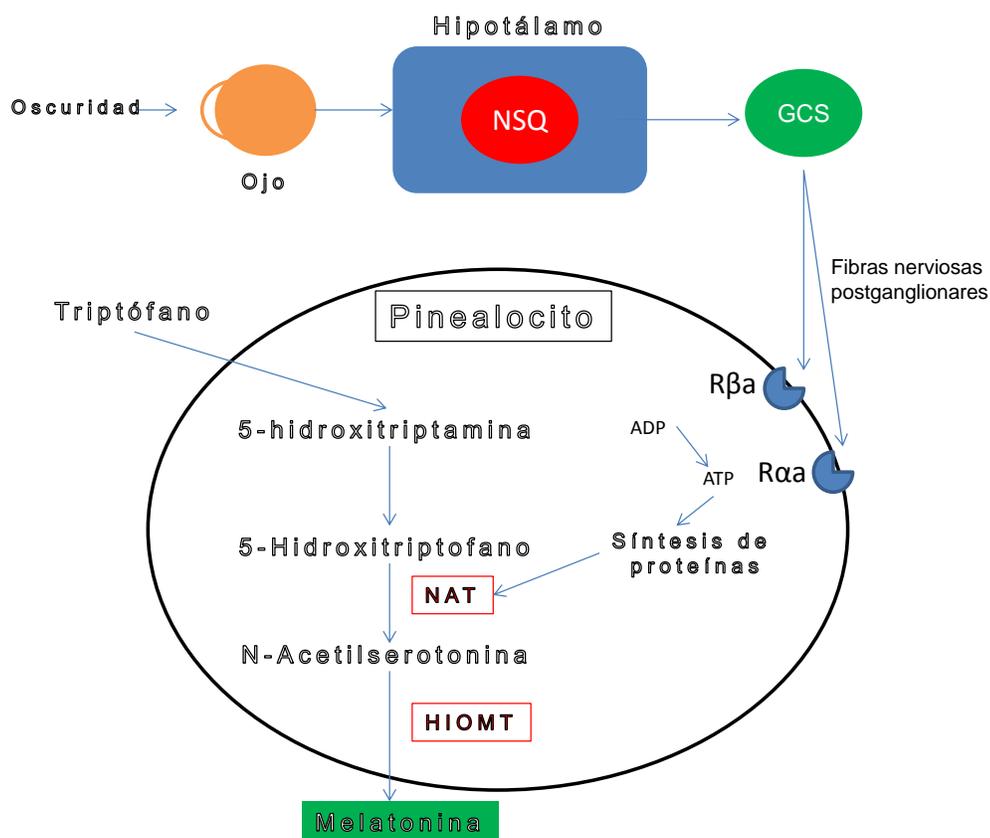
Existen diversas señales que las especies emplean para medir los cambios en el medio ambiente y dependiendo de la latitud donde se encuentren, algunas toman mayor importancia que otras (Martin *et al.*, 1994). El reloj endógeno ayuda a anticipar los cambios en el medio ambiente y prepara a los animales para afrontarlos (Rani y Kumar, 2014). Este reloj predice los cambios de un periodo cercano a un año por lo que es llamado reloj circanual (*circa*=cerca; *annum*=año) y es sincronizado por señales externas del medio ambiente (Rani y Kumar, 2014). La vía neuroendocrina común de estas señales, son las neuronas en el hipotálamo que secretan GnRH la cual, controla la función de las gónadas (Bronson, 2009). Algunas de estas señales son la duración del día (fotoperiodo), la disponibilidad de alimento y las relaciones socio-sexuales (Bronson, 2009). Sin embargo, el fotoperiodo es la señal más importante y confiable para predecir los cambios en el medio ambiente (Rani y Kumar, 2014).

#### **5.3.2.1. Fotoperiodo**

Las cabras se consideran reproductoras de días cortos debido a que, bajo condiciones de laboratorio, los días cortos estimulan y los días largos suprimen la actividad sexual (Delgadillo *et al.*, 2011). La respuesta de los mamíferos al fotoperiodo no se basa solo en la duración del día sino también en la historia fotoperiódica del animal, es decir, un mismo fotoperiodo (número de horas luz)

puede inducir o suprimir la actividad sexual si antes le fue dado un régimen de luz superior o inferior previo (Malpaux *et al.*, 2001).

La información fotoperiódica es transducida en un ciclo diario de secreción de melatonina por la glándula pineal (Yasuo *et al.*, 2006). La señal luminosa recibida por los ojos, es transmitida a la glándula pineal a través del núcleo supraquiasmático (NSC) (Ikegami y Yoshimura, 2012). La melatonina es secretada durante la noche, alcanzando un nivel de  $55.8 \pm 2.3$  pg/mL (Zarazaga *et al.*, 2010). Sin embargo, es la duración de la secreción (tiempo con los niveles elevados) lo que determina la información fotoperiódica (Malpaux *et al.*, 2001). La melatonina es sintetizada a partir del triptófano por una serie de enzimas (Figura 6) de las cuales, la *N*-acetil transferasa (NAT) se incrementa de 30 a 70 veces durante la noche siendo la más importante para la producción de la melatonina (Arendt, 1998).



**Figura 6.** Diagrama de los principales mecanismos responsables de la síntesis de melatonina. La ausencia de luz es percibida por el ojo, el cual envía impulsos eléctricos al núcleo

supraquiasmático (NSQ). De ahí la señal pasa al ganglio cervical superior (GCS) donde a través de fibras nerviosas estimula a los receptores adrenérgicos  $\alpha$  y  $\beta$  en el pinealocito para la síntesis de melatonina a través de la enzima N-acetiltransferasa (NAT). HIOMT, hidroxindol-O-metiltransferasa. Adaptado de Arendt, 1998.

La melatonina se une a diversas áreas en el cerebro como las áreas corticales, el hipocampo, el área preóptica, el hipotálamo anterior, el núcleo mamilar y la *pars tuberalis* a través de sus receptores MTNR1A y MTNR1B y es en esta última donde la melatonina regula la estacionalidad al estimular la producción de hormona estimulante de la tiroides por la *pars tuberalis*, quien regula la expresión genética de las enzimas deiodinasa tipo 2 (DIO2) y 3 (DIO3), las cuales determinan la disponibilidad de  $T_3$  a nivel central (Ebling, 2010; Lai *et al.*, 2013). Como se mencionó anteriormente, la disponibilidad de  $T_3$  a nivel central juega un papel importante en la regulación estacional del eje HHG. La DIO2 convierte la  $T_4$  a su forma activa  $T_3$  y la DIO3 cataliza la conversión de  $T_3$  a  $T_2$  y el balance de estas dos enzimas determina la disponibilidad de  $T_3$  dentro del hipotálamo (Barret *et al.*, 2007). En la cabra, la expresión genética de DIO2 es mayor durante los días cortos y es suprimida por los días largos, por lo que el cambio estacional en la expresión de DIO2 a nivel central sería el responsable de la estacionalidad (Barret *et al.*, 2007).

#### **5.3.2.2. Nutrición**

Si bien, en muchas especies estacionales el fotoperiodo es el principal regulador de la actividad sexual, la nutrición es un modulador de la respuesta al fotoperiodo y el inicio de la actividad sexual. En cabras alimentadas con una dieta alta en energía se adelanta el inicio y se prolonga la actividad sexual (Zarazaga *et al.*, 2005). Así mismo, cabras con una condición corporal baja (<2; escala 1-4 puntos) el inicio de la actividad sexual se atrasa y es de menor duración que en aquellas con una condición corporal mayor a 2.5 puntos (De Santiago-Miramontes *et al.*, 2009).

El mecanismo responsable a través del cual la alimentación prolonga la actividad sexual puede deberse a un efecto directo sobre la secreción de LH y a

una mayor secreción de Leptina (Urrutia-Morales *et al.*, 2009). La Leptina es una proteína de 21 aminoácidos secretada por el tejido adiposo que indica el estado nutricional del animal y actúa directamente sobre las neuronas-GnRH estimulando la liberación de LH (Barb y Kraeling, 2004). Por otra parte, la glucosa e insulina también indican el estado nutricional a nivel central, mientras que el IGF-1 a nivel ovárico (Chilliard *et al.*, 1998). La glucosa es indispensable para la generación de energía a través del ATP para un sinnúmero de procesos corporales incluido la reproducción, por lo que un déficit de energía ya sea por una baja ingesta de alimentos o por un mayor gasto (al caminar, ejercicio o búsqueda de comida) provoca una disminución en la secreción de gonadotropinas (Blache *et al.*, 2008).

#### **5.4. Control hormonal del ciclo estral**

La estacionalidad en la reproducción caprina es un problema para los caprinocultores debido a que obstaculiza los programas de mejoramiento genético, limita el acceso a mercados más favorables para los productores y restringe la integración de los partos a otras actividades dentro de la granja (Holtz, 2005). Las técnicas empleadas para controlar el ciclo estral en las cabras permite una mayor distribución de la producción de leche y carne satisfaciendo las necesidades de la industria (Holtz, 2005) además, La sincronización del estro y la ovulación es primordial para la diseminación de otras tecnologías reproductivas tales como la inseminación artificial (IA), superovulación y transferencia de embriones (SOTE), sin importar la época del año (Baldassarre y Karatzas, 2004).

