

## 1. INTRODUCCION Y JUSTIFICACION

Las explotaciones caprinas en Venezuela han estado asociadas tradicionalmente a zonas marginales de la población rural con un bajo nivel sociocultural, y se han caracterizado por ser un rubro destinado principalmente al autoconsumo y la subsistencia. Sin embargo, en los últimos años ha aumentado el interés, por parte de algunos productores, en la tecnificación de este sector, motivado por un incremento de la demanda de los productos de origen caprino. El mejoramiento progresivo de los sistemas de producción tradicionales y la optimización de los recursos en los sistemas más tecnificados permitirá lograr una mayor rentabilidad del negocio caprino (Blanchard, 2001). En este sentido, uno de los aspectos susceptibles a ser mejorado es el componente reproductivo, el cual incide directamente en la productividad de cualquier rebaño.

Entre los métodos empleados para la optimización del manejo reproductivo en las especies de interés zootécnico, destacan aquellos usados para el controlar el ciclo estral (Contreras-Solís *et al.*, 2009). La sincronización del estro ha sido utilizada como una herramienta eficaz para controlar el ciclo estral, a través de la inducción del celo en un corto período de tiempo. Su uso se ha venido extendiendo en los programas de inseminación artificial, lo cual permite el progreso genético y, en consecuencia, el mejoramiento de la productividad del rebaño. Otra ventaja es reducir el impacto negativo que generan las fallas de detección de celo, lo cual se traduciría en un aumento efectivo del número de animales a inseminar. Asimismo, su uso permite programar la época reproductiva para garantizar que los partos ocurran en los meses más favorables, tanto para las madres como para las crías; distribuir la producción de leche a lo largo del año y concentrar la disponibilidad de carne en los periodos con mayor demanda, y organizar eficientemente el trabajo en el rebaño (Gordon, 2004; Khanum *et al.*, 2006).

Se han reportado resultados positivos con el uso de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) natural (dinoprost) y sintética (cloprostenol) para la sincronización del estro en cabras,

durante la estación reproductiva (Mellado *et al.*, 1994; Romano, 1998). Sin embargo, las dosis utilizadas son muy variables, llegando en muchos casos a ser muy altas (7,5 mg de dinoprost y 125 µg de cloprostenol) (Ogunbiyi *et al.*, 1980; Ahmed *et al.*, 1998; Romano, 1998), lo que se traduce en un aumento en el costo de los programas de manejo reproductivo.

Debido a que factores económicos todavía limitan su uso por parte de los productores tradicionales, se hace necesario llevar a cabo estudios que permitan su uso a bajo costo, tal como ha sido reportado en ovejas de pelo tropicales (Contreras-Solís *et al.*, 2009).

En este sentido, se hace preciso llevar a cabo estudios que evalúen la capacidad luteolítica y sincronizadora del celo de dosis reducidas de cloprostenol en cabras mestizas en condiciones tropicales, con el fin de disminuir costos en los programas de reproducción asistida en esta especie y, de esta manera, contribuir al progreso genético de la misma.

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo General

Diseñar un protocolo de sincronización del celo usando dosis reducidas de un análogo de la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (cloprostenol) en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria manejadas bajo condiciones tropicales (10°N).

### Objetivos Específicos

1. Estudiar, mediante la utilización de ultrasonido transrectal, la dinámica de desarrollo del cuerpo lúteo caprino desde el celo hasta el inicio de su regresión.
2. Evaluar la capacidad luteolítica de dos (2) dosis reducidas de cloprostenol *versus* la dosis convencional.
3. Evaluar la capacidad sincronizadora del celo de dos (2) dosis reducidas de cloprostenol *versus* la dosis convencional.

### 3. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 El Ciclo Estral de la Cabra

El ciclo estral está definido como aquellos cambios morfológicos y fisiológicos cíclicos, que ocurren en el tracto genital femenino, el cual está marcado por un período de receptividad sexual llamado estro o celo. Su finalidad es garantizar la preparación del tracto genital para la cópula, la ovulación, la fertilización y la implantación embrionaria (Fatet *et al.*, 2011), abarcando un periodo que va de un celo al próximo celo

En las cabras, manejadas en climas templados y tropicales, el ciclo estral tiene una duración de 20 a 21 d, produciéndose la ovulación espontánea entre las 30 y 36 h luego del inicio de la receptividad sexual (Gordon, 2004). En Venezuela, González-Stagnaro y Madrid-Bury (1993), señalan que el ciclo estral de cabras criollas tiene valores similares a aquellos reportados en la literatura. Estos autores encontraron una duración del ciclo de  $20,6 \pm 3,2$  d, siendo este valor ligeramente menor en cabritonas que en cabras adultas ( $19,9 \pm 3,6$  vs.  $20,8 \pm 4,3$  d, respectivamente). Así mismo, indican una duración del estro de  $32,4 \pm 3,6$  h (con un rango comprendido entre 10 y 52 h). Igualmente, este estudio indica que el momento de la ovulación para estas cabras fue de  $32,3 \pm 1,4$  h (con un rango de 24 a 36 h) después de haberse iniciado el estro. En el caso específico de las cabras de la Agrupación Caprina Canaria, González *et al.* (1994) reportan que la duración del ciclo estral en esta raza es de  $22,4 \pm 2,0$  d y el celo tiene una duración de  $50,0 \pm 12,8$  h, ocurriendo la ovulación  $40,8 \pm 4,8$  h luego del inicio del celo.

El ciclo estral consta de dos fases: una folicular y otra luteal. La fase folicular, también denominada estrogénica, es relativamente corta (3 d aproximadamente) y se caracteriza, principalmente, por la presencia de altos niveles de estrógenos en plasma, principalmente estradiol- $17\beta$  ( $E_2-17\beta$ ), provenientes de los folículos en desarrollo. El inicio de esta fase ocurre tras la desaparición del cuerpo lúteo (CL) y finaliza con la

ovulación. Ésta a su vez comprende un período, previo a la observación de signos de celo, denominado proestro, mientras que el estro abarca el periodo entre el inicio de la receptividad sexual y la ovulación. Durante la fase folicular, la hormona folículo estimulante (FSH), secretada por la adenohipófisis, estimula el crecimiento o desarrollo folicular. Este crecimiento se caracteriza por presentar un patrón en forma de ondas, el cual incluye tres etapas principales: 1. El reclutamiento de una cohorte de folículos de 2 - 3 mm de diámetro, la cual inicia el proceso de foliculogénesis dependiente de gonadotropinas. 2. La selección, en la cual sólo dos o tres folículos alcanzan un diámetro de 4 mm. Estos folículos seleccionados, se caracterizan por desarrollar receptores de LH en las células de la granulosa, mientras que el resto pasa a ser subordinados y entran en una fase de atresia. 3. La dominancia folicular, en la que estos folículos seleccionados adquieren el tamaño preovulatorio de 6 – 9 mm. Durante la fase estrogénica, los folículos dominantes o preovulatorios alcanzan ese estado debido a la acción de la hormona luteinizante (LH). El aumento de los niveles de  $E_2-17\beta$  -provenientes del, o de los folículos preovulatorios- es el responsable de inducir el periodo de receptividad sexual o celo. Igualmente, estos altos niveles de  $E_2-17\beta$ , inducen la onda preovulatoria de LH, la cual es la encargada de desencadenar los eventos asociados a la ovulación, y dar lugar a la formación del cuerpo hemorrágico y el inicio de la fase luteal (McCracken *et al.*, 1999; Driancourt, 2001; Walters, 2007; Fatet *et al.*, 2011).

La fase luteal o progestacional se caracteriza por tener una duración más larga (18 d aproximadamente) que la folicular, y por la presencia de los altos niveles ( $\geq 1$  ng/mL) de progesterona ( $P_4$ ) en el plasma sanguíneo, la cual es secretada por el CL. Los altos niveles de  $P_4$  ejercen una retroalimentación negativa sobre la secreción de LH y  $E_2-17\beta$ , las cuales se mantienen en niveles basales durante toda la fase luteal. Por su parte, la FSH muestra pequeños incrementos en sus concentraciones, los cuales coinciden con el reclutamiento de cada una de las ondas foliculares. Esta fase se divide en dos sub-fases: el metaestro, el cual se inicia con la formación del cuerpo hemorrágico y el incremento de los niveles de  $P_4$  en plasma; y el diestro, en la cual los niveles plasmáticos de  $P_4$  se encuentran en su nivel máximo, finalizando ésta al

iniciarse la luteólisis (McCracken *et al.*, 1999; Goodman e Inskeep, 2006; Walters, 2007; Fatet *et al.*, 2011; Figura 1). De forma más concreta, la fase luteal se puede subdividir en etapas: temprana o de crecimiento del CL; intermedia, en la cual el CL está bien formado; y tardía, en la cual se inicia la regresión del CL. (González-Bulnes *et al.*, 2005a).

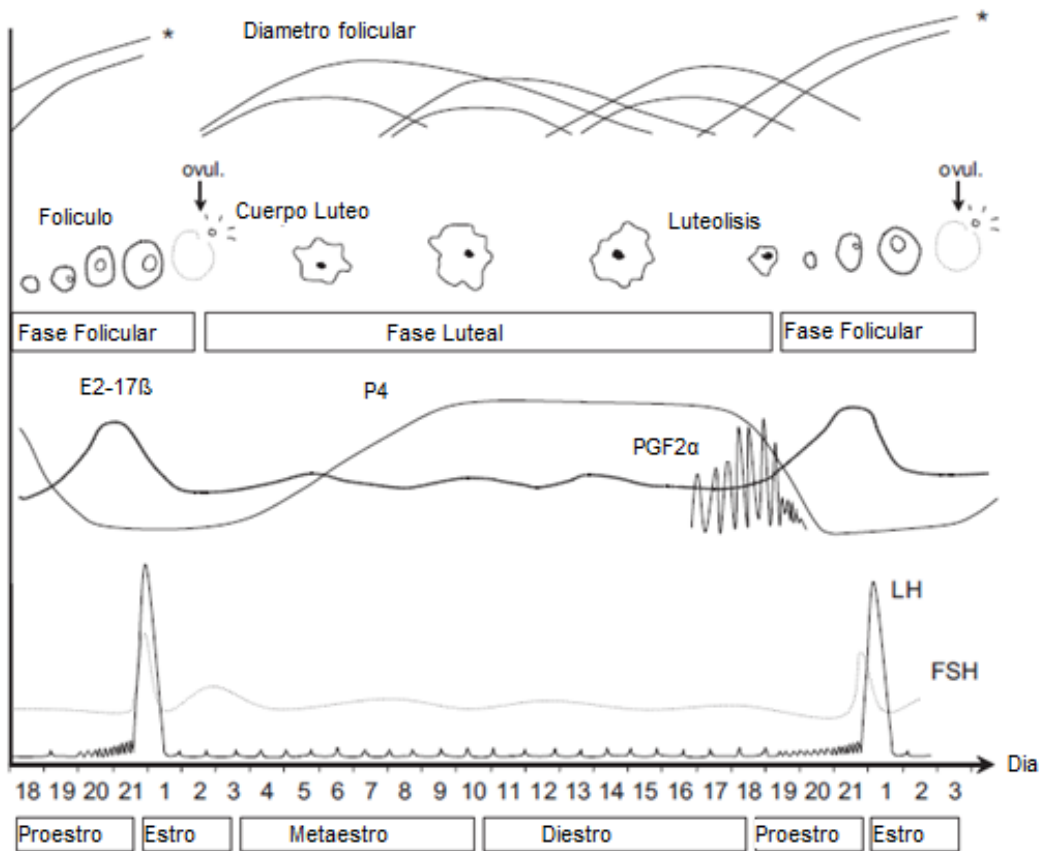


Figura 1. Representación esquemática de los eventos fisiológicos del ciclo estral de la cabra. Modificado de Fatet *et al.* (2011).

3.1.1 Dinámica del desarrollo folicular: En las cabras, el desarrollo folicular se presenta en forma de ondas a lo largo del ciclo estral. Cada una de ellas se caracteriza por la emergencia de un grupo de pequeños folículos antrales (reclutamiento), del cual dos o tres folículos son seleccionados para crecer a un tamaño superior a los 4 mm (selección). Este proceso es dependiente de la acción de las gonadotropinas (Rubianes y Menchaca, 2003; Fatet *et al.*, 2011) y el número de estas ondas es variable, ya que

varios autores reportan distintos valores (de dos a seis ondas) en la cabra. Sin embargo, todos coinciden en que la mayoría de los ciclos observados presentan un patrón predominante de 4 ondas (3 anovulatorias y una ovulatoria) de desarrollo folicular (Simões *et al.*, 2006; Tenório Filho *et al.*, 2007; Fatet *et al.*, 2011). En dichos casos, la emergencia de las ondas 1, 2, 3 y 4, ocurre aproximadamente el d 0, 5 - 6, 10 - 11 y 15 post ovulación, respectivamente (Rubianes y Menchaca, 2003).

