



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
COORDINACIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA



**PROGESTERONA EXÓGENA EN LA EXPRESIÓN DEL ESTRO Y
COMPONENTES CITOLÓGICOS VAGINALES EN CABRAS ALPINAS**

Por:

MVZ Gabriela Palomo Martell

**Tesis profesional presentada como requisito parcial para obtener el grado de
Maestra en Producción Agropecuaria.**

Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

Noviembre 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
COORDINACIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA



**PROGESTERONA EXÓGENA EN LA EXPRESIÓN DEL ESTRO Y
COMPONENTES CITOLÓGICOS VAGINALES EN CABRAS ALPINAS**

Por:

MVZ Gabriela Palomo Martell

**Tesis profesional presentada como requisito parcial para obtener el grado de
Maestra en Producción Agropecuaria.**

Asesor principal:

Dra. Camelia Alejandra Herrera Corredor.

Asesores:

Dra. Anabel Romero Dávila

Dr. Marco Antonio Rivas Jacobo

Dr. Fidel Ávila Ramos

El trabajo titulado “**Progesterona exógena en la expresión del estro y componentes citológicos vaginales en cabras Alpinas**” fue realizado por Gabriela Palomo Martell como requisito parcial para obtener el título de "Maestra en Producción Agropecuaria" y fue revisado y aprobado por el suscrito Comité de Tesis.

Dra. Camelia Alejandra Herrera Corredor

Asesor Principal

Dra. Anabel Romero Dávila

Asesor

Dr. Marco Antonio Rivas Jacobo.

Asesor

Dr. Fidel Ávila Ramos

Asesor

Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. a 18 días del mes de Noviembre del 2016

DEDICATORIA

A mis padres:

A mi madre, Margarita Martell que desde el cielo me acompaña en todo momento, que a pesar de los vacíos y tristezas que dejaste, me diste fortaleza para querer ser una mejor persona en todos los aspectos de mi vida y así un día poder encontrarnos nuevamente.

A mi padre, Adalberto Palomo que gracias a tu apoyo incondicional me he convertido en lo que soy ahora. Todo esto no sería posible sin tu apoyo y tu cariño. Gracias.

A mi esposo:

Víctor Ignacio por tu apoyo y tu motivación hacia mi desde que te conozco, gracias por compartir tu vida a lado de la mía y darme fuerzas para seguir adelante en los obstáculos que se presentan en nuestras vidas. Gracias por mostrarme que con amor y paciencia todo se puede.

A mi hijo:

Elías, que a tu llegada diste un giro completo a mi vida. Por ti y para ti lograré muchas metas más.

A mis hermanas:

Claudia y Gisela, gracias por estar juntas en este camino y por todo lo que nos falta recorrer.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí:

Por haberme seleccionado para formar parte de su casa de estudios y realizar la Maestría en Producción Agropecuaria y poderme desarrollar profesionalmente.

Al CONACYT:

Por la beca otorgada durante la duración de la maestría para poder concluir este posgrado. Número de beca: 635169

Al Fondo de Apoyo a la investigación-UASLP (FAI):

Por el financiamiento para el proyecto a través del convenio: C15-FAI-04-46.46.

A mis asesores:

Dra. Camelia Alejandra Herrera Corredor: por sus conocimientos brindados, sus orientaciones, su paciencia y su motivación hacia mí y a este proyecto.

Dra. Anabel Romero Dávila: por todas sus enseñanzas en estos dos años, por su apoyo y su tiempo dedicado.

Dr. Marco Antonio Rivas Jacobo: por haberme ayudado en este proyecto a la realización de dietas y sus correcciones hacia mi trabajo.

A mis profesores:

A todos los profesores que impartieron clases en esta generación 2014-2016, Dr. Gilberto Ballesteros, Dra. Delia Xóchitl, Dr. Avalos, Dra. Milagros, Dr. Marín y a los externos que nos apoyaron en las distintas materias de nuestro curso. Gracias por sus enseñanzas.

Al laboratorio de Hormonas y Medicina Nuclear de la Facultad de Medicina de la UASLP y a la Q.F.B. Esperanza de la Cruz Mendoza, Jefa del Laboratorio:

Por las facilidades otorgadas para realizar el análisis de progesterona, de manera especial a la Q.F.B. Mayra Nelly Quezada Cuellar, por el apoyo técnico y atenciones brindadas durante el tiempo que se realizaron los análisis, Gracias.

A mis compañeros:

En especial a mi compañero Juan Manuel Vázquez, por el apoyo durante mi proyecto en la Unidad Caprina de la Facultad, gracias por las veces que trabajamos de madrugada y de noche. Hiciste que el trabajo fuera más ameno para ambos.

A los alumnos de la Maestría en Producción Agropecuaria de la Generación 2015-2017 por su ayuda y apoyo en el proyecto. Gustavo, Sinhue, Leo, Daniel, Lupita, Carolina e Israel. Gracias muchachos.

A mis compañeras de generación Esmeralda y Bárbara que me brindaron su amistad y apoyo. Gracias por hacer este camino más sencillo.

A mi Maestra de Licenciatura:

Dra. Rosa María Meléndez Soto, Maestra de endocrinología y reproducción animal de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, gracias por sus valiosas enseñanzas y su

forma de impartir conocimientos que me ayudaron a entrar a esta Maestría y a que fuera más sencillo esto. Lo que bien se aprende, nunca se olvida. Ojalá coincidamos en algún otro momento.

A la Sra. Rosa Cortina Hernández:

Por permitirme la entrega del folleto de divulgación en su pequeña producción en el ejido de Ignacio Allende, en el municipio de Mexquitic de Carmona.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xii
SUMMARY.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Generalidades de caprinocultura.....	3
Caprinocultura Nacional y local.....	3
Fisiología de la reproducción en caprinos.....	4
Ciclo estral	5
Endocrinología del ciclo estral.....	5
Comportamiento estral	6
Dinámica folicular.....	7
Tiempo de ovulación.....	8
Estacionalidad reproductiva	9
Parámetros indicadores de estro.....	10

Proliferación celular vaginal	10
Citología vaginal exfoliativa.....	10
Características citológicas de las diferentes etapas del ciclo estral.....	11
Estradiol y progesterona.....	12
Radioinmunoanálisis	12
Sincronización.....	13
Progestágenos sintéticos y naturales	14
Prostaglandinas	15
OBJETIVOS.....	16
HIPÓTESIS	16
JUSTIFICACIÓN	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
Ubicación	17
Animales y tratamientos.....	17
Manejo reproductivo	18
Manejo de la alimentación	18
Instalaciones.....	18
Mediciones	18
Variables de respuesta.....	20
Análisis estadístico.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21

Respuesta al estro.....	21
Inicio y duración de estro.....	22
Número de folículos de 4-5 mm y >6 mm de diámetro	23
Citología vaginal (hembras en estro)	24
Células parabasales	24
Células intermedias	26
Células superficiales.....	28
Progesterona en suero	31
CONCLUSIONES.....	32
LITERATURA CITADA	33
ANEXOS	37

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro		Página
1	Inicio y duración de estro con tratamientos de 9 días de Progesterona (9D), 7 días de progesterona (7D) y Prostaglandinas (PG).....	22

Figura		Página
1	Número de folículos medianos (4-5 mm de diámetro) observados en los tres tratamientos (9D = Progesterona 9 días, 7D = Progesterona 7 días y PG= prostaglandinas) a las 24, 48 y 72 horas del inicio del estro.....	24
2	Número de folículos grandes (<6 mm de diámetro) observados en los tres tratamientos (9D= Progesterona 9 días, 7D= Progesterona 7 días y PG= prostaglandinas) a las 24, 48 y 72 horas del inicio del estro.....	24
3	Células parabasales observadas con objetivo 40x en cabra Alpina con tratamiento de progesterona por 9 días, al primer día del estro.....	25
4	Células parabasales observadas con objetivo 40x en cabra Alpina con tratamiento de progesterona por 7 días, al tercer día del estro.....	25
5	Células parabasales observadas con objetivo de 40 x en cabra Alpina con tratamiento de prostaglandinas el primer día del estro.....	25
6	Porcentaje de células parabasales de las hembras que presentaron estro en los tres tratamientos.....	26
7	Células intermedias observadas con objetivo de 40x en cabra alpina con tratamiento de 7 días de progesterona al tercer día del estro.....	27

8	Células intermedias observadas con objetivo de 40 x en cabra Alpina con tratamiento de prostaglandinas al segundo día del estro.....	27
9	Células intermedias observadas con objetivo de 40 x en cabra Alpina con tratamiento de 7 días de progesterona al tercer día del estro.....	28
10	Porcentaje de células intermedias de las hembras que presentaron estro en los tres tratamientos.....	28
11	Células superficiales observadas con objetivo de 40x en cabra Alpina con tratamiento de prostaglandinas al tercer día de la segunda aplicación de PG.....	29
12	Células superficiales observadas con objetivo de 40x en cabra Alpina con tratamiento de 9 días de progesterona al segundo día del estro.....	29
13	Células superficiales observadas con objetivo de 40x en cabra Alpina con tratamiento de 9 días de progesterona al segundo día del estro.....	29
14	Porcentaje de células superficiales de las hembras que presentaron estro en los tres tratamientos.....	30
15	Niveles de concentración de progesterona en suero en tratamientos de 7 y 9 días con CIDR y prostaglandinas durante los días del estro.....	31