Existen múltiples tratamientos hormonales para inducción y sincronizar el estro y la ovulación durante el anestro estacional los cuales están basados en los mecanismos fisiológicos del ciclo estral y se centran en la manipulación de las fases folicular y lútea del ciclo estral (Wildeus, 2000; Menchaca y Rubianes, 2004; Abecia *et al.*, 2012). La administración de progesterona y PGF<sub>2α</sub> simulan

o modifican la fase lútea, mientras que las gonadotropinas estimulan el crecimiento folicular (Abecia *et al.*, 2012).

#### **5.4.1. Prostaglandinas (PGF<sub>2α</sub>)**

Durante la época natural de reproducción el estro puede ser controlado al acortar la duración de la fase lútea al lisis el CL (Esteves *et al.*, 2013). La PGF<sub>2α</sub>, así como sus análogos son agentes luteolíticos que inducen la lisis del CL entre los días 4 y 16 del ciclo estral (Romano, 1998). Esta es administrada dos veces en un intervalo de 10 a 11 días (Riaz *et al.*, 2012). Mellado *et al.* (1994) menciona que la dosis mínima efectiva de PGF<sub>2α</sub> es de 4 mg (Lutalyse®) y que la vía de administración, intramuscular vs labios vulvares, no influye sobre la respuesta estral. Romano (1998) menciona que la respuesta estral en la primera inyección de PGF<sub>2α</sub> sin conocer la fase del ciclo estral es de 50% mientras que en la segunda, la respuesta estral es del 87.5 %, con un intervalo al estro de 52.3 ± 1.9 h. Sin embargo, Esteves *et al.* (2013) no encontró diferencias en la respuesta estral entre una aplicación y la otra (76 %).

La PGF<sub>2α</sub> también se ha utilizado con el “efecto macho” durante el anestro (López-Sebastian *et al.*, 2007). Este protocolo (IMA-PRO2®) consiste en la administración de 25 mg de P<sub>4</sub> al momento de introducir los machos a un grupo de cabras anovulatorias y nueve días después del “efecto macho”, una dosis única de 75 µg de cloprostenol (PGF<sub>2α</sub>). Este protocolo induce el celo en el 87.5 % de las cabras tratadas con un intervalo de 37 ± 1.4 h y el pico de LH después de la administración del cloprostenol se presenta a las 40.5 ± 1.6 h).

#### **5.4.2. Tratamientos a base de progesterona**

La progesterona puede ser empleada tanto en la temporada reproductiva como en el anestro por lo cual, los tratamientos a base de progesterona o sus análogos son los más utilizados (Holtz, 2005). En el cuadro 1 se resumen los

principales tratamientos a base de progesterona con días de duración, tratamiento conjunto y algunas variables de la respuesta reproductiva.

Los análogos de progesterona más empleados son los elaborados a base de acetato de fluorogestona (FGA) y medroxiprogesterona (MAP), administrados en esponjas que se colocan en la vagina de la cabra (Romano, 2004). Estas esponjas pueden tener 30 a 45 mg de FGA y 20, 45 y 60 mg de MAP (Freitas *et al.*, 1997; Lebouef *et al.*, 2003; Fonseca *et al.*, 2005b; Karaca *et al.*, 2010). Los dispositivos intravaginales hechos de silicón (CIDR) están impregnados con 0.3 g de progesterona (CIDR). Este tipo de dispositivos ofrecen la ventaja de que pueden ser reutilizados para sincronizar el estro hasta por tres veces sin afectar la respuesta estral (Vilariño *et al.*, 2011). No obstante, la inserción de la esponja o el CIDR inducen la aparición de vaginitis en las cabras (Martins *et al.*, 2010; Penna *et al.*, 2013). Una manera práctica de suministrar la progesterona sin los efectos secundarios de las esponjas son los implantes subcutáneos a base de norgestomet (6 mg) y en cabras Mellado y Valdez (1997) menciona que dosis de 1.5 mg son suficientes para inducir el estro. La P<sub>4</sub> también puede ser administrada en el alimento. El análogo utilizado en este tipo de formulaciones es el acetato de melengestrol (MGA) que es dado en dosis de 0.25 mg/cabra al día (Jackson *et al.*, 2006).

A pesar de la diversidad de productos, diversos estudios han demostrado la eficacia de estas formulaciones para inducir el estro y la ovulación en cabras y ovejas dentro y fuera de la temporada reproductiva (Freitas *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 2001; Romano, 2004; Hashemi *et al.*, 2006). Sin embargo, Romano (2004) menciona que las cabras tratadas con FGA presentan conducta estral antes que las tratadas con CIDR o MAP, debido a diferencias en la absorción y metabolismo de cada progestágeno. Además menciona, que el CIDR presenta una mejor sincronización ya que el 79 % de las cabras tratadas mostraron conducta estral entre las 33 y 44 h después de retirar el dispositivo.

La duración de los tratamientos a base de progesterona, sin importar la dosis o la naturaleza de esta, son de 12 a 14 días sincronizando de manera eficiente el

estro (Martemucci y D'Alessandro, 2010). Sin embargo, se ha reportado que estos tratamientos causan baja fertilidad, atribuida a la pobre calidad del ovocito y a la reducción del transporte espermático en el aparato genital de la hembra (Viñoles *et al.*, 1999; Martemucci y D'Alessandro, 2010). Además, los residuos hormonales que pudiera dejar el uso prolongado de P<sub>4</sub> en la carne y leche, han enfocado los esfuerzos en el desarrollo de protocolos de sincronización cortos o eliminar su uso (Martemucci y D'Alessandro, 2010).

En este sentido y con el conocimiento actual de la dinámica folicular, se han desarrollado protocolos de 5 a 7 días de duración en cabras y ovejas con más del 90 % de respuesta estral tanto en el anestro como en la época natural de reproducción y tasas de concepción de 60 % (Menchaca y Rubianes, 2004). Recientemente, Rodríguez-Martínez *et al.* (2013) demostraron la efectividad de la aplicación de una dosis única de P<sub>4</sub> (25 mg) IM más eCG para inducir la actividad sexual en 97% cabras anovulatorias tratadas.

#### **5.4.3. Progesterona, gonadotropinas y estradiol**

Los tratamientos a base de progesterona, deben ir acompañados de gonadotropinas como gonadotropina coriónica equina (eCG), gonadotropinas coriónica humana (hCG), GnRH, FSH o estradiol, aplicadas al final del tratamiento y particularmente durante el anestro, para estimular el desarrollo folicular y la ovulación (Wildeus, 2000; Menchaca y Rubianes, 2004; Whitley y Jackson, 2004; Holtz, 2005; Menchaca *et al.*, 2007).

#### **5.4.4. Gonadotropina coriónica humana (hCG)**

La hCG es producida por las células del trofoblasto del embrión humano a las tres o cuatro semanas de gestación y su principal función es estimular la producción de progesterona por el CL, inhibe las contracciones uterinas, bloquea la respuesta inmune uterina y promueve el crecimiento fetal (Cole, 2010). Pertenece a un grupo de hormonas glucoproteicas que incluye a la LH,

FSH y la hormona estimulante de la tiroides (TSH) (De Rensis *et al.*, 2010). Todas ellas tienen dos subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , la subunidad  $\alpha$  es común a todas las hormonas, mientras que la subunidad  $\beta$  es única en cada una de ellas y es la responsable de su actividad biológica (De Rensis *et al.*, 2010). La subunidad  $\beta$  de la hCG es similar a la LH y comparten el mismo receptor, por lo cual es utilizada en los animales además de su prolongada vida media que permite un mayor estímulo de LH más prolongado (De Rensis *et al.*, 2010). En cabras, la tasa de absorción, después de administrarla por vía IM, es de 11.6 h con una vida media de 39.4 h (Saleh *et al.*, 2012).

Debido a su efecto LH en las células del ovario, la gonadotropina coriónica humana ha sido utilizada en cabras para diversas funciones como: Inducir el estro durante el anestro estacional y postparto (Fonseca *et al.*, 2005; Kawate *et al.*, 2002), sincronizar la ovulación después de un protocolo de estimulación con eCG (Saleh *et al.*, 2012) y mantener los niveles de P4 elevados después de la ovulación (Saharrea *et al.*, 1998; Lashari y Tasawar, 2010). Los rangos de dosis para estas funciones varían de 250 a 1000 UI de hCG (Cuadro 2).

Fonseca *et al.* (2005) compararon la eficacia de hCG para inducir el estro en cabras anestrícas vs eCG sin encontrar diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre la respuesta estral, intervalo al estro y gestación obteniendo una respuesta estral de 75 %, el intervalo al estro fue de  $46 \pm 8.4$  h y la gestación de 61 % al aplicar 250 UI de hCG. Esta respuesta es similar a lo reportado por Navanukraw *et al.* (2014) en cabras cíclicas con 300 UI. En este estudio el intervalo al estro fue de  $36 \pm 1.9$  h y la ovulación ocurrió  $64.5 \pm 1.3$  h después de retirar el dispositivo. En Japón, Kawate *et al.* (2002) determinaron el efecto de dosis bajas de hCG en la inducción del celo fértil en cabras Shiba ( $35.8 \pm 2.1$ ) durante el periodo postparto. Estos autores dieron un pre tratamiento con P4 (CIDR; 0.3 g) durante siete días después del cual aplicaron hCG subcutánea (1 UI/kg) cada 12 horas las cuales, necesitaron al menos tres aplicaciones para manifestar comportamiento estral ( $31.2 \pm 1.2$  h) de tal modo que la dosis mínima requerida para manifestar estro fue de 100 UI.