Tal como sucede en las ovejas, la dominancia folicular en las cabras no es completa, ya que ésta se ve afectada por las altas concentraciones de  $P_4$  secretada por el cuerpo lúteo, presente durante la fase luteal del ciclo. Estos altos niveles de  $P_4$  inducen una menor secreción de LH, hormona responsable del crecimiento y mantenimiento de los folículos dominantes o preovulatorios. En cabras, los altos niveles de  $P_4$  presentes durante la fase luteal intermedia ( $> 7$  ng/ml) disminuyen la secreción de LH por parte de la hipófisis, lo que se traduce en una reducción de la dominancia morfológica y funcional de los folículos en crecimiento, y una mayor tasa de recambio folicular (Menchaca y Rubianes, 2002; Rubianes y Menchaca, 2003; González-Bulnes *et al.*, 2005a). Sin embargo, esta reducción del efecto de la dominancia no ha sido observado durante las etapas tempranas (crecimiento) o tardías (regresión luteal) del desarrollo luteal debido a los bajos niveles de  $P_4$ , lo que reduce la retroalimentación negativa sobre la secreción de LH. Un mayor diámetro observado en el folículo dominante de la primera y última onda folicular (onda ovulatoria) respalda el concepto de dominancia folicular durante estas dos etapas de la fase luteal de la cabra (Rubianes y Menchaca, 2003). La dominancia incompleta, presente en las cabras, trae como resultado que las tasas de ovulación y, en consecuencia la prolificidad, se ubiquen normalmente entre uno y dos folículos ovulados por ciclo (Tabla 1).

**3.1.2 Dinámica de desarrollo luteal:** La fase luteal se caracteriza por la presencia del CL, el cual es una glándula endocrina transitoria, formada en el ovario adulto a partir de las células de la granulosa y de la teca interna del folículo ovulado. Su función primordial es sintetizar y secretar  $P_4$ , hormona esteroidea que actúa sobre el útero para permitir la implantación del embrión y posterior supervivencia del feto (Davis y Rueda,

2002; Stouffer, 2006). Además de la P<sub>4</sub>, el CL también sintetiza y secreta prostaglandinas y varias hormonas peptídicas como oxitocina, relaxina, inhibina y activina, las cuales actúan de forma local (autocrina o paracrina) o endocrina (Stouffer, 2006).

Tabla 1. Tasa de ovulación observada en distintas razas de cabras.

Tasa de ovulación (CL/cabra)	Raza	Referencias
1,8 – 2,06	Criolla venezolana	González-Stagnaro y Madrid-Bury (1993)
1,64 ± 0,7	Agrupación Caprina Canaria	González <i>et al.</i> (1994)
1,63 ± 0,5	Alpina	Fonseca <i>et al.</i> (2005b)
1,62 ± 0,64	Serrana	Simões <i>et al.</i> (2007)
1,9 ± 0,1	Mestiza nativa mexicana	De Santiago-Miramontes <i>et al.</i> (2009)

En la cabra, la ovulación y la formación del CL se encuentran bajo control gonadotrópico. El proceso de desarrollo y mantenimiento del CL implica la luteinización de las células de la granulosa y de la teca, y la formación de vasos sanguíneos. Este proceso es controlado por la LH y requiere de la acción de varios factores angiogénicos y mitogénicos, tales como el factor de crecimiento fibroblástico (TGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor de crecimiento insulínico tipo I, el factor de crecimiento endotelial vascular, entre otros, los cuales promueven el aumento de la vascularización y la hipertrofia e hiperplasia de fibroblastos del tejido conectivo (McCracken *et al.*, 1999; Kawate *et al.*, 2000).

Además de las células endoteliales y fibroblásticas, existen dos tipos de células esteroideogénicas en el CL, las células luteales pequeñas (CLP) y grandes (CLG), que derivan de las células de la teca y de la granulosa, respectivamente, presentando



diferencias en cuanto a la histoquímica e inmunocitoquímica de los gránulos secretorios. Las CLP miden 12 – 20  $\mu\text{m}$  y representan aproximadamente el 20% del volumen luteal total y el 25% del número de células luteales, mientras que las CLG miden 22 – 50  $\mu\text{m}$  y representan el 40% y 10%, respectivamente (Sangha *et al.*, 2002).

La regresión del tejido luteal, o luteólisis, se inicia en las cabras a partir del día 16 a 18 del ciclo estral, momento en el cual se detecta la presencia de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , así como una disminución de los niveles plasmáticos de  $\text{P}_4$  (McCracken *et al.*, 1999). En condiciones fisiológicas, la oxitocina luteal producida por las células luteales grandes se combina con sus receptores endometriales y provoca la liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  por parte del útero no gestante, la cual nuevamente induce la liberación de oxitocina por el CL, lo que finalmente deriva en la luteólisis (Silvia *et al.*, 1991; Sangha *et al.*, 2002). La acción de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  provoca la regresión del tejido luteal al actuar sobre los receptores presentes en las células luteales, células endoteliales y capilares del CL. Su acción se ejerce principalmente mediante receptores asociados a una proteína G, los cuales se acoplan a la fosfolipasa C para generar dos segundos mensajeros: inositol trifosfato ( $\text{IP}_3$ ), involucrado en la liberación del calcio intracelular, y diacil glicerol, un activador de la proteína kinasa C. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  es secretada por el endometrio en forma de pulsos de corta duración por un periodo de 2 a 3 d, durante y después de la luteólisis (McCracken *et al.*, 1999; Colazo *et al.*, 2002; Arosh *et al.*, 2004).

El  $\text{E}_2$ - $17\beta$  juega también un papel importante en este mecanismo. Aunque no es esencial para el desarrollo de la sensibilidad endometrial a la oxitocina, si posee un rol sinérgico al potenciar el efecto de la  $\text{P}_4$ , produciendo una mayor y acelerada respuesta de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a la oxitocina. Sin embargo, en ausencia de  $\text{P}_4$ , el estradiol es incapaz de inducir una respuesta uterina a la oxitocina (Cooke *et al.*, 1998).

### 3.2 Factores que Afectan la Estacionalidad Reproductiva de las Cabras

La reproducción en las cabras ha sido descrita como estacional, presentándose diferencias en cuanto a la estacionalidad entre distintas razas y ubicaciones

geográficas. El inicio y la duración de la temporada reproductiva en cabras depende de numerosos factores de tipo genético, como la raza, y no genéticos o ambientales, tales como: latitud, clima, estado fisiológico, estado nutricional y la presencia del macho; siendo el fotoperiodo el principal factor determinante (Fatet *et al.*, 2011).

3.2.1 Genéticos: La raza tiene un efecto notable sobre las características de la estacionalidad reproductiva en las cabras. Se han reportado diferencias en cuanto a la duración de la estación reproductiva, la duración del anestro postparto y el porcentaje de fertilidad de cabras de distintas razas estudiadas en una latitud similar (Martínez Rojero *et al.*, 2005; López Sebastián, 2009). Igualmente, se ha descrito que el comportamiento reproductivo de cabras de una misma raza se ve menos afectado por las estaciones en latitudes más cercanas al ecuador que en aquellas ubicadas más lejos (Mellado *et al.*, 1991).

### 3.2.2 Ambientales:

A. *Fotoperiodo*: Diferentes razas de cabras y ovejas, ubicadas en latitudes alejadas de la zona ecuatorial, manifiestan variaciones estacionales de la actividad reproductiva, las cuales son controladas por cambios asociados al fotoperiodo anual. En este sentido, los días cortos estimulan la actividad sexual en estas especies, mientras que los días largos inducen el efecto contrario (Chemineau *et al.*, 1992). La duración del fotoperiodo, a lo largo del año, presenta una mayor variación en las zonas más alejadas del ecuador, por lo que, teóricamente, su influencia sobre la reproducción podría reducirse a medida que la latitud se acerca a 0°. Debido a esto, se podría deducir que aquellos animales criados en zonas tropicales no presentan dicha estacionalidad, siendo éstos capaces de aparearse y concebir a lo largo del año (Escobar Medina, 2003).

El efecto del fotoperiodo está directamente relacionado con la secreción de la hormona melatonina, la cual tiene la habilidad de modular la fisiología reproductiva en animales con actividad sexual estacional, tal como sucede en el caso de las cabras.

Fotorreceptores ubicados en la retina capturan información sobre la duración de las horas de luz y oscuridad y la transmiten al hipotálamo anterior mediante el tracto retinohipotalámico. Una vez ahí, se envía la información a la epífisis o glándula pineal mediante neuronas de los sistemas nerviosos central y autónomo. La liberación de norepinefrina hacia los pinealocitos durante las horas nocturnas regula la producción de melatonina. Este mensaje nocturno provee una señal que le indica al eje hipotálamo-hipófisis-gónada que ajuste la fisiología ovárica y testicular según la época del año en la que se encuentre (Reiter *et al.*, 2009).

*B. Precipitaciones:* Un estudio realizado por Dickson y Salas (2004) en el trópico venezolano, utilizando principalmente animales de las razas Alpino Francés y Nubian, evidenció que, únicamente, los niveles de precipitación promedio mensuales tuvieron efectos significativos sobre la presentación de los celos, siendo esta relación positiva, es decir, que a medida que se incrementó el promedio de precipitación mensual, el porcentaje de celos aumentó. Contrariamente, estos autores indican que no hubo efecto de los valores de temperatura, promedio de horas de luz o de su interacción, sobre la tasa de presentación de celos.

El efecto de las precipitaciones no se evidencia en aquellas explotaciones con manejo y alimentación adecuados, en las cuales se han detectado cabras cíclicas y gestantes -a través de la cuantificación de los niveles de progesterona en plasma- a lo largo del año. Sin embargo, cuando la alimentación varía de acuerdo a la disponibilidad de pastos naturales, los cuales dependen, a su vez, de las precipitaciones, se pueden observar de dos a cuatro épocas anuales de mayor actividad sexual y fertilidad, lo cual contrasta con la marcada estacionalidad sexual presente en las regiones de clima templado. Estas pequeñas temporadas son de inicio y duración variable entre rebaños vecinos e incluso dentro del mismo rebaño en diferentes años, lo cual se traduce en una amplia dispersión de las épocas de partos y de los intervalos entre partos (Delpino y González-Stagnaro, 1993).

Además del efecto que ejercen las precipitaciones sobre la frecuencia de celos, se ha estudiado también la influencia de la estación lluviosa sobre la duración del ciclo estral de cabras en el trópico. Para estudiar tal efecto, Cerbito *et al.* (1995), utilizando cabras criollas filipinas, clasificaron los ciclos estrales en cortos ( $6,9 \pm 1,7$  d), de duración normal ( $21,4 \pm 1,1$  d) y largos ( $34,5 \pm 2,9$  d). Estos autores demostraron que, en ambas estaciones (sequía y lluvia), el 15% de los ciclos estudiados fueron cortos, 72% de duración normal y 13% fueron largos. Sin embargo, la proporción de ciclos estrales cortos fue significativamente mayor en la época de lluvias (octubre), cuando la caída de lluvia corresponde al 57,9% del total anual; y la proporción de ciclos largos fue significativamente mayor en la época seca (febrero), cuando cae apenas 0,2% del total anual de lluvia. Se evidenció una correlación lineal negativa entre la caída de lluvia y la duración de los ciclos estrales en el trópico; sin embargo, aún no está clara, desde el punto de vista biológico, la causa de este fenómeno.

*C. Nutrición:* Los mecanismos fisiológicos que controlan el balance energético se encuentran ligados recíprocamente a los que controlan la reproducción. En general, los estímulos metabólicos y mediadores hormonales que incrementan el consumo de alimento inhiben los procesos reproductivos mediante su influencia sobre el balance energético (Schneider, 2004). La subnutrición no tiene un efecto significativo sobre los perfiles basales de FSH y LH, pero está asociada con una disminución en el número de cabras que presentan un pico preovulatorio de gonadotrofinas, con una reducción en la magnitud del pico y con una menor incidencia de ovulación (Mani *et al.*, 1996).

El inicio de la temporada reproductiva y la duración del anestro estacional están relacionados con la condición corporal (CC), tanto en cabras como en ovejas. Estudios realizados en ambas especies demostraron que el inicio de las manifestaciones de celo y consecuentes ovulaciones comenzaron más temprano en animales con CC adecuada, que en aquellos con CC baja o muy baja. Igualmente, la supresión del celo y de las ovulaciones ocurrió más tarde en aquellas hembras con CC adecuada, lo que se traduce en una temporada reproductiva más larga en este grupo, y más corta en el grupo de hembras con CC baja (Landau y Molle, 1997; De Santiago-Miramontes *et al.*,

2009). En los sistemas de producción lechera más tecnificados, las cabras reciben una nutrición adecuada durante todo el año, por lo que al momento del servicio ya han recuperado por completo sus reservas corporales, lo que garantiza un comportamiento reproductivo óptimo (Landau y Molle, 1997).