RESUMEN

El objetivo del siguiente trabajo fue determinar el efecto de la progesterona exógena (dispositivo CIDR) en los componentes citológicos vaginales, además de determinar si existe relación entre la funcionalidad ovárica, el recambio celular en la vagina, la expresión del estro para validar la técnica citológica como herramienta en la reproducción caprina. Se realizó un estudio en la Unidad Caprina de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, durante la época reproductiva en donde se utilizaron 34 cabras multíparas con un peso promedio de 51 ± 1.2 kg, las cuales se dividieron en 3 grupos a los que se les asignó los siguientes tratamientos: 9D (n=12) Aplicación CIDR durante 9 días, 7D (n=12) CIDR durante 7 días y PG (n=12) Aplicación de 2 dosis de prostaglandina con intervalo de 9 días. Hubo diferencias en el inicio y duración del estro en los tres tratamientos ($P < 0.05$), donde las cabras que respondieron a la sincronización con 9D retrasaron el inicio del estro, seguidas del tratamiento de 7D y PG. En cuanto al número de folículos se observaron un mayor número de folículos medianos en el tratamiento PG a las 24 horas del inicio del estro y para folículos >6 mm se observó que existe un mayor número con el tratamiento 7D. En los componentes citológicos se observó que las hembras con tratamiento de CIDR presentaron un mayor porcentaje de células parabasales al retiro del dispositivo, con respecto a las hembras del tratamiento PG. Para las células superficiales hubo diferencias ($P < 0.05$) del tratamiento con progesterona con respecto al de prostaglandinas, ya que este al momento de expresar comportamiento sexual se observó mayor número de células superficiales. La medición de niveles plasmáticos con progesterona exógena es más alta que los niveles del tratamiento de PG. Los tratamientos con progesterona exógena tienden a una aparición más tardía del estro, lo cual también se relaciona con la duración de éste. Las células superficiales que nos indican estro aparecen en un mayor número con el tratamiento PG, lo cual nos permite concluir en un mayor beneficio con el tratamiento de PG.

SUMMARY

The aim of this study was to determinate the exogenous progesterone effect (CIDR device) in the vaginal cytology components and to determinate if there is a connection between ovarian functionality, changes in vaginal cellularity and oestrus appearance to validate the cytology technique as an important tool in goat reproduction. The study was implemented at Unidad Caprina in Facultad de Agronomía y Veterinaria of Universidad Autónoma de San Luis Potosí, during breeding season. 34 goats were used with an average weight of 51 ± 1.2 kg, the animals were separated in 3 groups and assigned the next treatments: 9D (n=12) CIDR application for 9 days, 7D (n=12) CIDR application for 7 days and PG (n=12) prostaglandin application in 2 doses over a period of 9 days. There were differences at the beginning of oestrus and the length in the 3 treatments ($P < 0.05$), goats that responded with 9D delayed the beginning of oestrus, followed by 7D and PG treatment. With PG treatment we observed more medium follicles at the beginning of oestrus, and for >6 mm follicles there were a greater number with 7D treatment. Does with CIDR treatment presented greater percentage of parabasal cells when the device was retired compared to does with PG treatment. There were differences ($P < 0.05$) for superficial cells in progesterone treatment compared to prostaglandin treatment at the moment of sexual behavior was observed, more superficial cells were found. Measurement of progesterone plasma levels is higher in progesterone treatment than in prostaglandin. Progesterone treatments have a late appearance of oestrus, which is related with the length. Superficial cells indicate estrus and they appear in a greater number with PG treatment, which allows us to conclude that PG treatment has more benefits.

INTRODUCCIÓN

La producción caprina representa un recurso importante para ciertos estratos sociales. A pesar de que en México hay unidades caprinas en donde se aplica tecnología avanzada, aunque el común denominador de este sector es la escasa o nula tecnificación aplicada en los procesos productivos (Buxadé, 1996).

La gran adaptabilidad de la cabra, así como su rusticidad, la han hecho un animal que se encuentra prácticamente en toda la superficie de México, pero hay una concentración sobresaliente en áreas bien delimitadas, cuyas características permiten establecer zonas de producción: Región norte: al cual los estados más representativos son San Luis Potosí, Coahuila y Zacatecas en cuanto a producción de carne y Coahuila y Durango para la producción lechera. Región Mixteca: la conforman parte de los estados de Puebla, Oaxaca y Guerrero. (Gómez *et al*, 2009). San Luis Potosí, tiene una población caprina de 616,749 cabezas, ocupando el sexto lugar a nivel nacional (SIAP, 2014).

Un aspecto muy positivo de la producción caprina es la alta fertilidad y prolificidad, ya que no presenta problemas en su reproducción como en otras especies. Una de sus limitantes más serias es su estacionalidad reproductiva, la cual se presenta en forma natural de agosto a noviembre para presentar la época de nacimientos en febrero, marzo y abril (Cantú, 2008).

La eficiencia reproductiva determina en gran medida la utilidad económica, independientemente si se trata de explotaciones caprinas destinadas a la producción de leche, carne o doble propósito (Cantú, 2008).

Una de las herramientas biotecnológicas para incrementar la eficiencia reproductiva en pequeños rumiantes es el uso de la Inseminación Artificial (IA), la cual se acompaña de tratamientos de sincronización e inducción de estros, lo que ha sido de gran apoyo para el desarrollo de ésta técnica (Evans, 1990).

En los tratamientos de sincronización, el uso de tratamientos con progestágenos o prostaglandinas ocasiona una variabilidad en la duración del estro, la cual es mayor cuando las hembras son sincronizadas con progestágenos en comparación con prostaglandinas (Romano, 1998), por lo que es probable que un estro prolongado genere mayor variabilidad en el momento de la ovulación.

El tiempo de ovulación, está relacionado con la aparición del estro, por lo que el conocer con exactitud el momento de la ovulación es muy importante para el éxito de la inseminación. Como los óvulos sólo tienen un corto período de vida fertilizable, la inseminación debe realizarse de tal forma que los espermatozoides alcancen los oviductos cerca del tiempo de la ovulación. La inseminación posterior suele traducirse en un grado reducido de fertilidad (Evans, 1990).

Por otro lado, la influencia de las hormonas ováricas sobre el epitelio vaginal ocasiona cambios citológicos característicos que permiten, en la mayoría de los casos, determinar la etapa del ciclo estral en la que se encuentra la hembra (De Buen, 2001).

Diferentes estudios en mujeres han señalado la concordancia del moco con la ovulación. Se han utilizado varios sistemas para señalar la ovulación como día pico: comparándolo hormonalmente al pico de la hormona luteinizante (LH) en plasma o en orina, a la elevación de la progesterona, y/o con el máximo diámetro folicular por ecografía (Menárguez, 2006).

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades de caprinocultura.

La cabra por su gran rusticidad y adaptabilidad, así como la relativa facilidad para explotarla y los beneficios que proporciona, representa un recurso de importancia social, ya que son muchos los habitantes que subsisten gracias a ella (Cantú, 2008).

Más de un 90% del censo caprino mundial se asienta en países subdesarrollados y en vías de desarrollo, lo que significa el importante papel que sigue jugando la especie caprina en las economías de subsistencia, en el aprovechamiento de áreas marginales de escasos recursos forrajeros y como transformadora de subproductos agrícolas (Daza *et al*, 2004).

El ganado caprino se ha utilizado para la producción de leche, carne, pieles y estiércol, teniendo, actualmente, una relevancia productiva muy discreta a escala mundial, comunitaria y nacional, comparado con la de otras especies ganaderas de rumiantes (Daza *et al*, 2004).

Caprinocultura Nacional y local

El principal enfoque en la ganadería en México, y del mundo, en cuanto a técnicas y facilidades se refiere, es para el ganado bovino productor de leche o carne, mientras que al ganado caprino no se le ha dado la importancia que merece. De modo que el potencial representado por el gran número de cabras que existe no se está aprovechando como debería de ser (Cantú, 2008).

La población caprina en México desempeña una función socioeconómica indiscutible, ya que conforma la base económica de más de un millón de personas, que viven de la fabricación de los productos necesarios para la cría, transformación y comercialización. Además, la explotación de esta especie se encuentra al alcance de la población rural y

campesina, por lo reducido de la inversión en animales, construcciones y mantenimiento (Mayén, 2009).

A pesar de que en México hay unidades caprinas en donde se aplica tecnología avanzada, el común denominador de este sector pecuario es la escasa o nula tecnificación aplicada en los procesos productivos (Gómez, 2009).

Existen tres grandes zonas de implantación caprina que albergan el 81.6% de la población total del país, la zona norte (Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Durango, Zacatecas y San Luis Potosí) concentra el 45.5% del total, zona centro (Guanajuato, Querétaro y Michoacán) que alberga el 10% y zona sur (Oaxaca, Puebla y Guerrero) con el 26.1% (Mayén, 2009).

En San Luis Potosí, los municipios que tienen una mayor producción son: Ciudad del maíz, Guadalucazar, Villa Hidalgo y Matehuala (SIAP, 2014).

Fisiología de la reproducción en caprinos.

La utilidad económica en la explotación animal está determinada por la eficiencia reproductiva, por lo cual es indispensable conocer las características fisiológicas de los órganos reproductores, así como las técnicas más modernas para incrementar dicha eficiencia (Mayén, 2009).