**Cuadro 2.** Principales características de los protocolos de inducción y sincronización del estro en cabras anovulatorias con progesterona y gonadotropinas.

Progesterona	Duración (d)	Tratamiento conjunto	n	Estro %*	Monta/ IA	Fertilidad %**	Prolificidad	Referencia
MAP (60 mg)	6	22.5µ de cloprostenol al momento de poner la esponja; 250 UI de hCG 24 h antes de retirar la esponja	24	75	Monta	61	-----	Fonseca et al., 2005
FGA	5	100 µg al poner la esponja; 200 UI de eCG al retirarla	15	92.3	Monta	92.3	-----	Martemucci y D'Alessandro, 2011
CIDR (0.3 mg)	5	10 mg de Dinoprost (PGF2?) al momento y; 300 UI de eCG al retirar el CIDR	10	100	IA	75.3	-----	Vilaríño et al., 2011
MAP (60 mg)	12	200 UI de eCG más 35 µg de cloprostenol al retirar la esponja	10	100	Monta	66	-----	Pietrosky et al., 2013
FGA (45 mg)	11	400 a 500 UI de eCG más 50 µg de cloprostenol 48 h antes de retirar la esponja	56	98	IA	75	1.9 ± 0.8	Freitas et al., 1997
MGA 0.25 mg/cabra	10	Efecto macho	25	84	Monta	58	1.3 ± 0.2	Jackson et al., 2006
Norgestoment (1.2 mg)	9	1.25 mg de valerato de estradiol más 0.75 mg de norgestomet al insertar el implante	42	54.8	Monta	68.2	1.45 ± 0.18	Mellado y Valdés, 1997
Progesterona IM	1	240 UI de eCG más 50 µg PGF2? al aplicar la P4	30	97	Monta	83	1.9 ± 0.2	Rodriguez-Martínez et al., 2013

\*Respuesta obtenida en las primeras 96 h después de retirar el tratamiento de progesterona

\*\*Tomada del día del diagnóstico de gestación

**Cuadro 3.** Aplicaciones de la gonadotropina coriónica humana en cabras.

Dosis	Día de aplicación	Vía de admon.	Efecto	Referencia
250 UI	24 h antes de retirar el dispositivo con progesterona	IM	Inducción del estro (Anestro estacional)	Fonseca <i>et al.</i> , 2005
1 UI/kg	Cada 12 horas hasta la presentación del estro	SC	Inducción del estro (Anestro postparto)	Kawate <i>et al.</i> , 2002
500 UI	18 h después de un tratamiento de superovulación	IM	Inducción de la ovulación (estro)	Saleh <i>et al.</i> , 2012
250 UI	5 días después del apareamiento o IA	IM	Incrementar los niveles de progesterona después del apareamiento	Fonseca y Torres, 2005
300 UI	12 días después del apareamiento	IM	Reducción de pérdidas embrionarias	Lashari y Tasawar, 2010
1000 UI	84 h después del estro	IM	Aumentar P4	Saharrea <i>et al.</i> , 1998

Por otro lado, además de la cabra (Saleh *et al.*, 2012), la hCG también se ha utilizada como inductora de la ovulación en especies como las vacas (De Rensis *et al.*, 2010) yeguas (Barbacini *et al.*, 2000) cerdas (Wongkaweewit *et al.*, 2012) y perras (Stornelli *et al.*, 2012). En cabras, la ovulación ocurre 34 h después de la administración de hCG (Saleh *et al.*, 2012). Además, la hCG estimula la luteinización de las células de la granulosa y de la teca incrementando los niveles de P<sub>4</sub> (De Rensis *et al.*, 2010). En este sentido, 1000 UI de hCG después de un tratamiento de superovulación, los niveles de progesterona fueron mayores el día seis con respecto al grupo control y GnRH (Saharrea *et al.*, 1998). Sin embargo, Fonseca y Torres (2005), no encontraron diferencias significativas en los niveles de progesterona al aplicar 250 UI de hCG 5 días después del celo con respecto del control. En ovejas, al aplicar 500 UI al momento de la IA, la progesterona tiende a incrementarse (P<0.1) del día ocho al 14 (Gómez-Brunet *et al.*, 2007). Esta diferencia pudiera deberse a la dosis empleada en cada tratamiento o al momento de aplicar la hormona. Recientemente, Lashari y Tasawar (2010) al aplicar 300 UI 12 días después del

apareamiento, las cabras mostraron mayores niveles de  $P_4$  de las 2 a 8 h después de aplicarla, regresando a niveles similares al grupo control a las 72 h. También mostraron que las cabras tratadas con hCG presentaban un mayor número de carúnculas y mayor sobrevivencia embrionaria.

#### **5.4.5. Gonadotropina coriónica equina (eCG)**

La eCG es una hormona glucoproteíca, sintetizada y secretada por las células del trofoblasto entre los 40 y 130 días de gestación en la yegua (Roy *et al.*, 1999). Posee funciones tanto de LH como de FSH y su vida media es de 60 h en la oveja a seis días en la yegua por lo cual, ha sido utilizada en los tratamientos de estimulación folicular en diversas especies, entre ellas la cabra (Roy *et al.*, 1999).

La eCG es utilizada en dosis que van de 200 a 500 UI dependiendo de la época del año (anestro o estación reproductiva) y producción de leche y se administra generalmente dos días antes o al momento de retirar el dispositivo o el implante de  $P_4$  (Holtz, 2005). Otros autores han reportado el uso 200 UI durante el anestro sin afectar la fertilidad (Fonseca *et al.*, 2005). Asimismo, durante la temporada natural de reproducción 100 UI son suficientes para inducir la actividad sexual en las cabras e incluso parece no ser necesaria (Oliveira *et al.*, 2001; Romano, 2004) Durante este periodo los tratamientos deben ser acompañados por la aplicación de un análogo de  $PGF_{2\alpha}$  al momento de poner el dispositivo o al finalizar el tratamiento con  $P_4$  (Menchaca *et al.*, 2007). Las cabras son inseminadas con semen fresco o congelado 12 y 24 h después del inicio del estro (Freitas *et al.*, 1997; Romano, 2004)

El intervalo al estro varía de acuerdo a la época del año y al momento en que se aplica la eCG con respecto al día que se termina el tratamiento de  $P_4$ . Pietroski *et al.* (2013) aplicaron eCG 24 h antes de retirar la esponja y el intervalo al estro fue de 24 h mientras que Fonseca *et al.* (2015) reportan un intervalo al estro de 48 h si la eCG se aplica al momento de retirar la esponja. De acuerdo con Menchaca *et al.* (2007) la ovulación ocurre 58 h después de

aplicar la eCG. La época del año influye con el momento de la manifestación del estro y el pico de LH ya que durante la temporada reproductiva el estro ocurrió 30 h después de retirar la esponja y el pico de LH a las 40 h mientras que, durante el anestro el intervalo al estro fue de 45 h y el pico de LH de 49 h (Pierson *et al.*, 2003). El uso repetido de eCG incrementa el intervalo al estro y el pico de LH debido a la formación de anticuerpos contra esta hormona, disminuyendo la fertilidad en programas de inseminación a tiempo fijo (Drion *et al.*, 2001; Roy *et al.*, 1999).

#### **5.4.6. Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y FSH**

La base farmacológica del uso de GnRH en la reproducción es su efecto para estimular la liberación de las gonadotropinas por la hipófisis, y los agonistas más utilizados en medicina Veterinaria son buserelina y deslorelina (Schneider *et al.*, 2006). La GnRH sincroniza la ovulación cuando es usada con otras hormonas (Pierson *et al.*, 2003) y en ratas incrementa el número de ovocitos recuperados cuando se administra antes de un tratamiento de superovulación (Kanter *et al.*, 2004).

Algunos de los protocolos con GnRH (10 µg de Buserelina) para inducir la actividad sexual en las cabras anovulatorias, esta es inyectada antes de la colocación de la esponja o el implante, el cual se deja por ocho a 14 días, 24 h antes de retirar el dispositivo, se aplica PGF<sub>2α</sub> y al momento de retirar el dispositivo se administran 400 UI de eCG (Karaca *et al.*, 2010). Duygu *et al.* (2013) utilizaron un protocolo similar en el que comparó el uso de GnRH (4 µg de Buserelina) con FGA o implante de norgestomet más eCG al final del periodo de transición. Sin embargo, no encontraron diferencias ni en la respuesta estral ni en la fertilidad al incluir la GnRH a cualquiera de los protocolos obteniéndose una respuesta general de 80 % y 71 % respectivamente, similar a lo reportado por Karaca *et al.* (2010). Por el contrario, Husein *et al.* (2005) mencionan que si la GnRH (100 µg de Cistorelina) se administra después de un tratamiento previo con progesterona con o sin eCG la

fertilidad y la tasa de partos incrementan significativamente ( $>77\%$ ;  $P<0.05$ ) que en aquellos animales que solo les administran GnRH sin  $P_4$  (44%), por lo que la progesterona previa es esencial. Cuando la GnRH se administra 24 h después de retirar la esponja, si bien no tiene efectos sobre el inicio del estro si adelanta el pico preovulatorio de LH tanto en el anestro como en la estación reproductiva, siendo de  $26 \pm 0.37$  h con GnRH contra 40 h sin GnRH (Pierson *et al.*, 2003).