### 3.3 Evaluación Ecográfica de la Función y Estructuras Ováricas

Los estudios iniciales realizados en cabras con el fin de visualizar y estudiar la actividad ovárica requerían del uso de técnicas invasivas como laparotomía, exteriorización de los ovarios o bien el examen postmortem (Gordon, 2004). No obstante, el desarrollo de técnicas menos invasivas, como la ecografía o ultrasonografía (US) transrectal, ha permitido, desde hace varias décadas, realizar diagnósticos de preñez en pequeños rumiantes. Adicionalmente, ha sido empleada para determinar el número de fetos y su viabilidad, así como diagnosticar patologías del tracto reproductivo. Esta técnica ha venido empleándose en las últimas décadas para el estudio de las estructuras ováricas (folículos y cuerpos lúteos) y para evaluar su desarrollo (Buckrell, 1988).

La ecografía consiste en el uso de frecuencias de sonido que se ubican por encima del rango de audición del oído humano (mayor a 20.000 Hz). Las ondas de sonido en los equipos de US son producidas por las vibraciones de cristales especializados (cristales piezoeléctricos) ubicados dentro del transductor. Una proporción de las ondas de sonido reflejadas de vuelta hacia el transductor es transformada en una corriente eléctrica y mostrada como un eco, en diferentes escalas de grises, en la pantalla del equipo de US. Por lo tanto, el transductor actúa como emisor de ondas sonoras y como receptor de los ecos producidos por el choque de éstas sobre los diferentes órganos o tejidos corporales (Medan y Abd El-Aty, 2010).

Esta técnica, y muy específicamente la US transrectal, es una técnica no traumática, que permite la visualización sucesiva y en tiempo real de las estructuras ováricas, lo que le aporta grandes ventajas con respecto a otras técnicas invasivas,

como la laparotomía o laparoscopia, ya que minimiza el estrés de los animales y no requiere de la administración de fármacos sedantes o anestésicos (Simões *et al.*, 2005; Contreras-Solís *et al.*, 2007a; 2007b).

Viñoles *et al.* (2004) señalan que las técnicas de las que se ha dependido tradicionalmente para estudiar la dinámica de crecimiento folicular y luteal han estado basadas en uso del conteo, medición y evaluación macroscópica de ovarios de animales sacrificados en diferentes etapas del ciclo estral, o bien en el marcaje de los folículos con tinta, para luego evaluarlos mediante laparotomías seriadas. No obstante, la capacidad de la ecografía transrectal para diferenciar entre fluidos y tejidos blandos la hace ideal para estudiar este tipo de tejidos en comparación con las radiografías. Los folículos antrales de varios tamaños aparecen como estructuras no ecogénicas, las cuales pueden distinguirse de los vasos sanguíneos, ya que estos últimos aparecen de forma elongada en cortes transversales (Medan y Abd El-Aty, 2010).

Estudios realizados en vacas, ovejas y cabras han encontrado una alta correlación ( $> 0,80$ ) entre los diámetros de los folículos obtenidos por medición postmortem y los realizados mediante el uso de la ecografía transrectal (Pierson y Ginther, 1987; Viñoles *et al.*, 2004; Contreras-Solís *et al.*, 2007a; Medan y Abd El-Aty, 2010). En el caso específico de las cabras, Simões *et al.* (2005) encontraron una correlación de 1,00 entre los datos obtenidos postmortem y los obtenidos por US para folículos de tamaño 5 – 7,9 mm y una correlación de 0,97 para los folículos con tamaño  $\geq 8$  mm.

Un estudio realizado por Simões *et al.* (2006) para describir el patrón de desarrollo folicular ovárico durante el ciclo estral en cabras, empleando la ecografía transrectal, indica que el diámetro máximo del folículo preovulatorio fue significativamente mayor que el folículo dominante de todas las ondas anovulatorias ( $7,1 \pm 1,0$  mm vs.  $5,9 \pm 0,8$  mm), lo que ilustra la reducción de la dominancia folicular durante la fase luteal. Por el contrario, Tenório Filho *et al.* (2007) encontraron que el diámetro del folículo preovulatorio en cabras Anglo-Nubian con 4 ondas foliculares fue

de  $5,3 \pm 0,1$  mm, el cual no difirió estadísticamente, más si numéricamente, del diámetro de los folículos dominantes anovulatorios. Sin embargo, el contraste numérico de estos resultados podrían deberse al pequeño número de animales utilizados en el estudio (n=6).

Este método también ha sido exitoso en determinar la presencia o ausencia, el tamaño y la apariencia de los cuerpos lúteos (CLs), en varias especies de rumiantes domésticos, permitiendo relacionar estos datos con la funcionalidad del tejido luteal. Generalmente, un CL se puede identificar, ultrasonográficamente, a partir del tercer día luego de la ovulación, en diferentes especies de rumiantes. El CL en crecimiento, o cuerpo hemorrágico, aparece en la imagen como una estructura grisácea, poco ecogénica, irregular y poco definida, mientras que la imagen de un CL maduro se observa como una estructura sólida, bien definida dentro del estroma ovárico. En el caso de un CL en regresión, la línea que lo demarca dentro del tejido ovárico es apenas perceptible, debido a la poca diferencia existente entre la ecogenicidad de ambos tejidos (Medan y Abd El-Aty, 2010). Por su parte, Simões *et al.* (2005) reportan que el 65% de los CL de cabras estudiadas presentó una cavidad interna llena de fluido, y que el 92% de esas cavidades pudo ser detectada mediante US transrectal. Sin embargo, Simões *et al.* (2007) observaron cavidades en el 78% de los CL estudiados, las cuales no poseen ningún efecto negativo sobre la función luteal, medida en base a los niveles plasmáticos de  $P_4$ .

Pierson y Ginther (1987), estudiando ovarios de novillas Holstein encontraron que la apariencia ecogénica del CL es distinta a la del tejido ovárico circundante, lo que permite que esta técnica sea exitosa para su correcta detección y medición. Adicionalmente, un estudio posterior determinó que, en el caso de las vacas lecheras, la apariencia ecográfica del tejido luteal es un método más confiable para determinar la función de un CL –en términos de niveles plasmáticos de  $P_4$ - de mitad del ciclo que la medición del tamaño o diámetro mayor (Veronesi *et al.*, 2002).

Estudios realizados en rumiantes menores (ovejas y cabras), han demostrado la eficiencia de esta técnica para la determinación del tamaño y apariencia ecogénica de los CLs. Asimismo, estos estudios han logrado validar esta técnica como indicador de la función luteal, ya que han relacionado positivamente los niveles plasmáticos de  $P_4$  con el tamaño y apariencia ecogénica de estos CL (Bartlewski *et al.*, 1999; González de Bulnes *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2004; Simões *et al.*, 2005; Contreras-Solís *et al.*, 2007b; Simões *et al.*, 2007).

### 3.4 Control del Ciclo Estral de la Cabra

El control del ciclo estral de las cabras en el trópico se realiza por cuatro razones, las cuales son descritas por González-Stagnaro (1993): 1. Como parte de los programas de inseminación artificial, con el objeto de introducir mejoras genéticas en los rebaños; 2. Programar los partos en las épocas más favorables de año, tanto para las madres, como para las crías; 3. Mejorar la eficiencia reproductiva mediante el acortamiento de los periodos de anestro; 4. Preparar a las hembras donadoras y receptoras en los programas de superovulación y transferencia de embriones. Este control puede realizarse mediante el uso de protocolos basados, tanto en métodos naturales o no hormonales (como el efecto macho o la alteración del fotoperiodo), como hormonales (por medio del uso de hormonas exógenas).

#### 3.4.1 Efecto macho:

El efecto macho consiste en la inducción del celo y ovulación tras la reintroducción de un macho en un grupo de hembras en anestro (ovinas o caprinas), previo a un período de aislamiento (generalmente superior a las tres semanas). Depende principalmente de un mecanismo olfativo, en el cual las feromonas producidas por las glándulas sebáceas del macho, actúan como una señal que provoca una reacción neuroendocrina inmediata en la hembra, traduciéndose en un incremento de la frecuencia y amplitud de la secreción pulsátil de LH en un periodo aproximado de 20 min luego de la introducción del macho. Esto provoca que la ovulación (de más del



95% de las hembras) ocurra entre las 24 y 72 h luego de la introducción del macho, presentándose una expresión variable de signos de celo, generalmente en el 60% de las hembras. El CL generado es generalmente de corta duración (3 - 8 d), caracterizado éste, por una baja capacidad de síntesis de P<sub>4</sub>. Los ciclos siguientes serán de duración y fertilidad normales (Álvarez Ramírez y Sarco Quintero, 2001; Contreras Solís, 2008; López Sebastián, 2009).

El efecto macho se ve modulado por varios factores ambientales y raciales. En este sentido, se ha reportado que un estado nutricional deficiente podría interferir con la respuesta al efecto macho, ya que el estímulo no logra vencer los efectos de una dieta restrictiva prolongada. Rebaños de cabras con baja CC (1,5 - 1,7/escala del 1,0 al 5,0; Villaquiran *et al.*, 2004) responden a la introducción del macho en menos del 50% de los casos, mientras que aquellas cabras con una adecuada CC (3,5/5,0) responden positivamente en el 85% de los casos (González-Stagnaro, 1993).

Otro factor importante que modula la calidad de la respuesta al efecto macho es la intensidad de la estacionalidad, tanto en las hembras como en los machos. La respuesta varía entre razas a lo largo del periodo de anestro estacional, al igual que entre razas provenientes de distintas latitudes. En cabras con estacionalidad moderada del tipo criollo tropical, la introducción del macho es capaz de inducir la actividad ovárica con una alta fertilidad en cabras anovulatorias y durante todo el año. Por el contrario, en cabras de razas altamente estacionales, el efecto macho solo es capaz de adelantar el inicio de la temporada reproductiva por unas pocas semanas, no de inducir una actividad ovárica completa durante el anestro total (Fatet *et al.*, 2011).

#### 3.4.2 Protocolos hormonales utilizados en el control del ciclo estral:

En condiciones tropicales, las cabras muestran una excelente respuesta a los protocolos hormonales para la sincronización del ciclo estral, siempre y cuando se garantice un óptimo estado nutricional y sanitario. El control hormonal del ciclo estral es ampliamente utilizado en países, en los que abundan las explotaciones altamente

tecnificadas, debido a sus ventajas reproductivas y productivas. Sin embargo, en el trópico su uso se encuentra todavía muy limitado, debido principalmente a la baja rentabilidad y tecnificación de las explotaciones, deficiencias en el manejo nutricional y sanitario y el costo y disponibilidad de los equipos y fármacos necesarios para su implementación (González-Stagnaro, 1993). Entre los métodos hormonales destacan el uso de la P<sub>4</sub> y sus análogos (progestágenos), administrados principalmente en forma de dispositivos intravaginales, y la PGF<sub>2α</sub> y sus análogos, administrados por vía parenteral (Amarantidis *et al.*, 2004).

A. *Progestágenos*: La progesterona y los progestágenos, como el acetato de medroxyprogesterona (MAP) o el acetato de fluorogestona (FGA), administrados generalmente en forma de esponjas o dispositivos de liberación lenta por vía intravaginal, han sido utilizados en cabras, principalmente durante la estación no reproductiva. Su acción consiste en inhibir la secreción de altos niveles de LH, limitándola a los niveles presentes durante la fase luteal, lo que impide el desarrollo de los folículos preovulatorios. Una vez retirada la esponja o dispositivo intravaginal, ocurre la aparición de una fase folicular con la presencia de folículos preovulatorios, signos de celo y ovulación (López Sebastián, 2009). En muchos casos, los progestágenos suelen utilizarse en conjunto con gonadotropina coriónica equina (eCG), administrada antes o después de la remoción de la esponja. El propósito de esta hormona es inducir la actividad folicular y provocar una superovulación para aumentar el número de partos múltiples en razas menos prolíficas. Sin embargo, al ser una hormona peptídica que actúa como inmunógeno, las sucesivas administraciones generan anticuerpos que pueden interferir con su actividad, disminuyendo de esta forma la eficacia de los tratamientos progestativos (Ahmed *et al.*, 1998; Gordon, 2004; Fonseca *et al.*, 2005a).

No obstante, la presencia y sincronización del celo, como respuesta a la inyección diaria de P<sub>4</sub> o a la administración de esponjas intravaginales de MAP o FGA por un periodo variable y en combinación o no con eCG, produce resultados que nos indican que es un protocolo eficiente para la sincronización del celo en cabras (Tabla

2). Cuando este protocolo es utilizado durante la época reproductiva, suele administrarse una dosis de PGF<sub>2</sub>α (o sus análogos) 48 h antes de la remoción de la esponja, con el fin de eliminar cualquier CL presente (Ishwar y Pandey, 1990; Ahmed *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 2002; Amarantidis *et al.*, 2004; Fonseca *et al.*, 2005a).

Las esponjas intravaginales son más sencillas de utilizar en hembras con un parto o más, que en hembras nulíparas; sin embargo, en ambos casos requieren de trabajo y de la aplicación de estrictas medidas higiénicas (Ahmed *et al.*, 1998). Otra desventaja del uso de progestágenos es la menor tasa de concepción al compararla con el servicio natural, ya que se producen alteraciones en el patrón de liberación de LH, en la calidad de las ovulaciones y/o en el transporte y supervivencia de los espermatozoides en el tracto reproductivo femenino (González-Bulnes *et al.*, 2005b). Adicionalmente, el uso de progestágenos será descontinuado en la Unión Europea, y probablemente en otros países, debido a la aplicación de regulaciones sobre los residuos químicos en leche y carne (González-Bulnes *et al.*, 2005a).