La reproducción es un factor de especial relevancia en la producción caprina ya que de su manejo y control dependen las variables reproductivas como la fertilidad y prolificidad y, como consecuencia, la producción de leche y de carne de las explotaciones (Daza *et al.*, 2004).

Una de sus limitantes más serias es su estacionalidad reproductiva, la cual se presenta en forma natural de agosto a noviembre para presentar la época de nacimientos en febrero, marzo y abril (Cantú, 2008).

Ciclo estral

En la fisiología de la reproducción de la hembra se considera al ciclo estral como el desarrollo de control y estimulación de la actividad hormonal; es decir, como mecanismos neuroendocrinos, entre otros, que ayudan a comprender el funcionamiento reproductivo de la hembra (Cortéz, 2014).

De acuerdo a Asdel (1964), la duración del ciclo estral caprino es variable y dura en promedio 21 días. El ciclo estral en la cabra Alpina Francesa ha sido registrado con una duración promedio de 20 días (Chemineau *et al.*, 1991). Cerca del 77% de los ciclos pueden ser considerados como normales (17-25 días), 14% como cortos (<17 días) y 9% como largos (>25 días). La distribución normal y extendida de los ciclos fue significativamente influenciada por la estación (Llewelyn *et al.*, 1993).

Las concentraciones de estradiol y progesterona en plasma durante el ciclo estral en cabras, como en el ganado bovino, la secreción de estradiol del folículo ovárico que se acerca al nivel preovulatorio es restaurado después de cuatro días del estro y su rápido decline después de este tiempo puede ser debido a la influencia inhibitoria de las rápidas crecientes concentraciones de progesterona en plasma (Abeyawardene y Pope 1990).

Endocrinología del ciclo estral

El ciclo estral es regulado por mecanismos endocrinos y neuroendocrinos; esto es, por hormonas hipotalámicas, gonadotropinas y esteroides secretados por testículos y ovario. Un componente que se sabe influye de manera importante es la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Los cambios en las tasas de síntesis y liberación de GnRH, así como la velocidad de degradación de dicha hormona, son factores adicionales que modifican su papel en la influencia sobre la liberación de gonadotropinas. A nivel del ovario, el período estral se caracteriza por una elevada secreción de estrógenos a partir de los folículos de Graaf preovulatorios. Al final del estro ocurre la ovulación seguida de la formación del cuerpo amarillo, lo que resulta en la secreción de progesterona. El cuerpo amarillo está constituido por dos tipos distintos de células esteroideogénicas, de

las cuales ambas contribuyen significativamente a la secreción total de progesterona durante la fase de cuerpo amarillo del ciclo estral. Las células lúteas pequeñas secretan poca progesterona a menos que sean estimuladas por LH, mientras que las células lúteas grandes la secretan espontáneamente en grandes cantidades. La prostaglandina F_{2α} es la hormona uterina luteolítica en varias especies de mamíferos. La PGF_{2α} uterina controla el lapso de vida del cuerpo amarillo, que a su vez regula la duración del ciclo. Si la hembra es preñada debe anularse la influencia luteolítica del útero, ya que la progesterona secretada por el CL es necesaria para el mantenimiento de la gestación. El período de actividad del cuerpo amarillo se llama fase lútea; dura 14 a 15 días en ovejas. La fase folicular, que va de la regresión del CL a la ovulación, es relativamente corta: dos a tres días en ovejas y cabras. Esta breve fase folicular no refleja la duración real del crecimiento de los folículos de Graaf. Por tanto, la duración del ciclo estral está íntimamente relacionado con la duración de la fase lútea. La regresión del CL no es causada por un decremento en la secreción de hormonas luteotrópicas hipofisarias (LH y prolactina), sino por la acción de un factor luteolítico, la prostaglandina F_{2α} (Hafez, 2002).

Comportamiento estral

Diversos patrones de cortejo, exhibición, actividades motoras y posturas están encaminados a reunir a los gametos masculinos y femeninos para asegurar la fecundación, la preñez y la propagación de las especies. Las expresiones de comportamientos sexuales son influenciadas por hormonas presentes en la circulación, y los cambios en el comportamiento traen consigo modificación en la secreción hormonal, afectado de este modo comportamientos subsecuentes. Por tanto, la cadena o la secuencia de proceso incluyen ambos, hormonas y comportamientos (Durán, 2007).

Los signos de estro son más notables en la cabra que en la oveja. Una cabra en estro está inquieta, bala con frecuencia y agita la cola de manera constante y rápida; es posible que se reduzcan el apetito y la producción de leche. En la oveja el estro es relativamente poco notable, y no se observa en ausencia del macho. Es posible que la vulva esté

edematosa, y que sea evidente una secreción de moco por la vagina en ambas especies. En ocasiones alguna cabra puede mostrar comportamiento homosexual, pero este comportamiento no se observa en las ovejas. Ovejas y cabras a menudo muestran una conducta de intensa búsqueda del macho y permanecen muy cerca de ellos. Sin embargo, en ambas especies es difícil detectar el estro en ausencia del macho (Hafez, 2002).

Dinámica folicular

Los conocimientos sobre el desarrollo del folículo son importantes para diseñar métodos para manipular la fertilidad y la productividad de los animales de abasto (Evans, 2003). Surge una oleada folicular aproximadamente cada 10 días, y cada oleada contribuye a que aparezca un folículo dominante de gran tamaño (>6 mm) Los restantes folículos regresionan y se les conoce con el nombre de folículos subordinados. Puede darse un número distinto de oleadas foliculares en cada ciclo estral. Se sabe que la oleada a partir de la cual se genera el folículo ovulatorio es más corta que las oleadas anteriores (Gordon, 2004).

Ginter y Kot (1994) sugieren el uso de ultrasonido para determinar la naturaleza de la dinámica folicular durante la estación reproductiva. De acuerdo a sus estudios, existen cuatro oleadas foliculares durante el ciclo estral caprino, con la ovulación ocurriendo durante cuarta oleada. El fenómeno de la dominancia folicular fue difícil de evaluar en la cabra por su aparente presencia durante algunas oleadas y ausencia durante otras y debido a que es común observar dos folículos dominantes por oleada. Los autores concluyeron que la dominancia folicular es menos frecuente en cabras que lo que ha sido reportado en ganado.

Tiempo de ovulación

La ovulación es el proceso mediante el cual se rompe el folículo maduro y se libera el ovulo maduro. Tanto en la oveja como en la cabra la ovulación es espontánea (Durán, 2007).

Tanto la longitud del ciclo estral como la del período de estro y la relación con el momento de ovulación representan, sin duda, una característica genética y ambiental en las cabras criollas e igualmente variable entre individuos y estaciones del año (González, 1993).

El tiempo de ovulación, está relacionado con la aparición del estro, en la cabra unas 30 a 36 horas, también, después de que aparezca el estro. Por tanto, la ovulación se presenta hacia el final del estro, aunque en las hembras con estros cortos puede que ocurra al final. Cuando maduran dos o más folículos en el mismo ciclo estral, los óvulos se liberan con 2-3 horas de diferencia entre ellos (Evans, 1990).

El conocer con exactitud el momento de la ovulación es muy importante para el éxito de la inseminación. Como los óvulos sólo tienen un corto período de vida fertilizable, la inseminación debe realizarse de tal forma que los espermatozoides alcancen los oviductos cerca del tiempo de la ovulación. La inseminación posterior suele traducirse en un grado reducido de fertilidad (Evans, 1990).

El grado de ovulación (número de óvulos liberados en la ovulación) viene determinado por el número de folículos que se desarrollan hasta el estadio de folículo de Graaf. El grado de ovulación determina, parcialmente, el número de crías que va a tener la hembra. Las ovulaciones múltiples mejoran los índices de concepción. En general, las cabras presentan grados de ovulación más grandes que los de la oveja, si bien existen una serie de factores que influyen sobre el grado de ovulación de cada especie. Entre esos factores se encuentran los factores genéticos, el peso del animal, el estado de nutrición, la edad de los animales y el fotoperiodo (Evans, 1990).

A diferencia de las ovejas, la restricción alimenticia no es una limitante para que las cabras restablezcan su actividad reproductiva, puedan ser inducidas a presentar estro, se altere su tasa de ovulaciones, conciban y lleven su gestación a término. (Mellado, 2008).

El grado de ovulación se incrementa con la edad, presentando un máximo a los 3-5 años. En la mayoría de las hembras el grado de ovulación aumenta desde el principio de la estación reproductiva hasta la mitad de la misma, donde presenta el máximo, para luego descender hasta que aparece el anestro (Evans, 1990).

El grado de ovulación puede aumentar por diversos tratamientos tales como la inyección de gonadotropinas exógenas, inmunización contra hormonas ováricas o introducción inmediata de machos con lotes de hembras, previamente aisladas (Gordon, 1997).

Estacionalidad reproductiva

En regiones templadas, la oveja y las cabras son poliéstricas estacionales, de modo que sus crías nacen durante la época más favorable del año, la primavera. Esta estacionalidad es regida por el fotoperíodo; la actividad estral comienza durante la época en que los días se hacen más cortos. En las zonas tropicales, donde hay menor variación de la duración del día, las ovejas y cabras nativas tienen a reproducirse todo el año. La estación reproductiva de las cabras lecheras, como las razas Toggenburg, Saanen, Alpina francesa y la mancha se limita a los meses entre agosto y febrero en la mayor parte de las regiones de América del Norte (Hafez, 2002).