En cabras se ha utilizado el protocolo “ovsynch” durante la estación reproductiva, el cual consiste en la administración de GnRH al comienzo del protocolo, la cual hará que los folículos ovulen y se forme un CL, siete días después, se inyecta  $PGF_{2\alpha}$ , la cual lisa el CL formado y a las 48 h se aplica una segunda dosis de GnRH y se insemina a la cabra a las 16 h ya que se espera que ovule dentro de 24 h (Holtz, 2005).

La FSH de origen porcino u ovino ha sido utilizada más ampliamente en los protocolos de superovulación y transferencia de embriones con el objetivo de obtener un mayor número de folículos que alcancen el tamaño preovulatorio (Arredondo *et al.*, 2015). En los protocolos de SOTE, se aplican varias dosis de FSH (6 a 8) en dosis decrecientes cada 12 h, iniciando 60 h antes de retirar el dispositivo con  $P_4$  ó 72 a 84 h después de un protocolo de sincronización del celo con CIDR, eCG y  $PGF_{2\alpha}$  (Menchaca *et al.*, 2009). En ovejas también se ha utilizado la FSH para sincronizar e inducir el estro, aplicándose una dosis de 55 mg (Folltropin®) 24 h antes de retirar el dispositivo (Knights *et al.*, 2001a; Knights *et al.*, 2001b).

#### **5.4.7. Estradiol**

En vacas, el estradiol (2-2.5 mg de benzoato de estradiol) se utiliza para inducir el crecimiento de una nueva oleada folicular más la administración de 100 o 50 mg de  $P_4$  o un dispositivo intravaginal antes de un protocolo de superovulación (Bó y Mapletoft, 2014). En cabras, el estradiol (1 mg Cipionato de Estradiol)

también se ha utilizado durante la época de reproducción al momento de insertar el dispositivo vaginal con P4 sin la aplicación de ninguna otra hormona, manifestándose el estro (>90 % de las cabras tratadas) a las  $52.5 \pm 33.8$  h y la ovulación  $101.4 \pm 32.2$  después de retirar el dispositivo (Maffili *et al.*, 2005). Menchaca *et al.* (2007) compararon el benzoato de estradiol (200  $\mu$ g) contra eCG (300 UI) sin encontrar diferencias significativas entre ambos tratamientos ya que ambos indujeron la ovulación en el 86% de las cabras y un intervalo a la ovulación de 60 h después de retirar la P<sub>4</sub>.

## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1. Localización del área de estudio**

El estudio se realizó en la unidad experimental del Instituto Tecnológico de Torreón (ITT), en la Ciudad de Torreón, Coahuila, México (Latitud 25° 32' N, Longitud 103° 27' O). Esta región se localiza a 1140 msnm, presenta un clima seco, con temperaturas en promedio de 23.5° C (rango de -2 a 43°C). La humedad relativa va de 28% a 81%. La precipitación anual es de 230 mm. La duración del día es de 13 h y 45 min durante el solsticio de verano y de 10 h y 9 min en el solsticio de invierno.

### **6.2. Animales y su manejo**

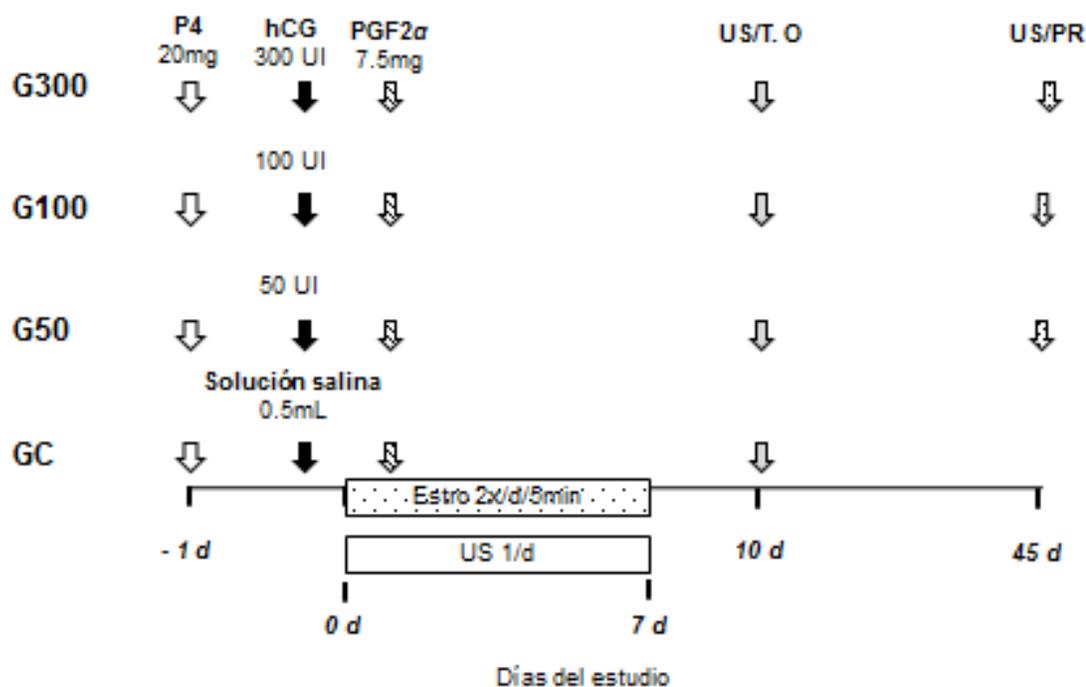
Este estudio se llevó a cabo durante el mes de julio del 2014, correspondiente al periodo de transición de las cabras. Se emplearon 39 cabras alpinas multíparas, anovulatorias con un peso de  $37.4 \pm 8.5$  Kg de peso y  $1.96 \pm 0.3$  de condición corporal (escala 1 a 4, donde 1: flaca y 4: obesa). Las cabras fueron confinadas en corrales abiertos provistos de sombra y sometidas a las variaciones naturales del clima y del fotoperiodo. Se ordeñaron a mano una vez al día. Los animales se alimentaron con heno de alfalfa a libre acceso (17% PC, 1.95 Mcal/Kg). Además, cada cabra recibió 150 g de concentrado comercial al día (14% PC, 2.5 Mcal/Kg). El agua y los minerales se proporcionaron a libre acceso.

### **6.3. Determinación de las cabras anovulatorias**

La anovulación fue determinada por medio de un ultrasonido (Aloka 500, Richmond, Canadá) equipado con un transductor transrectal de 7.5 Mhz. A cada cabra se le realizó el ultrasonido los días 13 y cinco antes de la aplicación de la progesterona para lo cual, se observaron ambos ovarios. Solo se seleccionaron las cabras que no presentaron cuerpo lúteo en ambos ultrasonidos.

#### 6.4. Diseño experimental

El 20 de junio del 2014, las cabras fueron distribuidas aleatoriamente en cuatro grupos experimentales. El día 24 de junio, las cabras del grupo **G300** (n = 10) recibieron 300 UI de hCG (Chorulon<sup>®</sup>, Intervet), el grupo **G100** (n = 10) recibió 100 UI de hCG y al grupo **G50** (n = 9) se le administraron 50 UI, mientras que, al grupo control **GC** (n=10) se le administraron 0.5 mL de solución salina. La hCG se aplicó entre las 8:00 a las 9:00 am. Las aplicaciones se realizaron en uno de los labios vulvares, previa desinfección del área con alcohol al 70°. Este día se consideró como el día 0 del tratamiento (0 d). Además, este mismo día, a todas las cabras, se les administró 7.5 mg de un análogo de prostaglandina F2 $\alpha$  vía intramuscular (IM; Lutalyse<sup>®</sup>). Un día antes (-1 d) de la aplicación de la hCG todas las hembras recibieron 20 mg de progesterona (Progesvit<sup>®</sup>, Brovel) en el labio vulvar. En la figura 7, se muestra un diagrama del diseño experimental.



**Figura 7.** Esquema del diseño experimental. El ultrasonido (US) se realizó una vez al día (1x) a partir del 0 d al 7d. El número de ovulaciones (TO) y gestación (PR) se realizaron los días 10 d y 45 d después del apareamiento, respectivamente.

## **6.5. Variables evaluadas**

### **6.5.1. Conducta estral**

Se evaluó el inicio y la duración del estro 12 h después de aplicar la hCG y hasta el día siete (7 d), dos veces al día durante 5 min. Para lo cual se utilizaron tres machos adultos sexualmente activos provistos de mandil para evitar que copularan con la hembra. Se consideró una cabra en celo, cuando esta permanecía inmóvil al momento en que el macho la montaba. Inmediatamente, la hembra se sacaba del corral para que el macho continuara detectando el celo. Las cabras en celo fueron montadas una sola vez por un macho de fertilidad comprobada, en las primeras 12 h de haber sido detectada en estro. Los machos fueron inducidos a la actividad sexual mediante la técnica descrita por Luna-Orozco *et al.* (2012) antes de iniciar el tratamiento de las hembras.