Tabla 2. Protocolos de sincronización del celo en cabras usando P<sub>4</sub> y progestágenos en combinación o no con eCG.

Dosis P <sub>4</sub>	Permanencia de la esponja	Dosis eCG	Sincronización (%)	Referencias
12,5 mg Intramuscular	16 d	-	90,0	Ishwar y Pandey (1990)
40 mg	16 d	- 300 UI	70,0 77,7	Ahmed <i>et al.</i> (1998)
60 mg (Acetato de medroxyprogesterona)	12 d	-	65,4	Ruiz <i>et al.</i> (2002)
45 mg (Acetato de fluorogestona)	19 d	- 400 UI	100,0 100,0	Amarantidis <i>et al.</i> (2004)
60 mg (Acetato de medroxyprogesterona)	6 d	200 UI	95,7	Fonseca <i>et al.</i> (2005a)

*B. Prostaglandina F<sub>2</sub>α y sus análogos:* Los agentes luteolíticos, tales como la PGF<sub>2</sub>α natural (dinoprost) o sus análogos sintéticos, inducen la lisis del CL entre los días 4 y 16 del ciclo estral, generando el desarrollo de una fase folicular acompañada

de celo y ovulación; por lo que solo son efectivos durante la época reproductiva. Esto proporciona una estrategia de manejo reproductivo que toma en cuenta la ciclicidad, acortando la fase luteal, mediante la regresión prematura del CL (Romano, 1998; Freitas *et al.*, 2004; Khanum *et al.*, 2006).

Las prostaglandinas son derivados químicos del ácido araquidónico (AA). El CL posee una rica fuente de AA, un ácido graso esencial, almacenado en los fosfolípidos de membrana. La síntesis de  $PGF_2\alpha$  es controlada por varias enzimas, tales como fosfolipasa A2 citosólica, ciclooxigenasas, PG-sintetasas y PG15-deshidrogenasas (Arosh *et al.*, 2004).

La  $PGF_2\alpha$  posee efectos sobre el sistema cardiovascular, gastrointestinal y vías respiratorias, además de sus efectos sobre el aparato reproductor de la hembra, sobre el cual tiene una acción oxtócica potente, estimulando la actividad del músculo liso endometrial, relajando el cuello uterino, inhibiendo la síntesis de esteroides por parte del CL y provocando la lisis de éste (Martín-Jiménez y Papich, 2002). Por otra parte, Colazo *et al.* (2002) resumen el metabolismo de la  $PGF_2\alpha$ , indicando que tiene una vida media muy corta: una vez que llega al torrente sanguíneo es rápidamente inactivada por oxidación al pasar por los pulmones. Luego de su administración por vía intramuscular, las concentraciones incrementan a los 10 min y luego de 90 min declinan a valores previos a su administración.

El desarrollo de análogos de la  $PGF_2\alpha$  tiene como objetivo reducir los efectos colaterales a la administración de las prostaglandinas naturales, tales como los que se presentan sobre la musculatura lisa (Sorensen, 1982). El cloprostenol es un análogo sintético de la  $PGF_2\alpha$ , tiene isomería óptica "D" y "L" y de estos compuestos, el isómero "D" es 3 a 4 veces más potente que el isómero "L", porque tiene mayor afinidad por el receptor, provocando una rápida regresión del cuerpo lúteo al mismo tiempo que provoca estimulación de la musculatura uterina y relajación del cérvix (Echeverría, 2006).

El uso de cloprostenol ha demostrado ser efectivo al administrarse en dosis de 125 µg, con un intervalo de 12 ó 13 d (Ahmed *et al.*, 1998; Romano, 1998). Dosis menores, de 62,5 µg administradas en forma de dos inyecciones intramusculares o subcutáneas en la mucosa vulvar, a intervalos de 10 a 12 d, han proporcionado resultados satisfactorios (> 75%) en la sincronización del celo en cabras (Mgongo, 1987; Romano, 1998; Khanum *et al.*, 2006). Otros investigadores (Ogunbiyi *et al.*, 1980; Mellado *et al.*, 1994) han estudiado la efectividad en la sincronización del estro utilizando dinoprost, cuando se administra en dosis entre 4 y 7,5 mg, en intervalos de 10 a 12 d, obteniéndose resultados de sincronización del 55 a 84 % de las cabras tratadas (Tabla 3). Estos protocolos son de aplicación sencilla y pueden ser administrados por el criador con muy poco esfuerzo (Ahmed *et al.*, 1998).

Tabla 3. Protocolos de sincronización del celo en cabras usando PGF<sub>2α</sub> natural y sintética.

Tipo de PGF <sub>2α</sub>	Dosis	Intervalo	Sincronización (%)	Referencias
Cloprostenol	125 µg	12-13 d.	100	Ahmed <i>et al.</i> (1998) Romano (1998)
Cloprostenol	62,5 µg	10-12 d.	> 75	Mgongo (1987) Romano (1998) Khanum <i>et al.</i> (2006)
Dinoprost	4 - 7,5 mg	10-12 d.	55-84	Ogunbiyi <i>et al.</i> (1980) Mellado <i>et al.</i> (1994)
Dinoprost	0,5 – 1,5 mg	11 d.	25	Mellado <i>et al.</i> (1994)

Finalmente, los resultados obtenidos, en los estudios antes mencionados, han demostrado una variabilidad de respuesta al usar dosis reducidas de los análogos de PGF<sub>2α</sub>, en el control del ciclo estral de la cabra. Así mismo, estos ensayos se han caracterizado, metodológicamente, por el uso de técnicas indirectas que evalúan la función ovárica, como es la determinación de hormonas esteroideas en fluidos corporales y por el empleo de observaciones a campo, como es por ejemplo, la detección de animales en celo. Por tal razón, el empleo de la US transrectal, podría ser una herramienta importante, que contribuiría a dar una mayor información sobre la

función ovárica (en tiempo real), específicamente en aquellos estudios orientados a evaluar dosis reducidas de cloprostenol, empleadas en el control del ciclo estral de la hembra caprina.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Animales y Alojamiento

El estudio fue realizado entre los meses de mayo y junio de 2010 en la Unidad Experimental de Producción Caprina (UEPC), de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela (UCV), ubicada en Maracay, estado Aragua (10°27' N, 67°61' O; 426 m.s.n.m.), Venezuela. Durante este período se usaron 48 cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria (con un mestizaje de 5/8 a 3/4), lactantes, entre 1 y 6 partos, con peso promedio de  $44,2 \pm 0,9$  Kg y una CC óptima. Durante los ensayos, las cabras se mantuvieron bajo un régimen de un ordeño diario realizado a las 8 am. Las mismas fueron desparasitadas y alojadas en corrales de 144 m<sup>2</sup> con 30% de sombra y alimentadas con una ración de 400 g de alimento concentrado con 18% de proteína cruda y libre acceso a heno de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*), minerales y agua.

### 4.2 Diseño Experimental

4.2.1 Estudio descriptivo de la dinámica de desarrollo luteal. Con el objeto de estimar la edad del CL (a través de su tamaño) durante las etapas luteales inicial e intermedia, se procedió a evaluar las dimensiones de los CLs presentes, desde el inicio de la fase de crecimiento hasta un día antes del inicio de la fase de regresión. Para esto, un grupo de 12 cabras, de uno a seis partos y con un peso promedio de  $41,9 \pm 1,5$  Kg, fue sincronizado utilizando un protocolo estándar de dos dosis de 87,5 µg de cloprostenol (vía IM; Planate®; Shering Plough, Venezuela), separadas por un periodo de 10 d. Una vez administrada la segunda dosis, se procedió a detectar el inicio del celo (cada 12 h), usando un macho vasectomizado. Una vez detectado el celo, se inició la evaluación diaria de la dinámica de desarrollo luteal desde el día del celo (d 0), hasta el inicio de la regresión de los CLs, mediante ecografía transrectal. La evaluación se hizo tomando en cuenta el número de CLs y el área (expresada en mm<sup>2</sup>) de cada uno. Estos datos se registraron en mapas ováricos elaborados para tal fin (Figura 2).

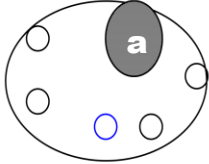
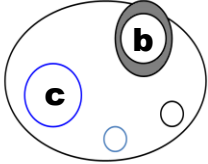
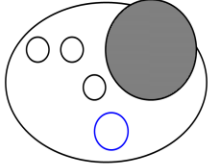
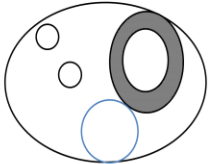
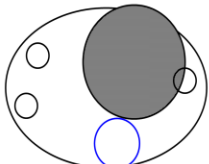
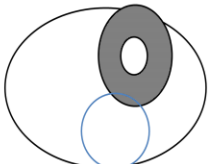
Ovario Izquierdo	Cabra #	Ovario Derecho
Día: ____, Fecha: _____ 		
Día: ____, Fecha: _____ 		
Día: ____, Fecha: _____ 		

Figura 2. Ejemplo de mapa ovárico en el que se registró diariamente la ubicación, el número y el tamaño de los CLs sin cavidad (a), CLs con cavidad (b) y folículos (c).

#### 4.2.2 Evaluación de la actividad luteolítica de dosis reducidas de cloprostenol:

Con el fin de evaluar la capacidad luteolítica de dos dosis decrecientes de cloprostenol, *versus* una dosis alta ó convencional, un grupo de 24 cabras fueron asignadas, con base en su edad, a tres tratamientos (n=8 c/u): un grupo control (grupo A), el cual fue tratado con una dosis alta de cloprostenol (A: 87,5 µg; 1,0 mL), y dos grupos de tratamiento denominados M y B, los cuales fueron tratados con la mitad (M: 43,75 µg; 0,5 mL) y un tercio (B: 26,25 µg; 0,3 mL) de la dosis convencional, respectivamente. Las dosis se administraron por vía intramuscular y la actividad luteolítica de cada una fue evaluada por medio de la determinación de la presencia o ausencia de tejido luteal. La misma fue realizada por ecografía transrectal en los días 0 (día del tratamiento), 3 y 7 luego del tratamiento (Figura 3). Asimismo, durante la evaluación ecográfica se



determinó el tamaño de cada CL, los cuales fueron registrados en términos de área ( $\text{mm}^2$ ) de tejido luteal.

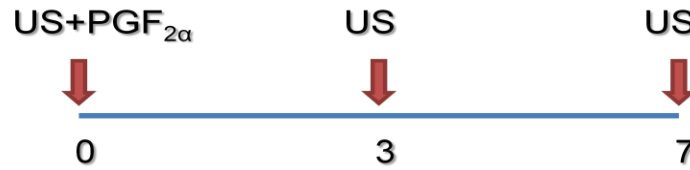


Figura 3. Esquema del protocolo de evaluación de la actividad luteolítica de dosis reducidas de cloprostenol (43,75 y 26,25  $\mu\text{g}$ ) *versus* la dosis convencional (87,5  $\mu\text{g}$ ).

4.2.3 Evaluación de la actividad sincronizadora de dosis reducidas de cloprostenol: Con el fin de evaluar la capacidad de sincronización del celo de dos dosis decrecientes de cloprostenol, *versus* una dosis alta ó convencional, un nuevo grupo de 24 cabras, seleccionadas del rebaño en base su edad, y asignadas a tres tratamientos (n=8; tal como se hizo en el experimento 1): un grupo control, tratado con una dosis convencional o alta de cloprostenol (A: 87,5  $\mu\text{g}$ ; 1,0 mL), y dos grupos tratados con la mitad (M: 43,75  $\mu\text{g}$ ; 0,5 mL) y un tercio (B: 26,25  $\mu\text{g}$ ; 0,3 mL) de la dosis convencional, respectivamente. Con el fin de sincronizar el celo de las cabras, se realizaron dos administraciones a cada grupo, separadas por un periodo de 10 d. La actividad luteolítica de cada una de estas dosis fue evaluada a través de la presencia o ausencia del CL y área de tejido luteal, lo cual fue determinado por ecografía transrectal los días -10 (día de la primera administración), -7, -4, 0 (día de la segunda administración) y 11 posterior a la segunda administración (Figura 4).

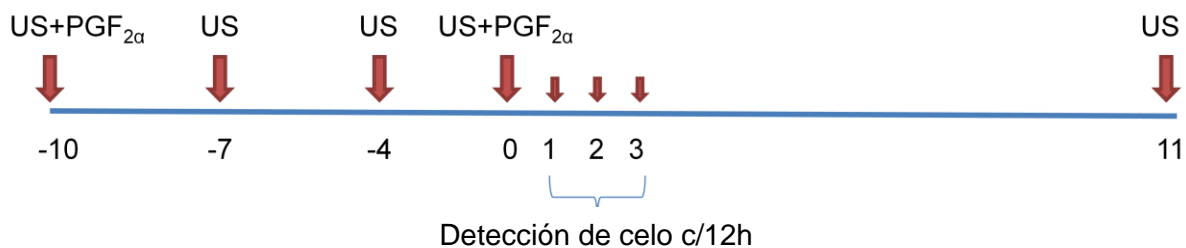


Figura 4. Esquema del protocolo de evaluación de la actividad sincronizadora de dosis reducidas de cloprostenol (43,75 y 26,25  $\mu\text{g}$ ) *versus* la dosis convencional (87,5  $\mu\text{g}$ ).