Durante el verano, los ovarios de las ovejas en anestro desarrollan folículos y secretan estradiol si reciben estimulación con LH. La actividad folicular cambia durante todo el año en sincronía con los patrones circanuales de secreción de prolactina y la duración del día. La baja concentración de progesterona aumenta el tamaño de los folículos grandes y la edad de los folículos ovulatorios más viejos (Hafez, 2002).

La melatonina, una hormona pineal, modula la respuesta a los cambios en el fotoperíodo en ovejas.

Las concentraciones de esa hormona son altas durante períodos de oscuridad y bajas durante los periodos de luz, es probable que estas diferencias en el patrón de secreción de melatonina actúen como la señal que indica la duración del día al eje neuroendocrino (Hafez, 2002).

Parámetros indicadores de estro

Proliferación celular vaginal

El tracto reproductor femenino se encuentra bajo la influencia de diversas hormonas sexuales que actúan sobre las células epiteliales (Meikle *et al.*, 2001). Estas hormonas promueven eventos como la proliferación, diferenciación y muerte celular (Graham & Clarke, 1997; O'Brien *et al.*, 2006) que se observan mediante citología vaginal exfoliativa en diversas especies animales a lo largo del ciclo estral (Miroud & Noakes, 1990; Bouchard *et al.*, 1991; Ola *et al.*, 2006).

Bajo la influencia estrogénica, las capas del epitelio estratificado de la vagina, principalmente las más superficiales, sufren una proliferación, que tiene como resultado la exfoliación de células queratinizadas. Mientras que cuando predomina la acción de la progesterona consecuente con la actividad de los estrógenos, ocurre la proliferación y maduración de células epiteliales presentes en capas más profundas (Shutte, 1967; De Buen, 2001).

Citología vaginal exfoliativa

En los trabajos de citología vaginal exfoliativa de manera general se clasifican las células epiteliales que se desprenden de la pared vaginal en: células parabasales, intermedias y superficiales. En esta clasificación se emplea fundamentalmente un criterio morfológico y de afinidad tintorial (Hayashi *et al.*, 1988), que al ser meramente descriptivo, presenta la desventaja de tener variaciones relacionadas con el ejecutor de la técnica (Moxon *et al.*, 2010).

Características citológicas de las diferentes etapas del ciclo estral

Estro: Predominan las células superficiales y las escamas. El fondo del frotis suele ser sucio.

Diestro: En esta fase, se alcanzan los niveles máximos de progesterona; por lo tanto en los frotis existe un predominio de células intermedias. Éstas, en su citoplasma, pueden tener vacuolas o leucocitos polimorfonucleares y se les conoce como células del diestro.

Anestro: Se considera que en esta etapa la influencia hormonal mínima o nula; por lo tanto, se observan células parabasales (De Buen, 2014).

En 1998, Pérez Martínez realizó un estudio de la dinámica de las células vaginales exfoliativas y su relación con los niveles de estrógeno y el comportamiento sexual en el periodo peripuberal y en cabras adultas. 62.5% de los animales peripuberales mostraron una citología vaginal exfoliativa con el ciclo estral y con el comportamiento típico del estro. El 17β -estradiol fue indetectable en la mayoría de los animales de este grupo, sin embargo la estrona se encontró en el suero de todas las cabras. Antes de la administración de acetato de melengestrol, los animales adultos mostraban distintos tipos de células vaginales en la citología y se detectaba estrona y 17β -estradiol en suero. La administración de progestina resultó en la predominancia de las células parabasales y como se esperaba, el comportamiento sexual estaba ausente después de este tratamiento. Los resultados mostraron que la estrona es el principal estrógeno producido durante el período peripuberal y que la citología vaginal es altamente indicativa de la demostración de la ciclicidad durante el período reproductivo.

En un estudio realizado en cabras de la raza Alpina por Toniollo *et al.* (2005), no se observaron células basales en los frotis de citología vaginal exfoliativa del ciclo estral de cabras sincronizadas y grupo control. En cuanto a las células intermedias aún en el proestro, no hubo diferencia entre el grupo sincronizado y el grupo control. Respecto a las células superficiales nucleadas no se observó diferencia significativa entre los grupos sincronizados con progestágenos y grupo control durante el metaestro y el diestro. En las células superficiales anucleadas hubo diferencia significativa en el proestro para ambos grupos y para el estro los dos grupos presentaron mayor número de células superficiales anucleadas.

Estradiol y progesterona

Existe una correlación significativa entre las concentraciones de estradiol y la expresión del comportamiento de celo, de igual manera la progesterona juega un papel crítico en la expresión de este comportamiento. La progesterona puede inhibir o favorecer la respuesta en comportamiento provocada por el estradiol dependiendo del tiempo de exposición, así como altas concentraciones de progesterona durante la fase luteal incrementa en número de receptores de estradiol en el hipotálamo medio-basal y por lo tanto incrementa la sensibilidad al estradiol. Por lo tanto el "priming" de progesterona es necesario para que se dé la expresión normal del comportamiento de celo, en consecuencia, la baja intensidad del estro presente en algunos animales puede estar directamente relacionada con una insuficiente exposición a la progesterona antes del estro (Henry, 2009).

Henry, 2009 menciona que la concentración de progesterona por sí sola no es determinante de la presentación de un calor, si es claro y evidente que ella influye sobre las probabilidades para que se dé una respuesta reproductiva favorable o desfavorable.

Radioinmunoanálisis

Una de las técnicas utilizada para determinar los niveles hormonales, ha sido el Radioinmunoanálisis (RIA), el cual utiliza como marca radiactiva al tritio (H) o I. Gran parte de los laboratorios de investigación en México utilizan RIA en fase líquida que contienen tritio como marca (Montes, 1994).

La técnica se basa en la competencia entre una hormona marcada con una no marcada, por un limitado número de sitios de unión en la molécula del anticuerpo, para lo cual se ponen a reaccionar cantidades conocidas o iguales del anticuerpo con cantidades conocidas de la hormona marcada (los kits de RIA para progesterona fase sólida utilizan I como isótopo marcador), variando solamente las concentraciones de la sustancia (hormona) presente en la muestra a analizar y en los valores conocidos de la curva

estándar. Una vez transcurrido el tiempo óptimo de incubación para el ensayo, se separan las partes unidas libres y se realiza el contaje de la radiactividad residual con un equipo especialmente diseñado, de manera que, a mayor radiactividad residual la concentración de la hormona en la muestra estudiada es menor. La cuantificación de la hormona presente en la muestra se determina contrastándola con los valores conocidos de la curva estándar (Montes, 1994).

Los progestágenos, sin considerar su estado de pureza, han sido aislados en ovarios, adrenales y sangre (Ramírez *et al.*, 2009).

Sincronización

Existen varias razones para desear el control del tiempo del estro en la cabra. En pequeños rebaños puede ser un problema no tener un macho disponible para detectar estro en cabras que tienen que ser transportadas con el macho para la reproducción. En hatos grandes, la inseminación artificial a tiempo fijo puede ser aplicada cuando un método preciso del control del estro y la ovulación es utilizado (Evans, 1990).

En la actualidad la producción de hormonas sintéticas posibilita un manejo endocrinológico del animal, dando origen a la manipulación del ciclo estral y la ovulación. Esto se logra al manipular la vida media del cuerpo lúteo (Gordon, 2004).

La sincronización del estro es una herramienta que se utiliza para aprovechar al máximo el período reproductivo de la hembra. Dicha estrategia mejora los resultados reproductivos. Una de las ventajas de la sincronización de los estros es la facilidad para la aplicación de programas de inseminación artificial, ya que permite predecir el momento del estro con un alto grado de precisión, reduciendo además el tiempo para su detección. Los métodos empleados para provocar la sincronización de la actividad ovárica en pequeños rumiantes se basan fundamentalmente en el empleo de análogos de hormonas (Buxadé, 1996)

El control de la reproducción en los pequeños rumiantes permite elegir la época de parición, reducir los períodos improductivos, optimizar el tamaño de la camada e incrementar la velocidad de la ganancia genética (Durán, 2007).

Comercialmente la sincronización se define como buena cuando un 90% o más de los animales tratados presentan conducta de celo durante las primeras 72 horas. Existen dos métodos básicos para sincronizar los ciclos estrales, los cuales dependen de la inhibición de secreción de LH o del acortamiento de vida del cuerpo lúteo con el inicio subsiguiente de la ovulación (Cantú, 2008).

Progestágenos sintéticos y naturales

Los progestágenos naturales o sintéticos son una estrategia flexible, ya que pueden ser utilizados durante el anestro o la estación reproductiva. Inicialmente, los métodos utilizados para controlar el ciclo estral involucraron la extensión del período de diestro con progestágenos, por un tiempo suficiente para permitir la ocurrencia espontánea de la luteólisis durante el período de tratamiento. Tratamientos largos (12–14 días) son utilizados en la actualidad en ovinos, para inducir y sincronizar el celo. Los tratamientos resultan en un alto porcentaje de animales demostrando comportamiento estral, pero la fertilidad es menor que durante un celo espontáneo (Robinson *et al.*, 1970).