### **6.5.2. Desarrollo folicular y ovulación**

El día 0 se realizó ultrasonografía transrectal con un ultrasonido Aloka 500 (Richmond, Canadá) equipado con un transductor de 7.5 Mhz. El ultrasonido se realizó entre las 800 a 1200 h y siempre por el mismo operador. Las cabras fueron contenidas de pie en una manga de metal. El procedimiento para localizar los ovarios fue el mismo al descrito por Ginther y Kot (1994). Todos los folículos  $\leq 3$ mm, se registraron en un bosquejo anotándose su posición, diámetro y número, esto para ambos ovarios. Se consideró que una cabra había ovulado cuando el folículo más grande registrado el día anterior había desaparecido al día siguiente. Además, Se comparó el número de folículos chicos (CH;  $\leq 3$  mm), medianos (MED; 4 a 5 mm) y grandes (GDE;  $>6$  mm) que había en el día 0 con respecto al día 2.

### **6.5.3. Gestación, partos y prolificidad**

La gestación se determinó a los 45 días por medio de ultrasonografía transrectal, se utilizó el mismo equipo que el empleado para determinar el desarrollo folicular y la anovulación. En la fecha estimada del parto se

registraron el número de cabras que parieron, así como la cantidad de crías nacidas.

#### **6.5.4. Análisis estadístico**

El crecimiento folicular, el inicio del estro, la duración del celo, la ovulación con respecto del día d 0, la ovulación con respecto al inicio del estro, tasa ovulatoria y prolificidad fueron analizados con un ANOVA. El número de folículos el día d 0 con respecto del día d 2 se evaluó con una *t* apareada. El estro, la ovulación, la gestación y los partos fueron comparados con una prueba de Fisher exacta. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico MYSTAT 12.

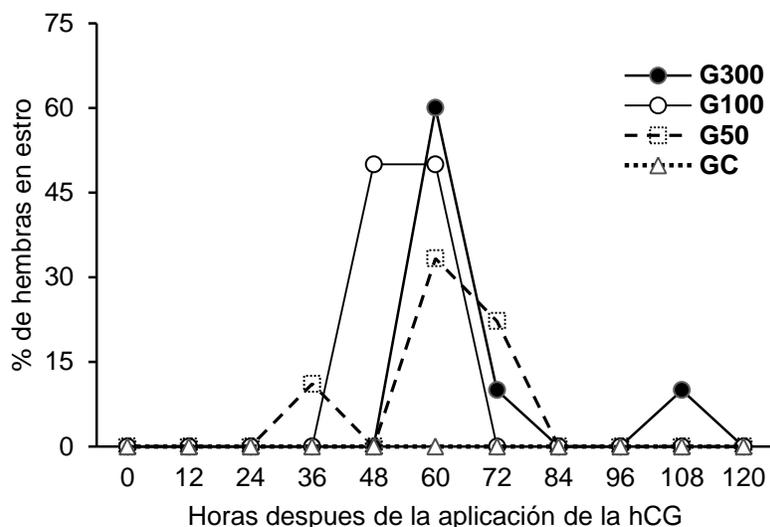
## VII. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que más del 67% de las cabras tratadas presento actividad estral y ovarica ( $P>0.05$ ), mientras que de las cabras del grupo control ninguna mostró celo ni ovulación ( $P<0.05$ ) con respecto a los grupos tratados (Cuadro 1). Sin embargo, en el G300 la distribución de los celos fue más irregular que en el G100 (Figura 2). Asimismo, el intervalo entre la aplicación de la hCG y el inicio del estro fue menor en el G100 con respecto al grupo G300 ( $54 \pm 6$  h vs  $77 \pm 30$  h, respectivamente;  $P<0.05$ ). La duración de la actividad estral fue similar entre los tratamientos ( $31 \pm 11$  h).

**Cuadro 4.** Características de la respuesta sexual de las cabras alpinas sometidas a un protocolo de inducción del estro utilizando 300 (G300), 100 (G100) y 50 (G50) UI de hCG y solución salina (GC) 24 h después de la aplicación de 20 mg de progesterona durante el anestro estacional.

	G300	G100	G50	Grupo Control
<b>Hembras en estro (%)</b>	9/10 <sup>a</sup> (90)	10/10 <sup>a</sup> (100)	6/9 <sup>a</sup> (67)	0/10 <sup>b</sup> (0)
<b>Latencia al estro (h)</b>	76 ± 29 <sup>a</sup>	54 ± 6 <sup>b</sup>	60 ± 13 <sup>a,b</sup>	-
<b>Duración del estro (h)</b>	29 ± 21 <sup>a</sup>	33.6 ± 5 <sup>a</sup>	30 ± 6 <sup>a</sup>	-
<b>Hembras que ovularon (%)</b>	9/10 <sup>a</sup> (90)	10/10 <sup>a</sup> (100)	6/9 <sup>a</sup> (67)	0/10 <sup>b</sup> (0)
<b>Tasa ovulatoria</b>	1.9 ± 0.6 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.5 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	-
<b>Latencia a la ovulación (h)</b>	108 ± 33 <sup>a</sup>	91 ± 10 <sup>a</sup>	90 ± 10 <sup>a</sup>	-
<b>Latencia estro-ovulación (h)</b>	38 ± 16 <sup>a</sup>	40 ± 6 <sup>a</sup>	30 ± 7 <sup>a</sup>	-
<b>Diámetro del folículo ovulatorio (mm)</b>	7.8 ± 1 <sup>a</sup>	7.2 ± 1 <sup>a,b</sup>	6.7 ± 1 <sup>b</sup>	-
<b>Gestación (%)</b>	8/10 <sup>a</sup> (70)	10/10 <sup>a</sup> (100)	6/9 <sup>a</sup> (67)	-
<b>Partos (%)</b>	7/10 <sup>a</sup> (60)	8/10 <sup>a</sup> (80)	5/9 <sup>a</sup> (55)	-
<b>Prolificidad</b>	1.57 ± 0.5 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	-

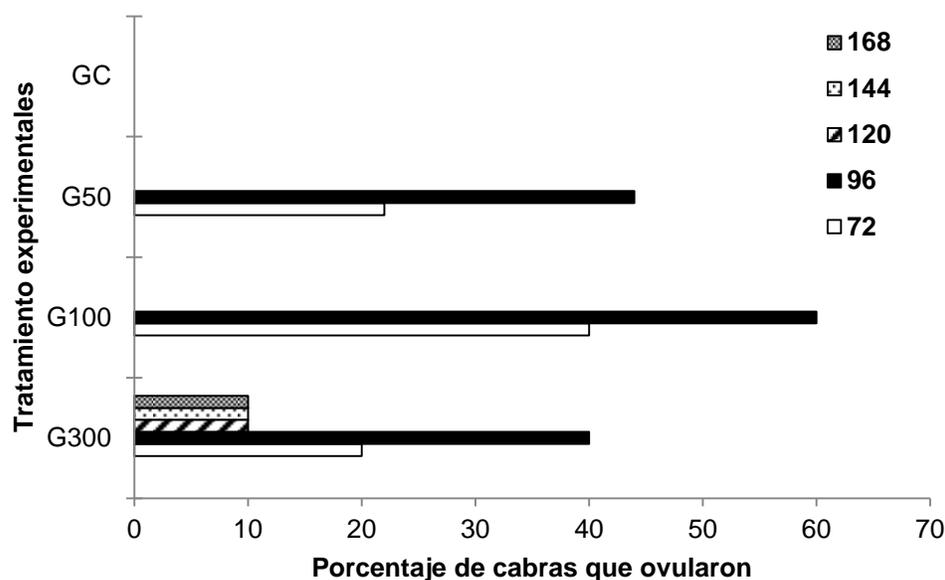
Letras diferentes entre columnas muestran diferencia ( $P<0.05$ )



**Figura 8.** Distribución del estro después de la aplicación de 300 (G300), 100 (G100) y 50 (G50) UI de hCG y solución salina (GC) 24 h después de la aplicación de 20 mg de progesterona.

La ovulación ocurrió a las  $96 \pm 18$  h después de la administración de la hCG y ovularon al final de estro (Figura 3). El número de folículos que ovularon fue similar entre los tratamientos ( $P > 0.05$ ). El diámetro (mm) del folículo ovulatorio del grupo G300 fue mayor comparado con el G50 ( $P < 0.05$ ), pero, similar al del G100 (Cuadro 1). Una de las cabras del grupo G300 desarrollo un folículo mayor a 15 mm de diámetro que persistió por más de cinco días y otra cabra de este mismo grupo ovulo sin presentar conducta estral. El número de folículos pequeños ( $\leq 3$ mm) disminuyo del día 0 al día dos en los grupos G300 y G50 ( $P < 0.05$ ). Mientras que en grupo G100 tiende a disminuir el número de folículos chicos ( $P = 0.201$ ). Sin embargo, el número de folículos medianos y grandes permaneció constante ( $P > 0.05$ ) independientemente del tratamiento con hCG (Cuadro 2). En el grupo control, no hubo variaciones en el número de folículos durante el tratamiento ( $P > 0.05$ ).

La tasa de preñez a los 45 días después del apareamiento, la tasa de partos y la prolificidad fue similar ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos, independientemente del tratamiento hCG (Cuadro 1).



**Figura 9.** Porcentaje de cabras que ovularon a las 72, 96, 120, 144 y 168 h después de la administración de la hCG o la solución salina.

**Cuadro 5.** Efecto de la administración de diferentes dosis de hCG y solución salina sobre el número de folículos en los ovarios al momento (d 0) y dos días (d 2) después de la aplicación con hCG.