Igualmente, se empleó la ecografía transrectal para detectar y medir el diámetro de los folículos preovulatorios generados luego de la segunda dosis de cloprostenol durante los tres días siguientes a la segunda administración de PGF<sub>2α</sub>. Adicionalmente, se realizó la detección del celo, la cual se comenzó a evaluar a partir de las 24 h posteriores a la administración de la segunda dosis, con intervalos de 12 h, hasta completar 72 h post tratamiento. Para esto se utilizó un macho recelador, previamente vasectomizado.

#### 4.3 Evaluación Ecográfica

La evaluación ecográfica de las estructuras ováricas (folículos y CLs) fue realizada según la técnica descrita por Simões *et al.* (2005), utilizando un ecógrafo (Aloka®, modelo SSD 500, Meditron C.A., Venezuela), provisto de un transductor lineal de 7,5 MHz, diseñado para la evaluación de la próstata en humanos. Durante el procedimiento, las cabras se mantuvieron inmovilizadas y de pie, insertándose la sonda previamente lubricada con un gel hidrosoluble, en el recto, con el transductor orientado dorsalmente. Luego de insertarlo, el mismo fue rotado 180° hasta entrar en contacto con la mucosa rectal. Después de ubicar la vejiga y los cuernos uterinos, se procedió a rotar el transductor en un ángulo de 45-90° y en ambos sentidos, hasta localizar los ovarios. La imagen ecográfica de cada CL se congeló al visualizarse su mayor diámetro y el área total se calculó electrónicamente al colocar los calibradores del ecógrafo en la interfase entre el tejido luteal y el estroma ovárico. En el caso de los CLs que presentaron una cavidad central, el área de ésta fue medida y restada al área total del CL, con el fin de obtener el área de tejido luteal (Figura 5). El mismo procedimiento se realizó para localizar los folículos preovulatorios con el objeto de obtener y medir el mayor diámetro de éstos (Figura 6).

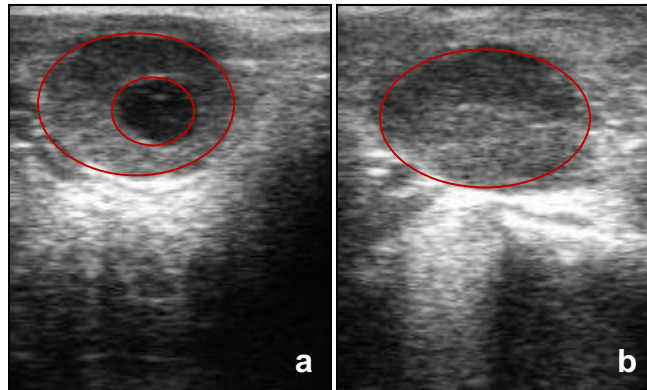


Figura 5. Imagen ecográfica de un CL de cabra con cavidad central (a) y sin cavidad central (b).

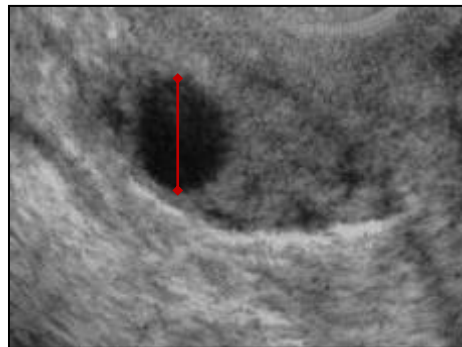


Figura 6. Imagen ecográfica de un folículo preovulatorio.

#### 4.4 Análisis Estadístico

Para la descripción de la dinámica luteal y crecimiento de folículos preovulatorios, se utilizaron los siguientes conceptos:

- Área luteal por cabra: suma total del área de cada uno de los cuerpos lúteos que posee una cabra en un día de la fase luteal del ciclo estral.
- Área luteal por CL: tejido luteal medido en cada CL observado en un día de la fase luteal del ciclo estral.
- Día de inicio de la regresión luteal: día del ciclo estral en el cual se inicia la disminución sostenida del área del cuerpo lúteo. Ocurre luego del día de que se presenta la mayor área luteal.

- Día de mayor área luteal: día del ciclo estral en el que el área luteal alcanza su mayor tamaño, antes de iniciar la regresión.
- Etapa luteal inicial: se inicia en la primera visualización ecográfica del CL, abarca entre los d 3 - 8 del ciclo estral. El CL se encuentra en etapa de crecimiento.
- Etapa luteal intermedia: entre los d 8 -13 del ciclo estral. El CL alcanza la madurez.
- Etapa luteal final o regresión: comienza a partir del inicio de la disminución del área luteal o regresión luteal.
- Intervalo celo - inicio de la regresión luteal: tiempo transcurrido entre la aparición del celo y el momento en el que se inicia la luteolisis.
- Intervalo tratamiento - inicio del celo: tiempo transcurrido entre la administración del cloprostenol y la aparición del celo.
- Número de CL por cabra: número total de estructuras luteales observadas ecográficamente en ambos ovarios de una cabra.
- Porcentaje de luteolisis: número de animales que respondieron a la administración de PGF<sub>2α</sub>, evidenciándose la desaparición de la imagen ecográfica del CL
- Tasa de crecimiento de folículos preovulatorios (mm/d): incremento diario del diámetro de un folículo preovulatorio.
- Tasa de crecimiento del cuerpo lúteo (mm<sup>2</sup>/d): calculada a través de la regresión lineal del área luteal sobre el día del ciclo estral. Se calculó por separado para la etapa luteal inicial (d 3 – 8) y etapa luteal intermedia (d 8 – 14).
- Tasa de ovulación: número de folículos preovulatorios que ovularon en un ciclo estral en una cabra. Esto se correlacionó con el número de CL observados en esa cabra durante el ciclo estral siguiente.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los datos obtenidos fueron organizados, para hacer los siguientes análisis, en cada caso (Steel y Torrie, 1987):

- La dinámica de desarrollo luteal (etapas inicial e intermedia), se evaluó mediante un análisis de varianza (ANAVAR) de una sola vía, usando el día como efecto principal.
- La presencia o ausencia de CL y el porcentaje de hembras en celo se evaluó mediante la prueba de Fisher.
- El área y el número de CL fueron evaluados mediante análisis de varianza (ANAVAR) de una sola vía usando el tratamiento (dosis alta, media y baja) como efecto principal.
- En aquellos casos en los cuales el efecto del tratamiento resultó significativo, se realizó una prueba de medias de Tukey.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij}: \mu + t_i + \varepsilon_{ij}.$$

Donde:

$Y_{ij}$ : número de CL; área de CL

$\mu$ : media

$t_i$ : tratamiento (dosis alta, media y baja) ó día del ciclo, según fuere el experimento

$\varepsilon_{ij}$ : error experimental

Para la realización de los análisis se utilizó el programa estadístico Statistix© Versión 8.0 de Analytical Software (Statistix 8 User Guide, 2007).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Estudio Descriptivo de la Dinámica de Desarrollo Luteal

Se obtuvo un intervalo celo-inicio de regresión luteal de  $16,3 \pm 0,4$  d (media  $\pm$  EE). La visualización del CL se inició  $3,3 \pm 0,1$  d después del celo, con un área de tejido luteal por cabra de  $77,5 \pm 9,6$  mm<sup>2</sup> y un área de tejido luteal por CL de  $51,7 \pm 4,6$  mm<sup>2</sup>. A partir de ese momento, el CL aumentó de tamaño hasta alcanzar, el día 13, un máximo de área de tejido luteal por cabra de  $276 \pm 17,6$  mm<sup>2</sup> y un área de tejido luteal por CL de  $118,3 \pm 5,7$  mm<sup>2</sup> (Figuras 7 y 8, respectivamente). Cabe destacar que se observó una primera etapa de desarrollo temprano durante los primeros 8 d del ciclo, con una tasa de crecimiento de tejido luteal por cabra de  $26,6$  mm<sup>2</sup>/d ( $P < 0,01$ ), momento a partir del cual se inicia la etapa luteal intermedia, la cual se extiende hasta el d 14 y en la que la tasa de crecimiento se redujo a  $14,5$  mm<sup>2</sup>/d ( $P < 0,01$ ).

Es importante notar que 67,9% de los CL observados presentaron una cavidad llena de líquido, la cual fue desapareciendo progresivamente hasta el día  $12 \pm 1,0$  del ciclo.

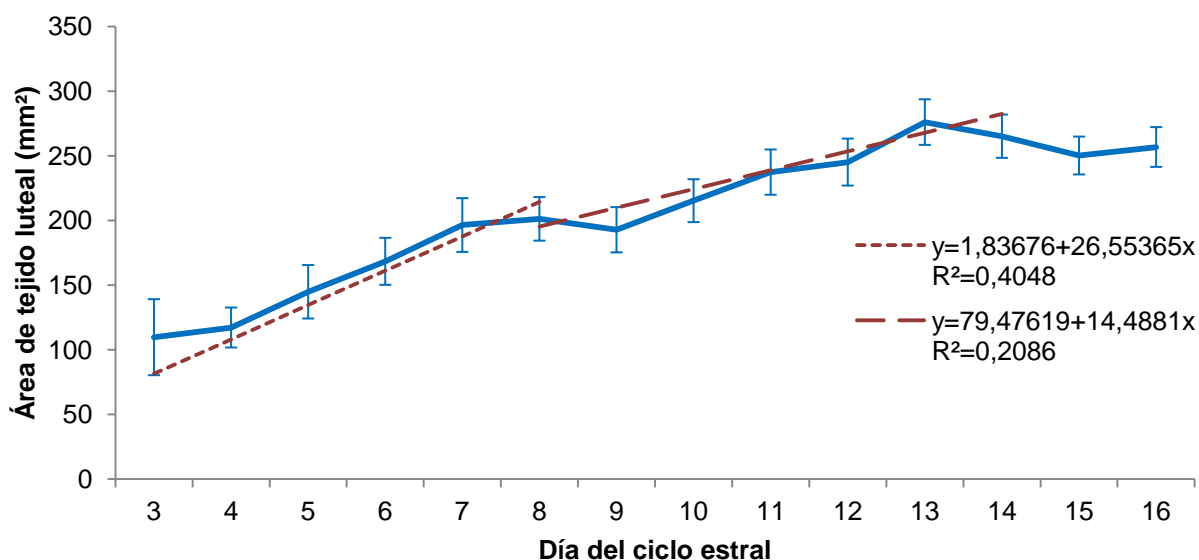


Figura 7. Crecimiento del tejido luteal por cabra (media  $\pm$  EE) durante un ciclo estral en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria (n=12).

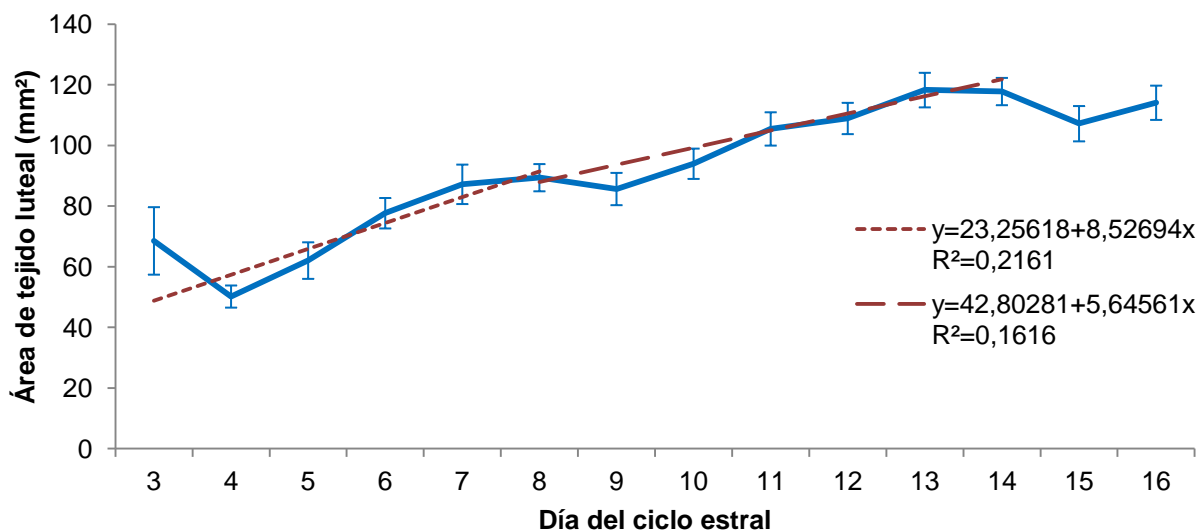


Figura 8. Crecimiento del tejido luteal por CL (media  $\pm$  EE) durante un ciclo estral en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria (n=12).