En cabras cíclicas parece bien demostrado que la administración de progestágenos sintéticos prolonga los efectos de la secreción endógena de progesterona luteal. De esta forma, cualquiera que sea la fase del ciclo en que el animal se encuentra, si el tratamiento se prolonga durante tiempo suficiente al final todos los animales entrarán en celo al poco tiempo de ser interrumpido éste. En la cabra el tiempo necesario no es menor de 20 días, sobre todo considerando que, a diferencia de la oveja, la progesterona no desencadena el proceso luteolítico (Buxadé, 1996).

La utilización de progesterona puede realizarse:

- a) Mediante implantes subcutáneos.

b) Esponjas vaginales o dispositivos intravaginales.

c) Por inyecciones

El CIDR fue desarrollado en Nueva Zelanda como un dispositivo intravaginal para el control del estro y ovulación en ovejas. El CIDR es un dispositivo intravaginal impregnado de progesterona en un elastómero de silicona moldeado sobre un centro de nylon. El CIDR es adecuado tanto para ovejas primíparas como ovejas múltiparas. Los niveles de progesterona en plasma aumentan rápidamente después de la inserción del dispositivo y alcanza la concentración más alta 3 días después de la inserción y después disminuye gradualmente (Gordon, 2007).

Prostaglandinas

Una vez que la $PGF_{2\alpha}$ (PG) fue identificada como el factor luteolítico durante el ciclo estral de la oveja, se desarrollaron PG sintéticas para su uso en la inducción prematura de la luteólisis durante el diestro. Sin embargo, los tratamientos tradicionales con PG (en dosis simple o doble con intervalos de nueve a 12 días) no podían ser utilizados en protocolos de Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) por la gran dispersión en la manifestación de estros (24 a 120 horas), y por la consistente baja fertilidad de los mismos. Esta dispersión de estros tiene relación con la edad del cuerpo lúteo (CL) y con el estado de desarrollo folicular al momento de aplicar la PG. Cuanto más desarrollado esté el CL, más demorará la progesterona (P4) en alcanzar niveles sub-luteales y la oveja en manifestar estro y ovulación. El estado de la población folicular de cada individuo afecta el intervalo al estro. Si al momento de inyectar la PG el folículo dominante de la onda está en fase de crecimiento, el estro y la ovulación ocurrirán antes. Sin embargo, si el folículo dominante está en su fase de regresión, un nuevo folículo debe emerger y madurar, por lo que el estro y la ovulación ocurrirán más tarde (Viñoles, 2011).

OBJETIVOS

- Determinar el efecto de la progesterona exógena en los componentes citológicos vaginales.
- Determinar si existe una asociación entre la funcionalidad ovárica, el recambio celular de la vagina, la expresión del estro y los niveles de hormonas esteroides para validar la técnica citológica como herramienta para determinar el estado funcional del ovario.

HIPÓTESIS

- La exposición a progesterona exógena tiene efecto sobre los componentes citológicos vaginales.
- Existe asociación entre la expresión de estros, el cambio de células en el epitelio vaginal y los niveles circulantes de hormonas esteroides.

JUSTIFICACIÓN

El seguimiento de la actividad ovárica se realiza por medio de la determinación de las concentraciones plasmáticas de progesterona las cuales son analizadas por la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) lo que permite con gran confiabilidad conocer el estado del ovario. Sin embargo, la técnica requiere un manejo constante de los animales para la obtención de la muestra. Por otro lado, las hormonas ováricas ocasionan cambios citológicos sobre el epitelio vaginal característicos, que permiten en la mayoría de los casos, determinar la etapa del ciclo estral o preñez en la que se encuentra la hembra (citología hormonal), además de diagnosticar enfermedades vaginales o uterinas; en este sentido, la citología vaginal exfoliativa, se ha utilizado en la mayoría de las especies siendo un procedimiento ampliamente utilizado en medicina veterinaria. Pese a las ventajas y facilidad de manejo de las muestras que permite esta técnica, es necesario

establecer comparaciones con la técnica de RIA para validarla, lo que permitirá recomendarla como medio diagnóstico del estado fisiológico de las hembras particularmente en programas de sincronización de estros e inseminación artificial para identificar el momento de estro y ovulación de la cabra, lo que permitirá hacerlos más eficientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El estudio se realizó en la Unidad Caprina de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, durante los meses de octubre a diciembre (Época reproductiva) ubicada en el Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. en el Km 14.5 de la Carretera San Luis-Matehuala, a 22° 13' 39.8" Latitud Norte y 100° 50' 58.3" Longitud Oeste y a una altitud a 1835 msnm. El clima predominante es seco templado, con una franja al suroeste de clima semi-seco templado. La temperatura media anual es de 17.1 °C, la temperatura cálida comprende los meses de marzo a octubre y periodo frío es de noviembre a febrero y una precipitación pluvial de 362mm.

Animales y tratamientos

Se utilizaron 34 cabras multíparas de raza Alpina Francesa, mantenidas bajo fotoperiodo natural en la estación reproductiva y en anestro estacional, con un peso promedio de 51±1.2 kg y condición corporal de 3 en escala 1-5 (Russel *et al.*, 1969), clínicamente sanas.

Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a las cabras, de la siguiente manera:

Tratamiento 1 (n=12): Aplicación de CIDR® (3 mg de progesterona natural) vía intravaginal, durante 9 días. (9D)

Tratamiento 2 (n=12): Aplicación de CIDR® (3 mg de progesterona natural) vía intravaginal, durante 7 días. (7D)

Tratamiento 3 (n=10): Aplicación de dos dosis (1.5 mL, 7.5 mg) Prostaglandina (Lutalyse ® Dinoprost, trometamina), vía intramuscular, con intervalo de 9 días. (PG)

Manejo reproductivo

Una vez terminado el periodo correspondiente a cada tratamiento de permanencia del CIDR, doce horas después de retirado se procedió a la detección de estros, por medio de machos marcadores provistos de un mandil, los estros se detectaron cada 12 horas, se registró el inicio del estro como el momento en que la hembra se dejó montar por primera vez y el final del estro cuando la hembra no aceptó más la monta.

Para las hembras de PG, la detección de estros inició 12 horas después de la segunda aplicación, siguiendo el mismo protocolo que en 9D y 7D.

Manejo de la alimentación

Las cabras se alimentaron con una dieta base, para cubrir sus requerimientos para la etapa de acuerdo a lo recomendado por el NRC (2007), la dieta fue a base de alfalfa achicalada, ensilado de maíz, sales minerales y agua a libre acceso.

Instalaciones

Los animales se alojaron en corrales de tierra, cercados con malla ciclónica de aproximadamente 2.5 m de altura, provistos con un 30% de sombra, comederos de concreto y bebederos de acero inoxidable y saladeros.

Mediciones

- Inicio del estro (horas): Tiempo transcurrido entre el momento del retiro del CIDR y el momento en que la hembra aceptó la monta por primera vez.
- Duración del estro (horas): Tiempo transcurrido entre el momento que la hembra aceptó la monta por primera vez, hasta que rechaza la monta.

- Citología vaginal exfoliativa: Se tomaron frotis vaginales el día de aplicación del tratamiento y durante el tiempo en que la hembra expresó comportamiento sexual. Los frotis vaginales se tomaron usando un hisopo de algodón estéril, impregnado con solución salina fisiológica, las muestras fueron colectadas de la parte craneal de la pared de la vagina, abriendo los labios vulvares de la cabra e introduciendo el hisopo en la comisura dorsal de la vulva, evitando pasar por la fosa clitorica, siguiendo en dirección dorso craneal hasta pasar por el arco isquiático (Silva *et al.*, 2004). Una vez tomada la muestra se extendió por rodamiento en un portaobjetos debidamente identificado con el número del animal, día del ciclo estral y se dejó secar al aire para iniciar el proceso de tinción en el laboratorio. La tinción se realizó con un kit para tinción rápida por medio de un hemocolorante (HYCEL®).

El análisis de los frotis se realizó con un microscopio óptico, con objetivo de 40x. Se utilizó el criterio de Grunert para clasificar las células vaginales en superficiales, intermedias y parabasales (Schutte, 1967) en 5 campos de la muestra. El número de cada tipo de células será expresado como porcentaje para determinar el valor estrogénico de la muestra.

- Estructuras ováricas: La exploración ovárica se realizó cuando las hembras fueron detectadas en estro, por medio de ultrasonografía transrectal en tiempo real (Sonovet 600, Universal Medical Systems Inc. y transductor lineal de 7.5 MHz) para determinar el número y diámetro de folículos de 4-5 mm y > 6 mm de diámetro (Evans, 2000).
- Concentración de Progesterona: Se colectaron muestras sanguíneas (4 mL), vía punción de la vena yugular mediante tubos vacutainer heparinizados al vacío, a partir del día de aplicación del dispositivo y durante el estro para determinar la concentración de progesterona en sangre. Las muestras se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 min, dentro de la primera hora de su obtención y una vez separado el plasma se mantuvieron en congelación a -20°C hasta su análisis. Los niveles de progesterona se determinaron por RIA en fase sólida en el laboratorio

de Medicina Nuclear de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Se consideró que una cabra había ovulado cuando las concentraciones de progesterona fueron iguales o mayores a 1 ng mL^{-1} en por lo menos dos muestras consecutivas (English *et al.*, 1986).

Variables de respuesta

- Inicio del estro (horas)
- Duración del estro (horas)
- Número de folículos de 4-5 mm de diámetro
- Número de folículos >6 mm de diámetro
- Porcentaje de células predominantes
 - Parabasales
 - Intermedias
 - Superficiales
- Concentración de Progesterona en sangre (ng mL^{-1})

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó por medio de un diseño experimental completamente al azar, cuyo modelo estadístico es:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Valor de la variable respuesta del i -ésimo tratamiento ($i= 1, \dots, 3$).