Grupos experimentales								
Tamaño folicular	G300		G100		G50		GC	
	d 0	d +2						
<b>CH</b>	3.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	5.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.4 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.3 <sup>a</sup>
<b>MED</b>	2.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>a</sup>
<b>GDE</b>	1.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>a</sup>

CH: Folículos chicos ≤3 mm, MED: Folículos medianos 4 a 5 mm, GDE: Folículos grandes >6 mm. Letras diferentes (a, b) entre filas indican diferencia (P<0.05).

## VIII. DISCUSIÓN

La hCG fue efectiva para inducir y sincronizar el estro en las cabras Alpinas sin importar la dosis de hCG utilizada. Estos resultados indican que 50 UI de hCG son suficientes para inducir la actividad estral. La dosis mínima efectiva para inducir el estro en nuestro estudio fue 40 % menos a la dosis reportada en cabras (Fonseca *et al.*, 2005a). La respuesta estral y ovulatoria son similares a las reportadas en cabras al emplear dosis más elevadas de hCG o eCG (Freitas *et al.*, 1996; Navanukraw *et al.*, 2014). Hasta donde sabemos, este es el primer estudio llevado a cabo para inducir la ovulación con una simple inyección de hCG sin el tratamiento prolongado con progestágenos. Por lo tanto, el protocolo descrito aquí es novedoso, barato y efectivo para inducir la ovulación en cabras lecheras anovulatorias.

La hCG es empleada en programas de estimulación ovárica para desencadenar la maduración del ovocito y la ovulación (Ma *et al.*, 2015). Esta hormona se caracteriza por una rápida absorción (11.6 h) y una larga vida media (Saleh *et al.*, 2012), por lo tanto, una dosis única de hCG parece ser suficiente para estimular el crecimiento de los folículos antrales en las cabras anovulatorias y garantizar una fertilidad satisfactoria después del estro. Así, es probable que una dosis de hCG en cabras sin cuerpo lúteo induzca la ovulación del folículo dominante y la formación de un cuerpo lúteo funcional.

El intervalo al estro después de la inyección de hCG (54-76 h) es ligeramente más prolongado que a lo reportado por otros estudios que emplearon diferentes gonadotropinas en combinación con progesterona (Freitas *et al.*, 1997; Fonseca *et al.*, 2005). De este modo, este protocolo no tiene efectos significativos en la iniciación del estro después de la aplicación de hCG. El intervalo del estro después de inyectar la hCG no fue significativamente diferente entre los grupos G50 y G300, por lo que dosis de hCG bajas o altas no ejercen ningún efecto en el tiempo de respuesta.

Basados en el número de CL, la respuesta ovárica en los grupos que recibieron la hCG fue satisfactoria y similar entre ellos. Así, 50 UI de hCG vía submucosa vulvar es suficiente para estimular un crecimiento folicular adecuado y la subsecuente formación del CL. Los resultados del tratamiento con hCG son similares a los reportados por Lopez-Sebastian *et al.* (1993) quienes indujeron la ovulación en ovejas Manchega con una dosis de FSH im.

La fertilidad en las cabras después de utilizar un tratamiento con progesterona en combinación con gonadotropinas para inducir el estro van de <50% (Dogan *et al.*, 2004; Motlomelo *et al.*, 2002) a >80% (Oliveira *et al.*, 2001). En este estudio no hubo diferencias significativas en la tasa de concepción entre los grupos de cabras tratadas con hCG y el total de cabras preñadas observada es fue aceptable y dentro de los rangos previamente reportados. Ninguna de las cabras del GC presento actividad ovárica o comportamiento estral lo cual indica que es necesario aplicar hCG para desencadenar la actividad sexual en las cabras durante el anestro. Adicionalmente, esto podría implicar que las cabras Alpinas a 25° N están todavía inactivas sexualmente en junio.

La exitosa inducción del estro provoco una tasa de partos relativamente alta (69%) a pesar de la dosis de hCG empleada. Estos resultados fueron mejores que los reportados previamente por otros investigadores en cabras anestrícas inducidas con progestágenos y gonadotropinas seguidos por inseminación artificial (Regueiro *et al.*, 1999; Romano, 2004)

## **IX. CONCLUSIÓN**

La actividad sexual en las cabras Alpinas, puede ser inducida eficientemente durante el anestro estacional utilizando solo 50 UI de hCG. Estos resultados tienen importantes implicaciones prácticas ya que demuestran una manera rápida, accesible en las cabras Alpinas a 25° N, sin afectar los parámetros reproductivos y acorde a las tendencias actuales de reducir al máximo el uso de hormonas en los tratamientos reproductivos utilizados en los animales. Adicionalmente, es necesario realizar más estudios que consideren la época del año, el número de partos, la condición corporal y la producción láctea, a fin de determinar la dosis más apropiada para cada una de estas etapas.

## X. LITERATURA CITADA

- Abecia, J. A., F. Forcada y A. González-Bulnes. 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science* 130: 173-179.
- Amoah, E., S. Gelaye, P. Guthrie y C. Rexroad. 1996. Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *Journal of animal science-menasha then albany then Champaign Illinois-* 74: 723-728.
- Arredondo, A. J. G., A. G. Gómez, J. F. Vázquez-Armijo, R. A. Ledezma-Torres, H. Bernal-Barragán y F. Sánchez-Dávila. 2015. Status and implementation of reproductive technologies in goats in emerging countries. *African Journal of Biotechnology* 14: 719-727.
- Baldassarre, H. y C. Karatzas. 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science* 82: 255-266.
- Barbacini, S., G. Zavaglia, P. Gulden, V. Marchi y D. Necchi. 2000. Retrospective study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen semen. *Equine veterinary education* 12: 312-317.
- Bartlewski, P. M., T. E. Baby y J. L. Giffin. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal reproduction science* 124: 259-268.
- Bó, G. A. y R. J. Mapletoft. 2014. Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology* 81: 38-48.
- Bono, G., F. Cairoli, C. Tamanini y L. Abrate. 1983. Progesterone, estrogen, LH, FSH and PRL concentrations in plasma during the estrous cycle in goat. *Reproduction Nutrition Développement* 23: 217-222.
- Bronson, F. H. 2009. Climate change and seasonal reproduction in mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364: 3331-3340.
- Camp, J. C., D. E. Wildt, P. K. Howard, L. D. Stuart y P. K. Chakraborty. 1983. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biology of Reproduction* 28: 673-681.
- Carrillo, E., C. A. Meza-Herrera y F. G. Véliz. 2010. Estacionalidad reproductiva de los machos cabríos de la raza Alpino-Francés adaptados al subtrópico Mexicano. *Revista mexicana de ciencias pecuarias* 1: 169-178.
- Cole, L. A. 2010. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reprod Biol Endocrinol* 8: 102.
- Chemineau, P. 1993. Reproducción de las cabras originarias de las zonas tropicales. *Rev. Latamer. Peq. Rumiantes* 1.
- Chemineau, P., A. Daveau, Y. Cognie, G. Aumont y D. Chesneau. 2004. Seasonal ovulatory activity exists in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a temperate photoperiod. *BMC Physiology* 4: 12.
- Chemineau, P., D. Guillaume, M. Migaud, J. Thiery, M. Pellicer-Rubio y B. Malpoux. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: intimate

- regulatory mechanisms and practical implications. *Reproduction in Domestic Animals* 43: 40-47.
- Chemineau, P., M.-T. Pellicer-Rubio, N. Lassoued, G. Khaldi y D. Monniaux. 2006. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reproduction Nutrition Development* 46: 417-429.
- 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 Rensis, F., F. López-Gatius, I. García-Ispierto y M. Techakumpu. 2010. Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: An update. *Theriogenology* 73: 1001-1008.
- 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.
- Delgadillo, J., G. Canedo, P. Chemineau, D. Guillaume y B. Malpaux. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 52: 727-737.
- Delgadillo, J. A., S. De La Torre-Villegas, V. Arellano-Solis, G. Duarte y B. Malpaux. 2011. Refractoriness to short and long days determines the end and onset of the breeding season in subtropical goats. *Theriogenology* 76: 1146-1151.
- Delgadillo, J. A., M. A. De Santiago-Miramontes y E. Carrillo. 2007. Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *Animal* 1: 858-864.
- Dogan, I., Z. Nur, U. Gunay, M. Soylu y C. Sonmez. 2004. Comparison of fluorgestone and medroxyprogesterone intravaginal sponges for oestrus synchronization in Saanen does during the transition period. *South African Journal of Animal Science* 34: p. 18-22.
- Driancourt, M. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55: 1211-1239.
- Drion, P. V., V. Furtoss, G. Baril, E. Manfredi, F. Bouvier, J.-L. Pougard, D. Bernelas, P. Caugnon, E. M. McNamara y B. Remy. 2001. Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reproduction Nutrition Development* 41: 401-412.
- Duarte, G., J. A. Flores, B. Malpaux 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.
- Duygu, B. A., B. Muhammed Kürşad, Ö. Erhan, Y. Deniz y D. İsmet. 2013. Effectiveness of Different Progesterone Analogues and GnRH on