## 5.2 Evaluación de la Actividad Luteolítica de Dosis Reducidas de Cloprostenol

Cuatro animales (2 pertenecientes al grupo M y 1 de los grupos A y B, respectivamente) fueron eliminados del ensayo por no presentar cuerpos lúteos al inicio del ensayo. Tras la evaluación ecográfica, previo al tratamiento, se observó que no hubo diferencias entre los grupos, en términos de número de cuerpos lúteos (CLs) ( $P=0,17$ ), área luteal por cabra ( $P=0,76$ ) y área luteal por CL ( $P=0,27$ ) (Tabla 4).

Tabla 4. Número de cuerpos lúteos (CL), área luteal por cabra y área luteal por CL (media  $\pm$  EE) en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria antes del inicio del tratamiento (d 0) con dosis alta (A; 87,5  $\mu$ g), media (M; 43,75  $\mu$ g) o baja (B; 26,25  $\mu$ g) de cloprostenol.

Grupo (n)	Número CL/cabra	Área luteal/cabra (mm <sup>2</sup> )	Área luteal/CL (mm <sup>2</sup> )
A (7)	1,4 $\pm$ 0,2	178,3 $\pm$ 33,1	124,8 $\pm$ 13,4
M (6)	1,8 $\pm$ 0,2	210,2 $\pm$ 35,7	114,6 $\pm$ 12,8
B (7)	1,9 $\pm$ 0,2	178,4 $\pm$ 33,1	96,1 $\pm$ 11,8

El d 3 post-tratamiento se observó 100% de luteolisis en los 3 tres grupos experimentales. De igual manera, al d 7 post-tratamiento, no se observaron diferencias entre los grupos tratados, en términos del número de CL por cabra (P=0,65) y tamaño (área luteal por cabra; P=0,97 y área luteal por CL; P=0,16) (Tabla 5).

Tabla 5. Número de cuerpos lúteos (CL), área luteal por cabra y área luteal por CL (media  $\pm$  EE) en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria, 7 d posteriores al tratamiento con una dosis alta (A; 87,5  $\mu$ g), media (M; 43,75  $\mu$ g) o baja (B; 26,25  $\mu$ g) de cloprostenol.

Grupo (n)	Número CL/cabra	Área luteal/cabra (mm <sup>2</sup> )	Área luteal/CL (mm <sup>2</sup> )
A (7)	1,6 $\pm$ 0,2	93,0 $\pm$ 16,1	59,2 $\pm$ 5,1
M (6)	1,7 $\pm$ 0,3	87,0 $\pm$ 17,4	52,2 $\pm$ 5,3
B (7)	1,3 $\pm$ 0,3	90,8 $\pm$ 17,4	68,1 $\pm$ 5,9

### 5.3 Evaluación de la Actividad Sincronizadora de Dosis Reducidas de Cloprostenol

Cabe mencionar que al inicio del experimento, 6 cabras (2, 3 y 1 de los grupos A, M y B, respectivamente), no presentaron imágenes ecográficas asociadas a la presencia de tejido luteal. No obstante, se observó que al inicio del experimento (d -10; día de la administración de la primera dosis de cloprostenol), los tres grupos empleados fueron homogéneos en cuanto al número de CL por cabra (P=0,56), área luteal por cabra (P=0,7) y área luteal por CL (P=0,16) (Tabla 6).

Tabla 6. Número de cuerpos lúteos (CL), área luteal por cabra y área luteal por CL (media  $\pm$  EE) en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria antes del inicio del tratamiento (d -10) con la primera administración de una dosis alta (A; 87,5  $\mu$ g), media (M; 43,75  $\mu$ g) o baja (B; 26,25  $\mu$ g) de cloprostenol.

Grupo (n)	Número CL/cabra	Área luteal/cabra (mm <sup>2</sup> )	Área luteal/CL (mm <sup>2</sup> )
A (6)	1,7 $\pm$ 0,3	91,2 $\pm$ 19,3	54,7 $\pm$ 10,0
M (5)	1,4 $\pm$ 0,3	115,4 $\pm$ 21,2	82,4 $\pm$ 11,9
B (7)	1,3 $\pm$ 0,2	100,6 $\pm$ 17,9	78,2 $\pm$ 10,5



El d -7 se observó una menor respuesta luteolítica en los grupos de dosis alta y media (83,3% [5/6] y 80% [4/5], respectivamente) con respecto al grupo que recibió la dosis baja, en el cual se obtuvo 100% de respuesta (P=0,5). Aquellos animales que no presentaron estructuras luteales al momento de la primera administración, mostraron imágenes asociadas a cuerpos hemorrágicos, con una media de área luteal de  $68,6 \pm 6,4 \text{ mm}^2$  (33 a  $82 \text{ mm}^2$ ).

El d -4, momento en el cual se evidencia la formación de nuevos CL, se puede observar una diferencia significativa (P<0,01) en cuanto al área media de cada CL, siendo mayor en los grupos A y B, y menor en el grupo M. El área luteal y el número de CL por cabra no presentaron diferencias significativas (P=0,35 y P=0,96; respectivamente) (Tabla 7).

Tabla 7. Número de cuerpos lúteos (CL), área luteal por cabra y área luteal por CL (media  $\pm$  EE) en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria, luego de la primera administración (d -4) de una dosis alta (A; 87,5  $\mu\text{g}$ ), media (M; 43,75  $\mu\text{g}$ ) o baja (B; 26,25  $\mu\text{g}$ ) de cloprostenol.

Grupo (n)	Número CL/cabra	Área luteal/cabra (mm <sup>2</sup> )	Área luteal/CL (mm <sup>2</sup> )
A (8)	1,5 $\pm$ 0,2	124,3 $\pm$ 17,6	82,8 $\pm$ 5,2 <sup>a</sup>
M (8)	1,5 $\pm$ 0,2	87,1 $\pm$ 17,6	58,1 $\pm$ 5,2 <sup>b</sup>
B (8)	1,4 $\pm$ 0,2	108,1 $\pm$ 18,8	75,7 $\pm$ 5,7 <sup>ab</sup>

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,01)

Las diferencias observadas en el d -4, en cuanto al área de cada CL, desaparecen el d 0 (P=0,1). Igualmente, se mantiene la homogeneidad en el área luteal por cabra (P=0,34) y el número de CL por cabra (P=0,94) (Tabla 8).

Tabla 8. Número de cuerpos lúteos (CL), área luteal por cabra y área luteal por CL (media  $\pm$  EE) en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria, 10 d después de ser tratadas con la primera administración de una dosis alta (A; 87,5  $\mu$ g), media (M; 43,75  $\mu$ g) o baja (B; 26,25  $\mu$ g) de cloprostenol. Día de la administración de la segunda dosis correspondiente de cloprostenol (d 0).

Grupo (n)	Número CL/cabra	Área luteal/cabra (mm <sup>2</sup> )	Área luteal/CL (mm <sup>2</sup> )
A (8)	1,9 $\pm$ 0,3	194,1 $\pm$ 20,4	103,5 $\pm$ 7,0
M (8)	1,9 $\pm$ 0,3	161,3 $\pm$ 20,4	86,0 $\pm$ 7,0
B (8)	2,0 $\pm$ 0,3	150,0 $\pm$ 23,5	81,8 $\pm$ 8,2

Se observó que el celo se presentó en el 100% de las hembras de los grupos A y M y en el 75% de las hembras pertenecientes al grupo B (P=0,3). No hubo diferencias significativas en el intervalo tratamiento – inicio del celo entre grupos (P=0,37), a pesar de observarse una diferencia numérica menor en el grupo que recibió la dosis mayor, y prolongándose ligeramente este valor, a medida que se reduce la dosis administrada. Se puede observar también que, en el caso del grupo A, la mayor proporción de los celos se presenta en el rango de 36-48 h posteriores a la segunda administración, mientras que en los grupos M y B, éstos se concentran en el rango de 48-60 h (Tabla 9).

Tabla 9. Tasa de sincronización de celos e intervalo tratamiento – inicio del celo en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria después de ser tratadas con dos administraciones de una dosis alta (A; 87,5  $\mu$ g), media (M; 43,75  $\mu$ g) o baja (B; 26,25  $\mu$ g) de cloprostenol, separadas por un periodo de 10 d.

Grupo (n)	% de sincronización del celo	Intervalo tratamiento – inicio de celo (media $\pm$ EE; h)	Rango de mayor concentración de los celos
A (8)	100 (8/8)	49,5 $\pm$ 3,0	36-48 h (62,5%)
M (8)	100 (8/8)	51,0 $\pm$ 3,0	48-60 h (50,0%)
B (8)	75 (6/8)	56,0 $\pm$ 3,5	48-60 h (66,7%)

En el estudio de los folículos preovulatorios (FP) generados luego de la segunda dosis de cloprostenol (d 0), se puede observar que el diámetro (mm) de los folículos preovulatorios, por grupo, aumentó a partir de ese día y hasta el d 3 (Figura 9).

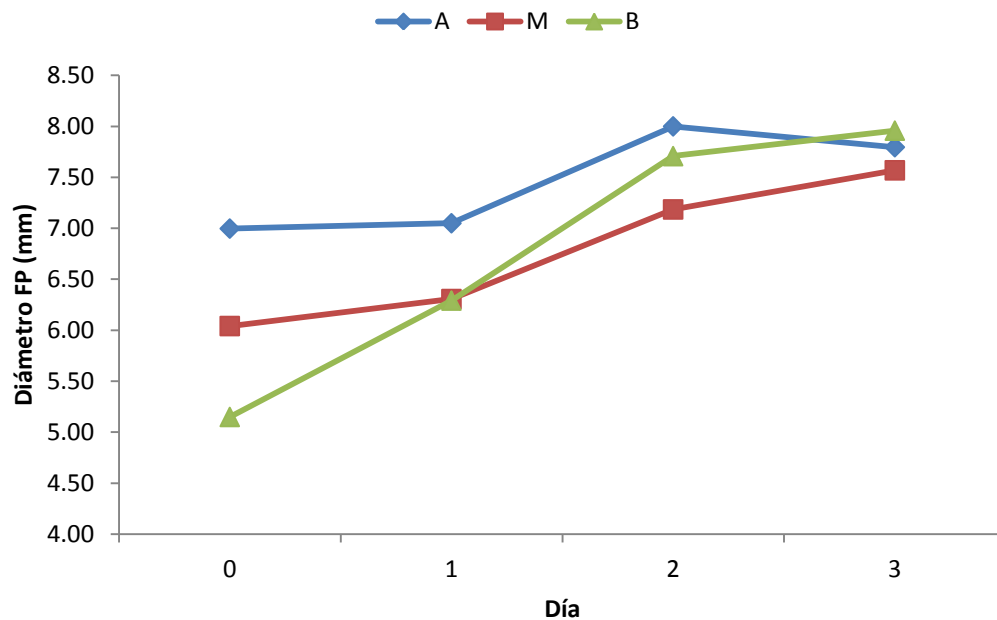


Figura 9. Crecimiento de los folículos preovulatorios durante los primeros 3 días posteriores a la administración de cloprostenol (d 0).

El crecimiento de los folículos preovulatorios, entre el d 1 previo al celo, y 1 d posterior al mismo, no mostró diferencias significativas entre los grupos ( $P=0,15$ ) (Figura 10). Por el contrario, la media del diámetro folicular presentó diferencias significativas ( $p<0,001$ ) entre los días, tal como era de esperar. Los menores valores se observaron los días -3, -2 y -1, con respecto al día del celo (d 0).

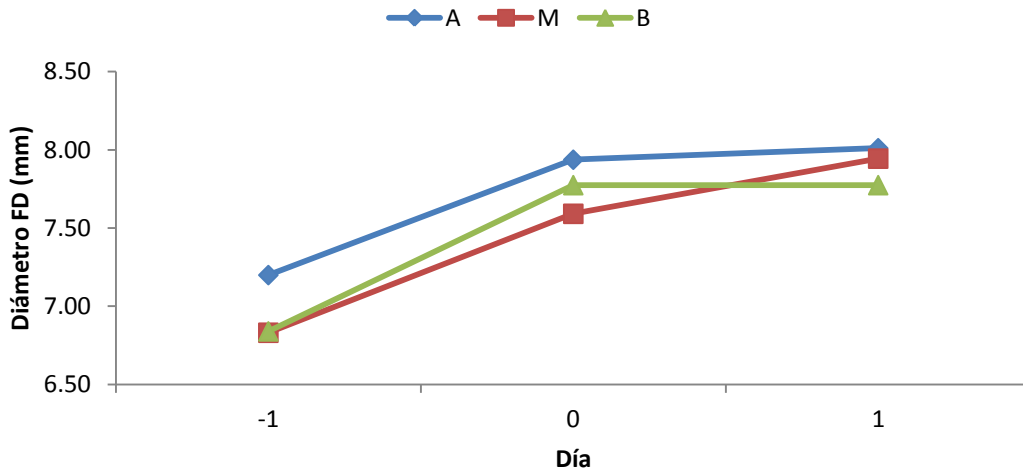


Figura 10. Crecimiento de los folículos preovulatorios ajustado al día del celo (d 0).