μ = Constante que caracteriza a la población.

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento ($i= 1, \dots, 3$).

E_{ij} = Error experimental.

$E_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

El análisis de los datos se realizó por medio de los procedimientos GLM (SAS, 2004) y pruebas de comparación de medias de Tukey y transformaciones Raíz cuadrada para los porcentajes de tipos celulares.

RESULTADOS Y DISCUSION

Respuesta al estro

No hubo diferencias ($P > 0.05$) en la presentación del estro entre los tratamientos 9D y 7D, el 100% (12/12) de las hembras en el tratamiento 9D presentó estro después del retiro del CIDR y 92% (11/12) en el tratamiento 7D, pero si hubo diferencias ($P < 0.05$) con respecto al tratamiento de prostaglandinas ya que solo 60% (6/10) en las cabras que recibieron prostaglandina exhibieron comportamiento sexual.

Ruiz *et al.* (2002) obtuvo con un tratamiento con progestágenos durante 12 días un 65% de presentación de estro dentro del tiempo estipulado (77 horas) y un 67% de las cabras ciclando dentro de los primeros 10 días de observación, con 2 aplicaciones de prostaglandinas espaciadas por 12 días. Así mismo, Uribe-Velásquez (2008) al aplicar prostaglandina en intervalo de 9 días obtuvo 100% en la sincronización manifestando estro.

Los métodos que pueden ser usados exitosamente varían de acuerdo al estado fisiológico de la cabra. Así, durante la estación reproductiva, la prostaglandina $F2\alpha$ durante la fase luteal del ciclo normal induce el estro en aproximadamente 48 horas, a pesar de que algunas investigaciones han tenido mejores resultados con dobles dosis (Nutti *et al.* 1992; Mellado *et al.* 1994). Si en la cabra no se conoce que esté en el día 5 del ciclo o después,

dos dosis de prostaglandina con intervalo de 10 días aumentarán la probabilidad de respuesta a la prostaglandina en el momento de la segunda inyección (Smith, 2009).

Durante el período transicional (entre el anestro y la estación reproductiva), la respuesta a la prostaglandina sola puede ser errática, pero ya sea con la introducción de un macho o la aplicación de progesterona exógena seguida de prostaglandina puede ser efectiva para inducir el ciclo (Smith, 2009).

Inicio y duración de estro

Hubo diferencias en el inicio del estro en los tres tratamientos evaluados ($P < 0.05$). Las cabras que respondieron a la sincronización con 9D de progesterona, retrasaron el inicio del estro, seguidas del tratamiento de 7D y PG (Cuadro 1). El mismo comportamiento se observa en cuanto a la duración del estro, el cuál tiende a ser más prolongado en los tratamientos con progesterona y de menor duración en los de prostaglandina (Cuadro 1), lo que repercute en el tiempo al que se presenta la ovulación.

Cuadro 1. Inicio y duración de estro con tratamientos de 9 días de progesterona (9D, 7 días de progesterona (7D) y prostaglandinas (PG).

	Promedio Inicio de celo (h)	Duración de celo (h)
9D	49±32.14	45±27.61
7D	36.5±19.05	39.8±17.44
PG	26±4.47	32±9.79

Ruiz *et al* (2002) al aplicar progestágenos en cabras durante 12 días, observó la manifestación de estro a las 77.6 ± 7.8 horas posteriores al retiro de las esponjas, el 76.5% de los estros se concentraron entre el segundo y tercer día.

Ruiz *et al*, (2002) al aplicar prostaglandinas en cabras observó la aparición de estro a las 90.7 ± 11.6 horas. A pesar de haber observado una dispersión de estros en 10 días de

detección, el 72% del total de hembras sincronizadas se concentró entre el segundo y tercer día post tratamiento. Estos datos mencionados por Ruiz *et al* (2002) concuerdan con lo reportado por Gibbons *et al.* (1995) y Kusina *et al.* (2000), en donde la mayor parte de las cabras manifestaron celo dentro de los primeros cuatro días posteriores al tratamiento. Ahmed *et al.* (1998) encontraron resultados relativamente superiores a los indicados en esta experiencia. La concentración de estros fue del 100% en un período de tiempo de 50.0 ± 1.0 hora con prostaglandinas. Estos autores concluyeron que el tratamiento con doble inyección de prostaglandina fue más efectivo que las esponjas con progesterona, incluso asociadas con PMSG (Suero de Yegua Preñada).

Número de folículos de 4-5 mm y >6 mm de diámetro

En el tratamiento con prostaglandinas (PG) a las 24 horas del inicio del estro se muestra un número mayor de folículos medianos (4-5 mm), los cuales disminuyen a las 72 horas del inicio del estro (Figura 1). El efecto de dominancia en el ovino vendría marcado por un aumento significativo en diferencia de tamaño entre el folículo ovulatorio y el resto, que comienza a disminuir su tamaño al entrar en atresia. Sin embargo, el efecto de dominancia por parte del folículo preovulatorio es diferente del observado en vacuno, ya que no estaría determinado por una anulación sino por un descenso en el reclutamiento de folículos gonadotropo-receptivos y por una disminución de su crecimiento hasta categorías superiores. (González *et al.*, 2002). Para los folículos >6mm de diámetro se observó que existe un mayor número con el tratamiento de progesterona por 7 días (7D) que con los otros dos tratamientos. Además se observó una tendencia a aumentar el número de folículos a las 48 horas del inicio del estro (Figura 2); sin embargo, no hubo diferencia significativa entre tratamientos por categoría ($\chi^2=0.212$).

El mecanismo por el que se produce la dominancia folicular estaría relacionado con la dependencia de la FSH que muestran los folículos antrales para su crecimiento. Los folículos de tamaño preovulatorio secretan altos niveles de inhibina y estradiol, con lo que disminuyen los niveles de FSH y causan la atresia de los folículos menores. Los folículos preovulatorios evitarían su propia entrada en atresia cambiando sus

necesidades de FSH hacia LH; en respuesta a la cual crecen y maduran hasta el estadio ovulatorio (González *et al.*, 2002).

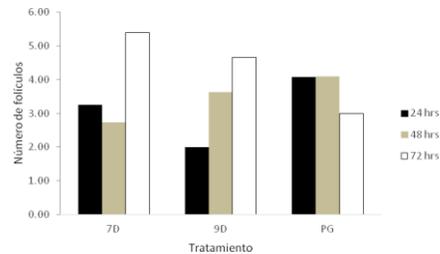


Figura 1. Número de folículos medianos (4-5 mm de diámetro) observados en los tres tratamientos (9D = Progesterona 9 días, 7D = Progesterona 7 días y PG= prostaglandinas) a las 24, 48 y 72 horas del inicio del estro.

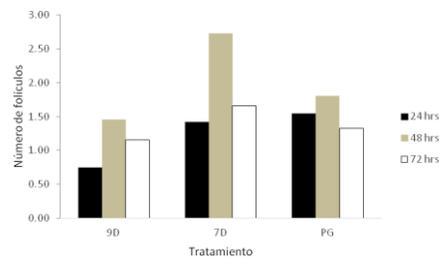


Figura 2. Número de folículos grandes (<6 mm de diámetro) observados en los tres tratamientos (9D= Progesterona 9 días, 7D= Progesterona 7 días y PG= prostaglandinas) a las 24, 48 y 72 horas del inicio del estro.

Citología Vaginal (hembras en estro)

Células parabasales

En las hembras que presentaron comportamiento sexual, al momento de la aplicación y retiro de la progesterona (9D y 7D) se observó un mayor porcentaje de células parabasales (Figura 3) con respecto a las hembras que se sincronizaron con prostaglandina (Figura 6). A partir del primer día del estro y durante los días

consecutivos, el porcentaje de células parabasales empieza a disminuir, lo que hormonalmente coincide con una mayor concentración de estradiol secretada por el folículo presente. Ovando *et al.* (2013) señala que una disminución en el tamaño de las células observadas en los patrones de citología vaginal en ovejas de pelo, estaría dada por la progesterona que tiene efectos opuestos a los inducidos por los estrógenos (Rider, 2002) al intervenir en la disminución de la síntesis de receptores a estrógenos (Meikle *et al.*, 2004).

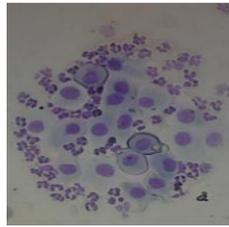


Figura 3. Células parabasales observadas con objetivo 40x en cabra alpina con tratamiento de progesterona por 9 días, al primer día del estro.

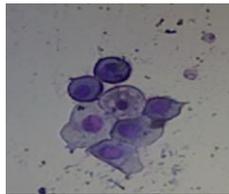


Figura 4. Células parabasales observadas con objetivo 40x en cabra Alpina con tratamiento de progesterona por 7 días, al tercer día del estro.

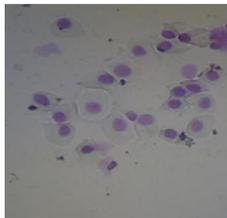


Figura 5. Células parabasales observadas con objetivo de 40 x en cabra Alpina con tratamiento de prostaglandinas el primer día del estro.