- Reproductive Parameters in Nulliparous Saanen Goats at the End of the Transition Period. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 19 (Suppl-A): 181-186.
- Ebling, F. J. P. 2010. Photoperiodic regulation of puberty in seasonal species. *Molecular and Cellular Endocrinology* 324: 95-101.
- Escareño, L., H. Salinas-Gonzalez, M. Wurzinger, L. Iñiguez, J. Sölkner y C. Meza-Herrera. 2012. Dairy goat production systems. *Trop Anim Health Prod* 45: 17-34.
- Escareño Sánchez, L. M., M. Wurzinger, F. Pastor López, H. Salinas, J. Sölkner y L. Iñiguez. 2011. La cabra y los sistemas de producción caprina de los pequeños productores de la Comarca Lagunera, en el norte de México. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente* 17: 235-246.
- Esteves, L., F. Brandão, R. Cruz, J. Souza, E. Oba, O. Facó y J. Fonseca. 2013. Reproductive parameters of dairy goats submitted to estrus synchronization with prostaglandin F2 $\alpha$  associated or not to hCG at estrous onset. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 65: 1585-1592.
- Evans, A. 2003. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals* 38: 240-246.
- Fabre-Nys, C. y H. Gelez. 2007. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. *Hormones and behavior* 52: 18-25.
- FAOSTAT. 2013. <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID0569#ancor>  
Accessed 16/01/15.
- Fatet, A., M.-T. Pellicer-Rubio y B. Leboeuf. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science* 124: 211-219.
- Fierro, S., J. Gil, C. Viñoles y J. Olivera-Muzante. 2013. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology* 79: 399-408.
- Findlay, J. K., A. E. Drummond y R. C. Fry. 1996. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. *Animal Reproduction Science* 42: 321-331.
- Fitz-Rodríguez, G., M. A. De Santiago-Miramontes, R. J. Scaramuzzi, B. Malpaux y J. A. Delgadillo. 2009. Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect. *Animal Reproduction Science* 116: 85-94.
- Fonseca, J. y C. Torres. 2005. Administration of hCG 5 days after breeding and reproductive performance in nulliparous dairy goats. *Reproduction in domestic animals* 40: 495-499.
- Fonseca, J. F., J. H. Bruschi, F. N. Zambrini, E. Demczuk, J. H. M. Viana y M. P. Palhão. 2005. Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. *Anim. Reprod.*
- v.2, n.1: p.50-53,.
- 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.

- Ganguly, A., S. K. Meur y I. Ganguly. 2013. Changes in circulatory FSH of Barbari goats following treatment with high molecular weight inhibin isolated from buffalo follicular fluid. *Research in veterinary science* 95: 374-380.
- Ginther, O. y K. Kot. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology* 42: 987-1001.
- Gómez-Brunet, A., J. Santiago-Moreno, V. Montoro, J. Garde, P. Pons, A. Gonzalez-Bulnes y A. López-Sebastián. 2007. Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI. *Small Ruminant Research* 71: 117-122.
- 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.
- 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. 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Ruminant Research* 60: 95-110.
- Husein, M. Q., M. M. Ababneh y S. G. Haddad. 2005. The effects of progesterone priming on reproductive performance of GnRH-PGF2  $\alpha$  treated anestrous goats. *Reproduction Nutrition Development* 45: 689-698.
- Ikegami, K. y T. Yoshimura. 2012. Circadian clocks and the measurement of daylength in seasonal reproduction. *Molecular and Cellular Endocrinology* 349: 76-81.
- Jackson, C. G., T. L. Neville, V. R. G. Mercadante, K. M. Waters, G. C. Lamb, C. R. Dahlen y R. R. Redden. 2014. Efficacy of various five-day estrous synchronization protocols in sheep. *Small Ruminant Research* 120: 100-107.
- Jackson, D. J., C. M. Fletcher, D. H. Keisler y N. C. Whitley. 2006. Effect of melengestrol acetate (MGA) treatment or temporary kid removal on reproductive efficiency in meat goats. *Small Ruminant Research* 66: 253-257.
- Kanter, M., C. Yildiz, I. Meral, A. Koc y I. Tasal. 2004. Effects of a GnRH agonist on oocyte number and maturation in mice superovulated with eCG and hCG. *Theriogenology* 61: 393-398.
- Karaca, F., G. Doğruer, M. K. Saribay y C. T. Ateş. 2010. Oestrus synchronization with short-term and long-term progestagen treatments in goats: the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment. *Italian Journal of Animal Science* 9: 22.
- Kawate, N., N. Morita, M. Tsuji, H. Tamada, T. Inaba y T. Sawada. 2000. Roles of pulsatile release of LH in the development and maintenance of corpus luteum function in the goat. *Theriogenology* 54: 1133-1143.
- Kawate, N., M. Yamazaki, H. Tamada, T. Inaba y T. Sawada. 2002. Effect of Low Dose of hCG on Induction of Fertile Estrus in Shiba Goats

- Pretreated Intravaginally with Progesterone during the Early Postpartum Nursing Period. *Journal of Reproduction and Development* 48: 497-504.
- Knights, M., T. Hoehn, P. Lewis y E. Inskeep. 2001a. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *Journal of animal science* 79: 1120-1131.
- Knights, M., T. Maze, P. Bridges, P. Lewis y E. Inskeep. 2001b. Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrus ewes. *Theriogenology* 55: 1181-1191.
- Lai, P., B. Y. Zhang, P. Q. Wang, M. X. Chu, W. J. Song y B. J. Cai. 2013. Polymorphism of the Melatonin Receptor Genes and its Relationship with Seasonal Reproduction in the Gulin Ma Goat Breed. *Reproduction in Domestic Animals* 48: 732-737.
- Lashari, M. H. y Z. Tasawar. 2010. The effect of hCG given on day 12 post-mating on ovarian function and embryo survival in Beetal goats in southern Punjab, Pakistan. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 34: 513-517.
- 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.
- Leyva-Ocariz, H., C. Munro y G. Stabenfeldt. 1995. Serum LH, FSH, estradiol-17 $\beta$  and progesterone profiles of native and crossbred goats in a tropical semiarid zone of Venezuela during the estrous cycle. *Animal Reproduction Science* 39: 49-58.
- Lopez-Sebastian, A., A. Gomez-Brunet, A. Lishman, S. Johnson y E. Inskeep. 1993. Modification by propylene glycol of ovulation rate in ewes in response to a single injection of FSH. *Journal of reproduction and fertility* 99: 437-442.
- López-Sebastian, A., A. González-Bulnes, J. Carrizosa, B. Urrutia, C. Díaz-Delfa, J. Santiago-Moreno y A. Gómez-Brunet. 2007. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. *Theriogenology* 68: 1081-1087.
- 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.
- Ma, M., J. Wang, L. Xu, Q. Zhang, B. Du, X. Jiang, Q. Shi, L. Zhou, B. Li y H. Saito. 2015. Effects of two human chorionic gonadotropin doses administered to the ovarian states during the in vitro fertilization and embryo transfer program. *Biomedical Reports* 3: 215-219.
- Maffili, V. V., C. A. A. Torres, J. F. Fonseca, E. A. Moraes y R. A. M. Pontes. 2005. Sincronização de estro em cabras da raça Saanen com esponja

- intravaginal e CIDR-G®. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 57: 591-598.
- Malpaux, B., M. Migaud, H. Tricoire y P. Chemineau. 2001. Biology of Mammalian Photoperiodism and the Critical Role of the Pineal Gland and Melatonin. *Journal of Biological Rhythms* 16: 336-347.
- Martin, G. B., S. W. Walkden-Brown, R. Boukhliq, S. Tjondronegoro, D. W. Miller, J. S. Fisher, M. J. Hötzel, B. J. Restall y N. R. Adams. 1994. Non-photoperiodic inputs into seasonal breeding in male ruminants. *Perspectives in comparative endocrinology*: 574-585.
- McCracken, J., E. Custer y J. Lamsa. 1999. Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event. *Physiological Reviews* 79 (2) 263-324.
- 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.
- Medan, M. S., G. Watanabe, K. Sasaki, N. P. Groome, S. Sharawy y K. Taya. 2005. Follicular and Hormonal Dynamics during the Estrous Cycle in Goats. *Journal of Reproduction and Development* 51: 455-463.
- 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., R. Alemán, F. Orozco y G. Uribe. 1994. Effect of prostaglandin F<sub>2</sub>α dosage and route of administration on estrus response in Criollo goats under range conditions. *Small Ruminant Research* 14: 205-208.
- Mellado, M., R. Valdez, L. M. Lara y R. Lopez. 2003. Stocking rate effects on goats: a research observation. *Journal of Range Management*: 167-173.
- Menchaca, A., V. Miller, V. Salveraglio y E. Rubianes. 2007. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. *Animal reproduction science* 102: 76-87.
- Menchaca, A. y E. Rubianes. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 403-413.
- Menchaca, A., M. Vilariño, M. Crispo, T. De Castro y E. Rubianes. 2009. New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 22: 113-118.
- Motlomelo, K., J. Greyling y L. Schwalbach. 2002. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Ruminant Research* 45: 45-49.
- Navanukraw, C., V. Khanthusaeng, A. Kraison y S. Uriyapongson. 2014. Estrous and ovulatory responses following cervical artificial insemination in Thai-native goats given a new or once-used controlled internal drug release with human chorionic gonadotropin. *Trop Anim Health Prod* 46: 1441-1446.
- Niswender, G., J. Juengel, P. Silva, K. Rollyson y E. McIntush. 2000. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiological Reviews* 80 (1): 1-29.