La tasa de crecimiento de los folículos preovulatorios entre la segunda dosis de cloprostenol y la aparición del celo no mostró diferencias significativas en cuanto a la dosis de cloprostenol usada ( $P=0,22$ ), obteniéndose valores positivos de  $0,7 \pm 0,3$  mm/d para el grupo A;  $1,2 \pm 0,3$  mm/d para el grupo M; y  $1,6 \pm 0,4$  mm/d para el grupo B (media  $\pm$  EE). Por otro lado, cabe destacar que los dos animales que no mostraron celos (grupo B), desarrollaron folículos anovulatorios,

Finalmente, la tasa de ovulación y los cuerpos lúteos generados a partir de ésta, fueron evaluados el d 11 posterior a la administración de la segunda dosis de cloprostenol. No se encontraron diferencias en cuanto al área luteal por cabra y el número de CL por cabra, con respecto a la dosis de cloprostenol utilizada ( $P=0,21$  y  $P=0,72$ ; respectivamente); sin embargo, el área luteal por CL fue significativamente mayor ( $P<0,05$ ) en el grupo que recibió la dosis media, y menor en el grupo que recibió la dosis baja (Tabla 10).

Tabla 10. Número de cuerpos lúteos (CL), área luteal por cabra y área luteal por CL (media  $\pm$  EE) en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria, 11 d después de la administración de la segunda dosis de cloprostenol, utilizando una dosis alta (A; 87,5  $\mu$ g), media (M; 43,75  $\mu$ g) o baja (B; 26,25  $\mu$ g) de cloprostenol.

Grupo (n)	Número CL/cabra	Área luteal/cabra (mm <sup>2</sup> )	Área luteal/CL (mm <sup>2</sup> )
A (8)	2,1 $\pm$ 0,3	215,3 $\pm$ 23,2	101,3 $\pm$ 6,8 <sup>ab</sup>
M (8)	1,9 $\pm$ 0,3	223,1 $\pm$ 23,2	119,0 $\pm$ 7,2 <sup>a</sup>
B (6)	1,8 $\pm$ 0,3	161,7 $\pm$ 26,8	88,2 $\pm$ 8,4 <sup>b</sup>

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

## 6. DISCUSIÓN

El estudio preliminar mostró que el crecimiento del tejido luteal, tanto para el área luteal por CL como para el área luteal total, presentó una fase temprana (d 3 – d 8) y una fase intermedia (d 8 – d 14), tal como lo reporta González-Bulnes *et al.* (2005a). Ambas fases muestran distintas tasas de crecimiento. El día del inicio de la regresión luteal coincide con los valores encontrados en la literatura (McCracken *et al.*, 1999). El porcentaje de CLs que presentaron cavidad coincide con los valores reportados por Simões *et al.* (2005; 2007) para cabras Serranas (67,9% vs. 65% y 78%, respectivamente). Este estudio permite estimar la edad de un CL observado mediante US al comparar su área con la gráfica de crecimiento luteal.

En el primer experimento se evidenció que con la reducción, a la mitad o a un tercio, de la dosis convencional de cloprostenol se obtuvo un resultado similar (100%) en cuanto a la capacidad luteolítica de dicha hormona. La eficacia de estas dosis reducidas se evidenció claramente el tercer día posterior a su administración, cuando no se observó presencia alguna de tejido luteal. Esta observación coincide con lo reportado por Khanum *et al.* (2006), quienes observaron la regresión de los CLs entre las 48 y 56 h posteriores a la administración de PGF<sub>2α</sub>. Asimismo, el porcentaje de luteolisis como respuesta a una sola administración de dicha hormona fue el esperado, siendo superior al reportado por otros autores, quienes usando análogos de prostaglandina (cloprostenol) o PG natural (dinoprost), lo ubican entre 50 y 64% (Ogunbiyi *et al.*, 1980; Ahmed *et al.*, 1998; Romano, 1998). Asimismo, la actividad luteolítica de cada una de estas dosis fue corroborada el d 7, cuando se observó que el tamaño de los CLs coincide con las dimensiones de CLs de 4 a 5 días de edad, tal como se observó en el ensayo preliminar.

El porcentaje de cabras que presentaron luteolisis, observado en el segundo experimento, luego de la administración de la primera dosis de cloprostenol fue superior al 80% y, paradójicamente, el mayor valor se observó en el grupo que recibió la menor dosis de la hormona. La ausencia de respuesta puede deberse a la presencia

de animales en fase luteal muy temprana, en la cual el CL no es capaz de responder a la acción de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  exógena, tal como se ha demostrado en ovejas, las cuales responden a la administración de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a partir del d 3,5 al 4 del ciclo estral (Pope y Cárdenas, 2004). Esto fue corroborado el día -7, cuando se detectó la presencia de tejido luteal únicamente en esos animales, coincidiendo el tamaño de cada CL, con la fase de crecimiento o inicial del desarrollo, luteal observado en el presente estudio.

El área de cada CL que emergió luego de la primera dosis (d -4), mostró diferencias significativas, siendo mayor en el grupo tratado con la dosis alta y menor en el grupo tratado con la mitad de la dosis; sin embargo, no hubo variación en cuanto al área luteal total y número de CLs por cabra. Este resultado podría deberse a los diferentes grados de madurez de los CLs que no respondieron a la dosis inicial, debido a que se encontraban en distintos momentos de la fase luteal, o bien, por un desarrollo defectuoso del folículo preovulatorio que lo precede (White *et al.*, 1987; Keisler y Keisler, 1989; Vázquez *et al.*, 2010). Las dimensiones obtenidas el d -4 coinciden con las dimensiones de los CL observados en nuestro ensayo preliminar, específicamente durante la etapa luteal inicial o temprana, lo cual refuerza que muy probablemente éstos se encontraban en fase de desarrollo o crecimiento. Por otro lado, estas diferencias de tamaño dejaron de ser significativas el d 0, lo que demuestra que ambos grupos poseían CL con desarrollo suficiente para responder a la segunda dosis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , tal como se observó en el presente estudio.

En relación a la efectividad en la sincronización de celos de cada una de las dosis, la menor dosis que demostró ser efectiva fue aquella empleada en el grupo tratado con la dosis intermedia. Estos resultados concuerdan con los reportados por varios autores (Ogunbiyi *et al.*, 1980; Mgongo, 1987; Torres Acosta *et al.*, 1996; Ahmed *et al.*, 1998; Romano, 1998; Amarantidis *et al.*, 2004), quienes observaron porcentajes de sincronización similares, independientemente de la dosis y vía de administración utilizada. Por el contrario, Mellado *et al.* (1994) reportan valores entre 55 y 68% de cabras sincronizadas al utilizar dosis altas de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  y cercanas al 25%, al utilizar dosis muy reducidas. Esto último, pudo ser posiblemente debido a la baja condición corporal

y al sistema de manejo de las cabras utilizadas en el ensayo, el cual fue de tipo extensivo, con alimentación deficiente y sin ningún tipo de suplementación.

Con relación a los animales que no presentaron celos, fue probablemente atribuido a fallas en el desarrollo folicular. A la evaluación ecográfica se observaron folículos anovulatorios, como consecuencia, posiblemente, de una menor secreción de LH, lo que detuvo la maduración de los folículos (Fatet *et al.*, 2011).

El intervalo entre la administración de la segunda dosis de PGF<sub>2α</sub> y la presentación de los celos no fue diferente estadísticamente entre grupos; sin embargo, puede observarse que, en el caso del grupo que recibió la dosis alta, el 62,5% de los celos se concentró entre las 36 y 48 h post tratamiento; mientras que en los grupos que recibieron las dosis reducidas, la mayor concentración de celos se produjo entre las 48 y 60 h post tratamiento. Los intervalos observados son similares a los reportados por varios autores (Torres Acosta *et al.*, 1996; Ahmed *et al.*, 1998; Romano, 1998; Amarantidis *et al.*, 2004), pero inferiores al reportado por Mgongo (1987) de 68 h. González-Stagnaro (1993) reúne datos de varios experimentos realizados en el trópico venezolano y reporta un intervalo de 1 a 5 días. El mayor valor numérico del diámetro de los folículos preovulatorios observado en el grupo A, el día de la segunda dosis de PGF<sub>2α</sub>, podría ser el responsable del inicio más temprano (aunque no significativo) del celo en ese grupo.

El crecimiento lineal de los folículos preovulatorios concuerda con lo reportado por González-Bulnes *et al.* (2005a), quienes observaron este tipo de crecimiento en los folículos de mayor tamaño, en cabras sincronizadas con cloprostenol durante la fase luteal temprana y tardía. El mayor diámetro obtenido de los folículos preovulatorios fue similar al reportado por Simões *et al.* (2006) de  $7,1 \pm 1,0$  mm en cabras Serranas españolas, quienes también reportaron que el diámetro de éstos fue significativamente mayor que el del folículo dominante de la última onda anovulatoria. Por el contrario, Tenório Filho *et al.* (2007) encontraron que en cabras Anglo-Nubian brasileras no se observan diferencias en cuanto al diámetro mayor del folículo dominante, en ondas



anovulatorias con respecto al folículo dominante en ondas ovulatorias. El diámetro del folículo preovulatorio fue de  $5,4 \pm 0,2$  mm en los ciclos con tres ondas foliculares y de  $5,3 \pm 0,1$  mm en ciclos con cuatro ondas foliculares, menor al reportado en este estudio, lo cual podría deberse al número de cabras empleadas en el ensayo (n=6).

Con relación al número de CLs generados tras la sincronización, la tasa de ovulación no presentó variaciones entre los tratamientos, coincidiendo con los datos reportados en los experimentos anteriores, lo que indica que ésta no se ve afectada por la sincronización del celo con prostaglandina sintética, en nuestro caso cloprostenol. Tanto el área luteal por CL como el área luteal por cabra, coinciden con las dimensiones de los CL obtenidas en el estudio preliminar.

## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En base a estos resultados, se puede concluir que un protocolo de sincronización del celo en cabras mestizas de la raza Agrupación Caprina Canaria, realizando dos administraciones de 43,74 µg de cloprostenol (dosis media), separadas por un periodo de 10 días demostró ser efectivo, no solo para inducir luteólisis en cabras sexualmente activas, sino que adicionalmente puede ser empleada en protocolos convencionales para la sincronización del celo, debido a su elevado % de respuesta observado en las cabras tratadas.

El presente estudio demuestra la capacidad que tiene esta dosis para inducir un desarrollo normal de los folículos preovulatorios y la generación de CLs viables. Esto podría traer consecuencias positivas sobre la eficiencia del uso de esta hormona, específicamente cuando se habla en términos de fertilidad.

Es importante destacar que la reducción de un tercio o 50% de la dosis de cloprostenol a utilizar en un protocolo de sincronización del celo, permite un mejor aprovechamiento del fármaco, duplicando el número de cabras tratadas con la misma cantidad del producto. Este factor es de importante consideración en nuestro país, dadas las difíciles condiciones existentes para la adquisición de fármacos de origen importado.