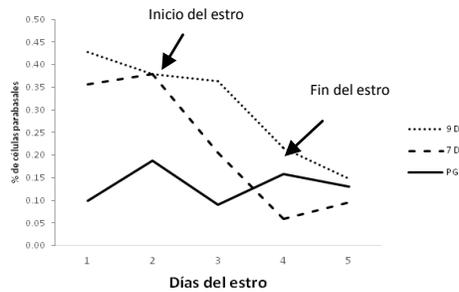


Figura 6. Porcentaje de células parabasales de las hembras que presentaron estro en los tres tratamientos.

Las alteraciones que ocurren en la mucosa y bóveda vaginales como resultado de una mayor concentración sérica de estrógenos durante el proestro y el estro se reflejan en el aspecto de las células epiteliales vaginales exfoliadas. Estos cambios se deben únicamente a incrementos en las cifras de estrógenos circulantes, lo que causa engrosamiento de la cubierta vaginal, lo que aleja más a las células de la luz vaginal de su aporte sanguíneo. A medida que mueren las células vaginales redondas y saludables (parabasales), se vuelven más grandes y de forma irregular (superficiales). Las células parabasales son las más saludables y pequeñas de las células vaginales. Estas células son redondas o un poco ovales y tienen un núcleo grande y cantidades relativamente pequeñas de citoplasma, son células que sufren exfoliación casi desde la capa de células germinales, cerca del aporte sanguíneo subyacente (Feldman *et al.* 2000).

Células intermedias

Con respecto al porcentaje de células intermedias (Figura 5), no hubo diferencia entre tratamientos ($P > 0.05$; Figura 8) durante los días de expresión del celo, lo que corresponde a un patrón citológico acorde con el estado del ciclo estral, por el predominio de estradiol en el ambiente.

Sobre estratos intermedios y luminales el estradiol provoca la queratinización y exfoliación de estas células (Clemente, 2013).

Las células intermedias varían de un poco más grandes que las parabasales a dos veces su tamaño. Los cambios en la morfología celular refleja el primer paso en la muerte celular: las células parecen más grandes, tienen cantidades relativamente mayores de citoplasma y muestran núcleos más pequeños (Feldman *et al.*, 2000).

En un estudio realizado por Raposo *et al* (2000), hicieron la comparación de citología vaginal de cabras cíclicas y gestantes de la raza Saanen y encontraron que durante todas las fases del ciclo estral (proestro, estro, metaestro y diestro) e inclusive durante la gestación, las células intermedias fueron significativamente superiores en relación a otros tipos celulares.

Ferrando *et al.*, (1987) observó que la etapa de diestro se caracterizó por una disminución de la presencia celular en los frotis, para luego de unos días encontrar un nuevo contingente celular, básicamente constituido por intermedias, pequeñas basófilas y parabasales, esta presentación se extendió por 8 a 10 días.

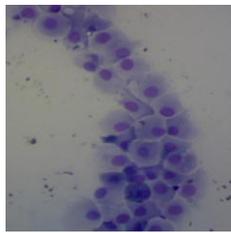


Figura 7. Células intermedias observadas con objetivo de 40x en cabra alpina con tratamiento de 7 días de progesterona al tercer día del estro.

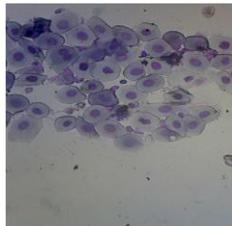


Figura 8. Células intermedias observadas con objetivo de 40 x en cabra Alpina con tratamiento de prostaglandinas al segundo día del estro.

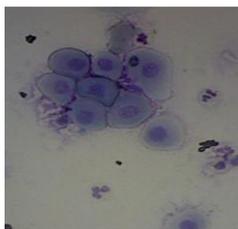


Figura 9. Células intermedias observadas con objetivo de 40 x en cabra Alpina con tratamiento de 7 días de progesterona al tercer día del estro.

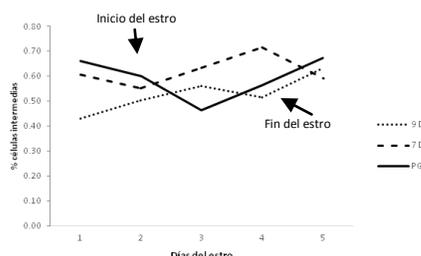


Figura 10. Porcentaje de células intermedias de las hembras que presentaron estro en los tres tratamientos

Células superficiales

Con respecto al porcentaje de células superficiales (Figura 9), el día de retiro del dispositivo (9D o 7D) o de la aplicación de prostaglandinas no hubo diferencia entre tratamientos ($P>0.05$). Sin embargo, al momento de expresar comportamiento sexual, el tratamiento con progestágenos presentó diferencias ($P<0.05$) con respecto a los tratamientos con prostaglandinas (0.44%) el cual fue mayor con respecto a progesterona, para después descender a niveles similares en los subsecuentes días del estro (Figura 12).

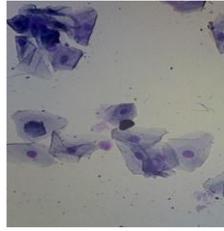


Figura 11. Células superficiales observadas con objetivo de 40x en cabra alpina con tratamiento de prostaglandinas al tercer día de la segunda aplicación de PG.

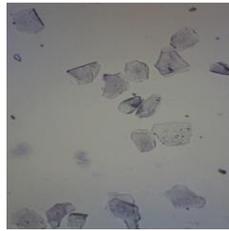


Figura 12. Células superficiales observadas con objetivo de 40x en cabra Alpina con tratamiento de 9 días de progesterona al segundo día del estro.

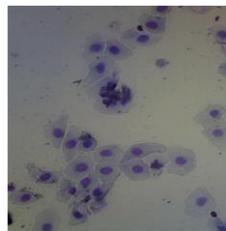


Figura 13. Células superficiales observadas con objetivo de 40x en cabra Alpina con tratamiento de 9 días de progesterona al segundo día del estro.

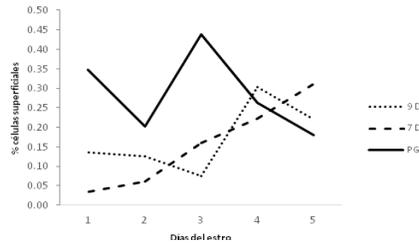


Figura 14. Porcentaje de células superficiales de las hembras que presentaron estro en los tres tratamientos.

Ovando (2013) encontró un mayor número de células superficiales durante la etapa de estro (35.47 ± 5.86 células), las cuales se caracterizan por ser de mayor tamaño (citoplasma 36.1 ± 0.38 μm longitud) y con núcleo más pequeño ($8,46 \pm 0,12$ μm de longitud).

El uso de dispositivos intravaginales afecta el epitelio vaginal durante los primeros días después del retiro. Manes (2015) señala que el uso de progestágenos intravaginales causa cambios histológicos y citológicos en la vagina. La aplicación de esponjas con progestágenos genera hiperplasia e hipertrofia epitelial con presencia de hemorragias e infiltrados perivasculares. Los resultados obtenidos en nuestro experimento coinciden con los reportados por Suárez et al (2006), quienes observaron la presencia de un importante número de macrófagos en el flujo vaginal luego del retiro de las esponjas. La presencia de leucocitos en el epitelio vaginal puede actuar contra los espermatozoides afectando negativamente la fertilidad del celo sincronizado. Además, durante estos procesos inflamatorios se liberan sustancias como los radicales libres, que ejercen un proceso tóxico sobre los espermatozoides (Fraczk y Kurpysz, 2007). El uso de dispositivos intravaginales puede tener una disminución de la fertilidad, por la reducción en la calidad espermática dada por un ambiente vaginal alterado por la composición bacteriana y las paredes vaginales (Manes *et al.*, 2015).

Progesterona en suero

Se observó que en los tratamientos con progesterona exógena (9D y 7D) , el primer día del estro después del retiro del dispositivo la concentración de progesterona es más alta. Los niveles de progesterona en suero del tratamiento únicamente con prostaglandina son más bajos el primer día del estro, los cuales descienden aún más el segundo día del estro, al igual que los tratamientos con progesterona exógena y después tienen un incremento gradual los siguientes días. Como se observa en la Figura 15.

Chemineau et al., 1981 menciona que los niveles plasmáticos de progesterona durante una fase lútea inducida son mayores a los niveles de fase lútea natural (7.54ng/ml vs 4.53 ng/mg; $p < 0.001$)

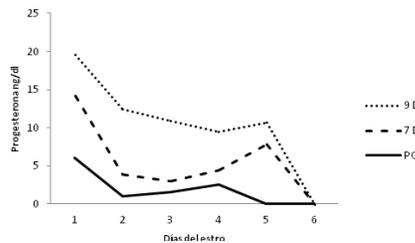


Figura 15. Niveles de concentración de progesterona en suero en tratamientos de 7 y 9 días con CIDR y prostaglandinas durante los días del estro.

En el tratamiento de prostaglandinas, al segundo día del estro se muestra una concentración de progesterona de 1.06 ng/dl, dicho resultado es muy similar al presentado por Torres *et al*, 1996, quien midió los niveles de progesterona en cabras sincronizadas con distintas dosis de PGF_{2a} a las 24 horas, los cuales descendieron a niveles inferiores a 1.0 ng/ml.