- Nogueira, D. M., J. Cavalieri, B. Gummow y A. J. Parker. 2015. Comparison of follicular dynamics and hormone profiles in Boer goats examined during the breeding and non-breeding seasons in the tropics of Queensland, Australia. *Small Ruminant Research*.
- Oliveira, M., S. Guido y P. Lima. 2001. Comparison of different protocols used to induce and synchronize estrus cycle of Saanen goats. *Small Ruminant Research* 40: 149-153.
- Penna, B., H. Libonati, A. Director, A. C. Sarzedas, G. Martins, F. Z. Brandão, J. Fonseca y W. Lilenbaum. 2013. Progestin-impregnated intravaginal sponges for estrus induction and synchronization influences on goats vaginal flora and antimicrobial susceptibility. *Animal Reproduction Science* 142: 71-74.
- Picton, H. M. 2001. Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology* 55: 1193-1210.
- Pierson, J. T., H. Baldassarre, C. L. Keefer y B. R. Downey. 2003. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. *Theriogenology* 60: 397-406.
- Pietroski, A. C. C. A., F. Z. Brandão, J. M. G. d. Souza y J. F. d. Fonseca. 2013. Short, medium or long-term hormonal treatments for induction of synchronized estrus and ovulation in Saanen goats during the nonbreeding season. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42: 168-173.
- Pinilla, L., E. Aguilar, C. Dieguez, R. P. Millar y M. Tena-Sempere. 2012. Kisspeptins and Reproduction: Physiological Roles and Regulatory Mechanisms. 1235-1316 pp.
- Rahman, A., R. Abdullah y W. Wan-Khadijah. 2008. Estrus synchronization and superovulation in Goats: A Review. *Journal of Biological Sciences* 8: 1129-1137.
- Regueiro, M., R. P. Clariget, A. Ganzábal, M. Aba y M. Forsberg. 1999. Effect of medroxyprogesterone acetate and eCG treatment on the reproductive performance of dairy goats. *Small Ruminant Research* 33: 223-230.
- Riaz, H., A. Sattar, M. Arshad y N. Ahmad. 2012. Effect of synchronization protocols and GnRH treatment on the reproductive performance in goats. *Small Ruminant Research* 104: 151-155.
- Rivera-Lozano, M. T., M. O. Diaz-Gómez, J. Urrutia-Morales, H. Vera-Ávila, H. Gamez-Vázquez, E. Villagomez-Amezcuca Manjarrez, C. Aréchiga-Flores y F. Escobar-Medina. 2011. Seasonal variation in ovulatory activity of Nubian, Alpine and Nubian x Criollo does under tropical photoperiod (22°N). *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 973-980.
- Rivera, G. M., G. A. Alanis, M. A. Chaves, S. B. Ferrero y H. H. Morello. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Ruminant Research* 48: 109-117.
- Rodríguez-Martínez, R., O. Ángel-García, J. M. Guillén-Muñoz, P. A. Robles-Trillo, M. d. I. A. De Santiago, C. A. Meza-Herrera, M. Mellado y F. G. Véliz. 2013. Estrus induction in anestrus mixed-breed goats using the "female-to-female effect". *Trop Anim Health Prod* 45: 911-915.
- Romano, J. 1998. Effect of two doses of cloprostenol in two schemes for estrous synchronization in Nubian goats. *Small Ruminant Research* 28: 171-176.

- Romano, J. y A. Benech. 1996. Effect of service and vaginal-cervical anesthesia on estrus duration in dairy goats. *Theriogenology* 45: 691-696.
- Romano, J. E. 2004. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research* 55: 15-19.
- Rosales-Torres, A. M. y A. Guzmán-Sánchez. 2011. Follicular development in domestic ruminants. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 15.
- Roy, F., M.-C. Maurel, B. Combes, D. Vaiman, E. P. Cribiu, I. Lantier, T. Pobel, F. Delétang, Y. Combarous y F. Guillou. 1999. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. *Biology of reproduction* 60: 805-813.
- Rubianes, E. y A. Menchaca. 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science* 78: 271-287.
- Saïd, S. B., D. Lomet, D. Chesneau, L. Lardic, S. Canepa, D. Guillaume, C. Briant, C. Fabre-Nys y A. Caraty. 2007. Differential estradiol requirement for the induction of estrus behavior and the luteinizing hormone surge in two breeds of sheep. *Biology of reproduction* 76: 673-680.
- Saleh, M., M. Shahin, W. Wuttke, M. Gauly y W. Holtz. 2012. Pharmacokinetics of human chorionic gonadotropin after i.m. administration in goats (*Capra hircus*). *Reproduction* 144: 77-81.
- Scaramuzzi, R., N. Adams, D. Baird, B. Campbell, J. Downing, J. Findlay, K. Henderson, G. Martin, K. McNatty y A. McNeilly. 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, fertility and development* 5: 459-478.
- Scaramuzzi, R. J., D. T. Baird, B. K. Campbell, M.-A. Driancourt, J. Dupont, J. E. Fortune, R. B. Gilchrist, G. B. Martin, K. P. McNatty, A. S. McNeilly, P. Monget, D. Monniaux, C. Viñoles y R. Webb. 2011. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 23: 444-467.
- Schneider, F., W. Tomek y C. Gründker. 2006. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: a review. *Theriogenology* 66: 691-709.
- SIAP. 2013 Resúmen Nacional. Población ganadera, avícola y apícola. . [www.siap.gob.mx/ganaderia](http://www.siap.gob.mx/ganaderia). 20/02/ 2015).
- Simões, J., G. Baril, J. C. Almeida, J. Azevedo, P. Fontes y R. Mascarenhas. 2008. Time of ovulation in nulliparous and multiparous goats.
- Sousa, F. C. d., C. H. S. d. Melo, A. C. d. Albuquerque Teles Filho, S. R. G. Avelar, A. d. Alencar Araripe Moura, J. A. M. Martins, V. J. d. Figueirêdo Freitas y D. Í. A. Teixeira. 2011. Ovarian follicular response to different hormonal stimulation treatments in Canindé goats. *Animal Reproduction Science* 125: 88-93.
- Stornelli, M., M. G. Mitacek, F. Giménez, M. Bonaura, I. V. Dorna, R. de la Sota y M. Stornelli. 2012. Pharmacokinetics of eCG and induction of fertile estrus in bitches using eCG followed by hCG. *Theriogenology* 78: 1056-1064.

- Thackray, V. G., P. L. Mellon y D. Coss. 2010. Hormones in synergy: regulation of the pituitary gonadotropin genes. *Molecular and cellular endocrinology* 314: 192-203.
- Thiéry, J. C., P. Chemineau, X. Hernandez, M. Migaud y B. Malpaux. 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 87-100.
- Urrutia-Morales, J., C. A. Meza-Herrera, F. J. Escobar-Medina, H. G. Gamez-Vazquez, B. M. Ramirez-Andrade, M. O. Diaz-Gomez y A. Gonzalez-Bulnes. 2009. Relative roles of photoperiodic and nutritional cues in modulating ovarian activity in goats. *Reproductive Biology* 9: 283-294.
- van den Hurk, R. y J. Zhao. 2005. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology* 63: 1717-1751.
- Vilariño, M., E. Rubianes y A. Menchaca. 2011. Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the Short-term Protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology* 75: 1195-1200.
- Viñoles, C., M. Forsberg, G. Banchemo y E. Rubianes. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55: 993-1004.
- Walkden-Brown, S. W. y B. J. Restall. 1996. Environmental and social factors affecting reproduction. VI International Conference on Goats. Eds:Host, P.J. International Academic Publishers, Beijing 2: 762-775.
- Wongkaweewit, K., P. Prommachart, R. Raksasub, K. Buranaamnuay, M. Techakumphu, F. De Rensis y P. Tummaruk. 2012. Effect of the administration of GnRH or hCG on time of ovulation and the onset of estrus-to-ovulation interval in sows in Thailand. *Trop Anim Health Prod* 44: 467-470.
- Yasuo, S., N. Nakao, S. Ohkura, M. Iigo, S. Hagiwara, A. Goto, H. Ando, T. Yamamura, M. Watanabe, T. Watanabe, S.-i. Oda, K.-i. Maeda, G. A. Lincoln, H. Okamura, S. Ebihara y T. Yoshimura. 2006. Long-Day Suppressed Expression of Type 2 Deiodinase Gene in the Mediobasal Hypothalamus of the Saanen Goat, a Short-Day Breeder: Implication for Seasonal Window of Thyroid Hormone Action on Reproductive Neuroendocrine Axis. *Endocrinology* 147: 432-440.
- Yu, Y. S., M. J. Luo, Z. B. Han, W. Li, H. S. Sui y J. H. Tan. 2005. Serum and follicular fluid steroid levels as related to follicular development and granulosa cell apoptosis during the estrous cycle of goats. *Small Ruminant Research* 57: 57-65.
- Zarazaga, L., I. Celi, J. Guzmán y B. Malpaux. 2010. Melatonin concentrations in the two jugular veins, and relationship with the seasonal reproductive activity in goats. *Theriogenology* 74: 221-228.
- Zarazaga, L. A., J. L. Guzmán, C. Domínguez, M. C. Pérez y R. Prieto. 2005. Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Animal Reproduction Science* 87: 253-267.
- Zerbe, P., M. Clauss, D. Codron, L. Bingaman Lackey, E. Rensch, J. W. Streich, J. M. Hatt y D. W. Muller. 2012. Reproductive seasonality in captive wild ruminants: implications for biogeographical adaptation, photoperiodic

control, and life history. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 87: 965-990.