Futuros estudios de esta línea de investigación deben continuar con la evaluación de la fertilidad de cabras sincronizadas con este protocolo y servidas mediante IA.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, M.M., S.E. Makawi y A.S. Jubara. 1998. Synchronization of oestrus in Nubian goats. *Small Ruminant Research* 30: 113-120.
- Álvarez Ramírez, L. y L.A. Zarco Quintero. 2001. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Veterinaria México* 32: 117-129.
- Amarantidis, I., A. Karagiannidis, Ph. Saratsis y P. Brikas. 2004. Efficiency of methods used for estrous synchronization in indigenous Greek goats. *Small Ruminant Research* 52: 247-252.
- Arosh, J.A., S.K. Banu, P. Chapdelaine, E. Madore, J. Sirois y M.A. Fortier. 2004. Prostaglandin Biosynthesis, Transport, and Signaling in Corpus Luteum: A Basis for Autoregulation of Luteal Function. *Endocrinology* 145: 2551–2560.
- Bartlewski, P.M., A. P. Beard y N. C. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52: 115-130.
- Blanchard, N. 2001. Avances de la explotación caprina en Venezuela y pertinencia de su desarrollo. *Memorias del III Congreso Nacional y I Congreso Internacional de Ovinos y Caprinos*: 25-34.
- Buckrell, B.C. 1988. Applications of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. *Theriogenology* 29: 71-84.
- Cerbito, W.A., N. G. Natural, F. B. Aglibut y K. Sato. 1995. Evidence of ovulation in goats (*Capra hircus*) with short estrous cycle and its occurrence in the tropics. *Theriogenology* 43: 803-812.
- Chemineau, P., B. Malpoux, J.A. Delgadillo, Y. Guérin, J.P. Ravault, J. Thimonier y J. Pelletier. 1992. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science* 30: 157-184.
- Colazo, M.G., M.F. Martínez, J.P. Kastelic y R.J. Mapletoft. 2002. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. *Animal Reproduction Science*, 72: 47-62.
- Contreras Solís, I. 2008. Protocolo corto de sincronización del celo, mediante la aplicación de cloprostenol y el uso del “efecto macho”, en ovejas West African en

- condiciones tropicales (10° N). Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria. 152 pp.
- Contreras-Solís, I., T. Díaz, G. López, A. Caigua, H. García, A. Salvador y A. González-Bulnes. 2007a. Evaluación de la técnica de ecografía transrectal en la detección de folículos ováricos en ovejas tropicales. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 15: 10-14.
- Contreras-Solís, I., T. Díaz, G. López, A. Caigua, H. García, A. Salvador y A. González-Bulnes. 2007b. Evaluación de la ecografía transrectal para la detección y medición de cuerpos lúteos en ovejas de pelo. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 15: 114-118.
- Contreras-Solis, I., B. Vásquez, T. Díaz, C. Letelier, A. López-Sebastian y A. Gonzalez-Bulnes. 2009. Ovarian and endocrine responses in tropical sheep treated with reduced doses of cloprostenol. *Animal Reproduction Science* 114: 384-392.
- Cooke, R.G., N. Ahmad y T. Nicholson. 1998. Effect of progesterone and estradiol-17 $\beta$  on oxytocin-induced PGF $2\alpha$  release and endometrial oxytocin receptor concentrations in ovariectomized goats. *Prostaglandins* 55: 109-120.
- Davis J.S. y B.R. Rueda. 2002. The corpus luteum: an ovarian structure with maternal instincts and suicidal tendencies. *Frontiers in Bioscience* 7: 1949-1978.
- De Santiago-Miramontes, M.A., B. Malpoux 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.
- Delpino, A. y C. González-Stagnaro. 1993. Evaluación del comportamiento reproductivo en pequeños rumiantes tropicales utilizando los perfiles de progesterona. *Revista científica FCV-LUZ, III*: 231-247.
- Dickson, L.C. y J.A. Salas. 2004. Factores ambientales relacionados con la presentación de estros en cabras bajo estabulación en un clima tropical seco. *Gaceta de Ciencias Veterinarias* 9.
- Driancourt, M.A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55: 1211-1239.
- Echeverría, J. 2006. Endocrinología reproductiva: Prostaglandina F $2$  en vacas. *Revisión bibliografía. Revista Electrónica de Veterinaria* 7

- Escobar Medina, F. J. 2003. Estacionalidad reproductiva de la cabra. Jornadas de Investigación, Universidad Autónoma de Zacatecas. Coordinación de Investigación y Posgrado, Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México.
- Fatet, A., M.T. Pellicer-Rubio y B. Leboeuf. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science* 124: 211-219.
- Fonseca, J.F., J.H. Bruschi, F.N. Zambrini, E. Demczuk, J.H.M. Viana y M.P. Palhão. 2005a. Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. *Animal Reproduction* 2: 50-53.
- Fonseca, J.F., C.A.A. Torres, E.P. Costa, V.V. Maffili, G.R. Carvalho, N.G. Alves y M.A. Rubert. 2005b. Progesterone profile and reproductive performance of estrous-induced Alpine goats given hCG five days after breeding. *Animal Reproduction* 2: 54-59.
- Freitas, V.J., D. Rondina, E.S. Lopes Jr, D.I. Teixeira y N.R. Paula. 2004. Hormonal treatments for the synchronization of oestrus in dairy goats raised in the tropics. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 415-420.
- González F., M. Batista y A. Gracia. 1994. Evolución de la población de folículos visibles durante la fase folicular en la cabra de la Agrupación Caprina Canaria. *Actas VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal*. Murcia. 312.
- González de Bulnes, A., J. Santiago Moreno, A. Gómez Brunet y A. López Sebastián. 2000. Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrus cycle in monovular ewes. *Reproduction in Domestic Animals* 35: 65-68.
- González-Bulnes, A., C. Díaz-Delfa, R.M. Garcia-Garcia, B. Urrutia, J.A. Carrizosa y A. Lopez-Sebastian. 2005a. Origin and fate of preovulatory follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the oestrous cycle in goats. *Animal Reproduction Science* 86: 237–245.
- González-Bulnes, A., A. Veiga-Lopez, P. Garcia, R.M. Garcia-Garcia, C. Ariznavarreta, M.A. Sanchez, J.A.F. Tresguerres, M.J. Cocero y J.M. Flores. 2005b. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology* 63: 2523–2534

- González-Stagnaro, C. 1993. Control del ciclo estrual en ovejas y cabras en el medio tropical. *Revista Científica FCV-LUZ*, III: 211-230.
- González-Stagnaro, C. y N. Madrid-Bury. 1993. Ciclo estrual y momento de ovulación en cabras criollas. *Revista científica FCV-LUZ*, III: 99-111.
- Goodman, R.L. y E.K. Inskeep. 2006. Neuroendocrine Control of the Ovarian Cycle of the Sheep. En: Jimmy D. Neill (Ed.) *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3ra edición, Elsevier. 2389-2447.
- Gordon, I. 2004. Controlled reproduction in sheep and goats. *Controlled Reproduction in Farm Animals Series*, vol 2. CAB International. Londres, Inglaterra. 450pp.
- Ishwar, A.K. y J. N. Pandey. 1990. Estrus synchronization and fertility behavior in Black Bengal goats following either Progesterone or prostaglandin treatment. *Theriogenology* 34: 1015-1024.
- 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.
- Keisler, D.H. y L.W. Keisler. 1989. Formation and function of GnRH induced subnormal corpora lutea in cyclic ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 267-273.
- Khanum, S.A., M. Hussain y R. Kausar. 2006. Manipulation of estrous cycle in Dwarf goat (*Capra hircus*) using estrumate under different management conditions. *Animal Reproduction Science* 92: 97-106.
- Landau S. y G. Molle. 1997. Nutrition effects on fertility in small ruminants with an emphasis on Mediterranean sheep breeding systems. En: Lindberg J.E. (ed.), Gonda H.L. (ed.), Ledin I. (ed.). *Recent advances in small ruminant nutrition*. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ: 203-216.
- López Sebastián, A. 2009. Control del ciclo sexual en pequeños rumiantes I. *Compendio de conferencias XXXII Curso Internacional de Reproducción Animal*. Madrid. 377-402.
- Mani, A.U., W.A.C. McKelvey y E.D. Watson. 1996. Effect of undernutrition on gonadotrophin profiles in non-pregnant, cycling goats. *Animal Reproduction Science* 43: 25-33.

- Martin-Jiménez, T. y M.G. Papich. 2002. Prostaglandinas y antiinflamatorios no esteroideos. En: Botana, L.M., F. Landoni y T. Martín-Jiménez. Farmacología y terapéutica veterinaria. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U. España. 350-374.
- Martínez Rojero, R.D., A.A. Mastache Lagunas, L.R. Santamaría y J. Valencia Méndez. 2005. Comportamiento reproductivo de tres razas caprinas bajo condiciones de trópico seco en Guerrero, México. *Veterinaria México* 36: 147-157.
- McCracken, J.A., E.E. Custer y J.C. Lamsa. 1999. Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event. *Physiological Reviews* 79: 263-323.
- Medan, M.S. y A.M. Abd El-Aty. 2010 Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction. *Journal of Advanced Research* 1: 123-128.
- Mellado, M., R.H. Foote y A. Gomez. 1991. Reproductive efficiency of Nubian goats throughout the year in northern Mexico. *Small Ruminant Research* 6: 151-157.
- Mellado, M., R. Alemán, F.J. Orozco y G. Uribe. 1994. Effect of prostaglandin F<sub>2α</sub> dosage and route of administration on estrus response in Criollo goats under range conditions. *Small Ruminant Research* 14: 205-208.
- Menchaca, A. y E. Rubianes. 2002. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology* 57: 1411-1419.
- Mgongo, F.O.K. 1987. Doses of Prostaglandin analogue "Cloprostenol" by intravulvo-submucosal (IVSM) injections effective for the induction of oestrus in goats. *Animal Reproduction Science* 14: 139-146.
- Ogunbiyi, P.O., E.C.I. Molokwu y T. Sooriyaamoorthy. 1980. Estrus synchronization and controlled breeding in goats using prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Theriogenology* 13: 257-261.
- Pierson, R.A. y O.J. Ginther. 1987. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology* 28: 929-936.
- Pope, W.F. y H. Cárdenas. 2004. Sensitivity of sheep to exogenous prostaglandin F<sub>2α</sub> early in the estrous cycle. *Small Ruminant Research* 55: 245–248.

- Reiter, R.J., D.X. Tan, L.C. Manchester, S.D. Paredes, J.C. Mayo y R.M. Sainz. 2009. Melatonin and Reproduction Revisited. *Biology of Reproduction* 81, 445–456.
- Romano, J.E. 1998. Effect of two doses of cloprostenol in two schemes for estrous synchronization in Nubian goats. *Small Ruminant Research* 28: 171-176.
- Rubianes, E. y A. Menchaca. 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science* 78: 271–287.
- Ruiz, R., J.L. Fernández, A.C. de la Vega y A.E. Rabasa. 2002. Evaluación de diferentes tratamientos hormonales para la sincronización del estro en cabras criollas serranas durante el verano. *Zootecnia Tropical* 20: 473-482.
- Sangha, G.K., R.K. Sharma y S.S. Guraya. 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research* 43: 53-64.
- Schneider, J.E. 2004. Energy balance and reproduction. *Physiology & Behavior* 81: 289-317.
- Silvia, W.J., G.S. Lewis, J.A. McCracken, W.W. Thatcher y L. Wilson. 1991. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F<sub>2</sub> alpha during luteolysis in ruminants. *Biology of Reproduction* 45: 655-663.
- Simões, J., J. Potes, J. Azevedo, J.C. Almeida, P. Fontes, G. Baril y R. Mascarenhas. 2005. Morphometry of ovarian structures by transrectal ultrasonography in Serrana goats. *Animal Reproduction Science* 85: 263–273.
- Simões, J., J.C. Almeida, R. Valentim, G. Baril, J. Azevedo, P. Fontes y R. Mascarenhas. 2006. Follicular dynamics in Serrana goats. *Animal Reproduction Science* 95: 16–26.
- Simões, J., J.C. Almeida, G. Baril, J. Azevedo, P. Fontes y R. Mascarenhas 2007. Assessment of luteal function by ultrasonographic appearance and measurement of corpora lutea in goats. *Animal Reproduction Science* 97: 36-46.
- Sorensen, A.M. 1982. *Reproducción Animal, principios y prácticas*. McGraw-Hill, México. 539 pp.
- Steel, R.G.D. y J.H. Torrie. 1987. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 2da Ed. McGraw-Hill Book Co., Londres.



- Stouffer, R.L. 2006. Structure, Function, and Regulation of the Corpus Luteum. En: Jimmy D. Neill (Ed.) *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3ra edición, Elsevier. 475-526.
- Tenório Filho, F., M.H.B. Santos, P.G. Carrazzoni, F.F. Paula-Lopes, J.P. Neves, C.C. Bartolomeu, P.F. Lima y M.A.L. Oliveira. 2007. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. *Small Ruminant Research* 72: 51–56.
- Torres Acosta, J.F., R.C. Montes Pérez y J.M. Loría Méndez. 1996. Sincronización de estros en cabras criollas utilizando dosis reducidas de prostaglandina F2 alfa. *Veterinaria México* 27: 133-136.
- Statistix 8 User Guide for the Plant Materials Program. 2007. United States Department of Agriculture (USDA) y Natural Resources Conservation Service (NRCS). 75 pp.
- Vázquez, M.I., M.S. Blanch, G.A. Alanis, M.A. Chaves y A. González-Bulnes. 2010. Effects of treatment with a prostaglandin analogue on developmental dynamics and functionality of induced corpora lutea in goats. *Animal Reproduction Science* 118: 42–47.
- Veronesi, M.C., G. Gabai, M. Battocchio, A. Mollo, F. Soldano, G. Bono y F. Cairoli. 2002. Ultrasonographic appearance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in dairy cows. *Theriogenology* 58: 61-68.
- Villaquiran, M., T. A. Gipson, R. C. Merkel, A. L. Goetsch y T. Sahlu. 2004. Body Condition Scores in Goats. *Enhanced Goat Production Systems for the Southern United States*. American Institute for Goat Research, Agriculture Research & Cooperative Extension, Langston University. Langston, Oklahoma, EE.UU. 8 pp.
- Viñoles, C., A. Meikle y M. Forsberg. 2004. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. *Animal Reproduction Science* 80: 69–79.
- Walters, E.M. 2007. *Comparative Reproductive Physiology of Domestic Animals*. En: Schatten, H. y G.M. Constantinescu. *Comparative Reproductive Biology*. Iowa, EE.UU. Blackwell Publishing. 117-132.
- White, L.M., D.H. Keisler, R.A. Dailey y E.K. Inskeep. 1987. Characterization of ovine follicles destined to form subfunctional corpora lutea. *Journal of Animal Science* 65: 1595–1601.