Los niveles críticos de progesterona para distinguir entre la ausencia o presencia de un cuerpo lúteo funcional fue entre 0.5 y 1.0 ng/ml, lo que indica el tiempo adecuado para la inseminación a tiempo fijo (Bauernefeind *et al.*, 1991). Estos niveles fueron determinados por inmunoensayo de enzima (EIA), sin embargo tiene una alta correlación con la técnica de radioinmunoensayo (RIA). Los niveles más altos fueron

alcanzados entre el día 11 y 14 del ciclo estral de cabras en ciclo natural, con concentraciones de 7.2 a 7.3 ng/ml. (Baunerfeind *et al.*, 1991).

Con el uso de prostaglandinas los niveles de progesterona en fase lútea son más similares a los niveles de progesterona en fase lútea natural. Al igual que con el uso del dispositivo CIDR, los niveles máximos de progesterona alcanzaron niveles de hasta 19.6 ng/dl. Estos resultados coinciden con Chemineau, 1981 y Baunerfeind, 1991).

CONCLUSIONES

En los tratamientos con progesterona más prolongados existe una aparición tardía del estro, lo cual también se relaciona con la duración de este.

Al inicio del estro con los tratamientos con progestágenos existe un mayor porcentaje de células parabasales a diferencia que con el tratamiento con prostaglandinas, las cuales disminuyen al descender los niveles de progesterona en sangre. En contraste, al inicio del estro con el tratamiento con prostaglandinas existe un mayor porcentaje de células superficiales, relacionándose con los niveles más bajos de progesterona en suero y con estros de duración más corta.

LITERATURA CITADA

- Baunerfeind M., Holtz W., 1991. Progesterone and estrogen levels in serum of cycling goats measured by enzyme immunoassay. *Small Ruminant Research*. 6, pp 95-102.
- Buxadé C. 1996. Producción caprina. *Zootecnia bases de producción animal*. Tomo IX. Ed. S.A. Mundii prensa.
- Cantú J. E. 2008. *Zootecnia de Ganado caprino*. Ed. Trillas. México
- Chemineau P. D. Gauthier, J.C. Poirier, J. Saumande. 1981. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol-17b and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat. *Theriogenology*. Vol 17, 3. Pp 313-323.
- Clemente Ovando, Neftali, Orihuela Trujillo, Agustín, Flores Pérez, Fernando Iván, & Aguirre Flores, Virginio. (2013). Citología y Análisis Morfométrico de las Células del Epitelio Vaginal Durante el Ciclo Estral en Ovejas de Pelo (*Ovis aries*). *International Journal of Morphology*, 31(3) pp 888-893
- Cortéz C., J. G. Sánchez. 2014. *Bioteχνologías reproductivas moleculares y génicas en ovinos*. Ed. Colegio de Postgraduados. BBA.
- Daza A.,A. Fernández. C. Sánchez. 2004. *Ganado caprino: producción, alimentación y sanidad*. Ed. Agrícola Española.
- De Buen, A.N. 2001. *Citología diagnóstica veterinaria*. Editorial El manual moderno. Mexico. pp. 19-23.
- Durán F. 2007. *Manual de explotación y reproducción en caprinos. Volvamos al campo*. Ed. Grupo Latino.
- Evans G. W.M.C Maxwell 1990. *Inseminación artificial de ovejas y cabras*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

- Feldman E. C., R. Nelson., 2000. Endocrinología y reproducción en perros y gatos. Ed. Mc Graw Hill. Interamericana de México.
- Gibbons A., M. Cueto y M. Wolf. 2000. Manual de inseminación Artificial en la Especie Caprina. EEA Bariloche. INTA . 19 p
- Ginter O.J., K. Kot., 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology* 42, 987-1001.
- Gómez A., J. M. Pinos, J. R. Aguirre. 2009. Manual de producción caprina. UASLP.
- González B. A., J.Santiago., R. M. García, M.J. Cocero, A. López Sebastián. 2002. Patrones de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes (Revisión). *Prod. Sanid. Anim.* Vol 17 (1-12).
- González S. 1993. Control y manejo de los factores que afectan al comportamiento reproductivo de los pequeños rumiantes en el medio tropical. *Isotope and related techniques in animal production and health. Proceedings of a symposium.* Ed. ISEA. pp. 405-422.
- González-Bulnes, A., C. Díaz-Delfa, B. Urrutia, J.A. Carrizosa and A. Lopez-Sebastian. 2004. Ultrasonography screening of the ovulatory process in goats. *Small Ruminant Research* 52, 165-168.
- Gordon I. 2004. Tecnología de la reproducción de los animales de granja. Ed. Acribia. Impreso en España.
- Gordon, I. R. 1997. Controlled reproduction in sheeps and goats. CAB International.
- Grajales L, Henry, Hernández V, Aureliano, & Prieto, Esperanza. 2010. Niveles de progesterona durante el ciclo normal y silencioso en bovinos en el trópico colombiano. *Revista MVZ Córdoba*, 15(2) pp 2060-2069.
- Hafez. E.S.E. 2000. Reproducción e inseminación artificial en animales. Mc Graw Hill. Séptima edición.

- López-Crispín J. 2010. Relación de hallazgos de citología vaginal exfoliativa y concentraciones séricas de progesterona dentro de un esquema de sincronización de estros en ovejas de pelo. Trabajo recepcional en la modalidad de tesis. Universidad Veracruzana. Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Manes J., R. Ugerfeld. 2015. Sincronización de cellos en ovejas y cabras con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos: alteraciones en ambiente vaginal y su relación con la fertilidad. *Rev. Bras. Reproducción animal*. Vol. 38 n1 pp 104-108.
- Mayén J. 2009. Ganado caprino. Ed. Trillas. México.
- Mellado M. 1994. Effect of prostaglandin F_{2α} dosage and route of administration on estrus response in Criollo goats under range conditions. *Small Ruminant Research*. 14 pp: 205-208.
- Mellado M. R. Valdez, J.E. Garcia, R. Lopez, A. Rodríguez. 2008. Factors affecting the reproductive performance of goats under intensive conditions in a hot aid enviroment.. *Small Ruminant Research*. Volume 63, 1-2 pp 110-118.
- Menárguez, M. 2006. Las enzimas cérvico-vaginales como indicador de fertilidad Preovulatoria. VIII Simposio internacional sobre regulación natural de la fertilidad: aplicaciones a la salud reproductiva.
- Menchaca A.,E. Rubianes . 2002. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology* 57. pp 1411-1419.
- Montes P., 1994. Validación de un radioinmunoanálisis en fase líquida para medir progesterona en plasma sanguíneo. *Rev. Biomed*. Vol 5, No 1. pp 23-32.
- Moxon R., D.Copley, G.C. England. 2013. Quality assurance of canine vaginal cytology: A preliminary study. *Theriogenology*. 74(3) pp 479-85.
- Nuti L.C. 1992. Synchronization of estrus in dairy goats treated with prostaglandin F at various stages of the estrous cycle. *Am. J. Vet. Res.*, 53 pp 935–937.

- Pérez M., M. Mendoza, M.C. Romano, 1999. Exfoliative vaginal cytology and plasma levels of estrone and estradiol-17 β in young and adult goats. *Small Ruminant Research*, 33(2), pp 153-158.
- Ramírez, N. L., N. Lído. 2009. El uso del radioinmunoanálisis (RIA) para el mejoramiento de la eficiencia reproductiva. *Mundo Pecuario*, 5(1).
- Romano, J. E., E. Rodas, A. Ferreira, I. Lago, A. Benech, 1996. Effects of progestagen PMSG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. *Small Ruminant Research*, 23, pp 157-162.
- Romano, J.E. 1996. Comparison of fluorogestone and medroxyprogesterone intravaginal pessaries for estrus synchronization in dairy goats. *Small Ruminant Research*. 22, pp 219-223.
- Ruiz R., J.L. Fernández, A.C. De la Vega, A. Rabasa. 2002. Evaluación de diferentes tratamientos hormonales para la sincronización del estro en cabras criollas serranas durante el verano. *Zootecnia Tropical*, 20(4), pp 473-482.
- Schutte, A.P., 1967. Canine vaginal cytology-I. Technique and cytological morphology. *J. Small Anim. Pract.* 18: 301- 306.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2014. Población ganadera: caprinos. [http://www.siap.gob.mx/ganaderia-produccion-anual/\[2016,-Mar.20\]](http://www.siap.gob.mx/ganaderia-produccion-anual/[2016,-Mar.20]).
- Smith M.C., D. M. Sherman 2009. *Goat Medicine*. Ed. Wiley-Black well.
- Uribe L.F., M.I. Lenz, A. M. Loaiza. 2008. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina F2 α vs CIDR + 500 UI de eCG en ovejas bergamacia durante el inicio de la fase luteal. *Revista científica, FCV-LUZ*. Vol. 18 No. 4. Pp 368-373.
- Viñoles C, Forsberg M, Bancharo G, Rubianes E. 2001. Effect of long term and shortterm progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*



Explicando folleto de divulgación



Sra. Rosa leyendo el folleto.



Animales propiedad de la señora Rosa.



5 de Noviembre 2016

A quien Corresponda:

Por medio de la presente hago constar,
que recibí folleto de divulgación con técnicas
de reproducción para Caprinos, así como su explicación
por la alumna Gabriela Palomo Marell.

Rosay Cortina Hernández

San Luis Potosí, Mexquitic de Carranza.
Ericko Ignacio Alende