



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"FENOMENO DE ARBORIZACION EN MUESTRAS
SALIVALES COMO INDICADOR DE ESTRO
EN OVINOS"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
MA. MAGDALENA CUBILLAS DOMINGUEZ

ASESORES: MVZ ALBERTO BALCAZAR SANCHEZ
MVZ LORENA CHAVEZ GUITRON



MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE CRICEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

CUBILLAS DOMINGUEZ MA. MAGDALENA: Fenómeno de Arborización en muestras salivales como indicador de estro en ovinos. Bajo la supervisión de ALBERTO BALCAZAR SANCHEZ y LORENA CHAVEZ GUITRON.

En este trabajo se evaluó el uso de muestras salivales como una prueba de diagnóstico para saber la etapa del ciclo estral en la que se encuentra alguna hembra en particular, para hacer más eficiente el manejo reproductivo de los ovinos. Donde se observa que la forma y patrón de aparición es distinta a la de las demás especies y que no existe diferencia significativa en la distribución del fenómeno en días determinados del ciclo ($P > 0.05$) ni en las distintas etapas de este ($P = 0.554$). Así mismo al comparar el comportamiento del fenómeno entre animales ciclando y animales en anestro, no existió diferencia significativa, pero al comparar los dos últimos muestreos se encontró una diferencia altamente significativa ($P = 0.001$) entre ellos aunque esto no parece relacionarse con aspectos reproductivos.

INDICE

| | PAGINA |
|-------------------------|--------|
| INTRODUCCION..... | 1 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 7 |
| RESULTADOS..... | 11 |
| DISCUSION..... | 15 |
| LITERATURA CITADA..... | 22 |
| FIGURA 1..... | 26 |
| FIGURA 2..... | 27 |
| FIGURA 3..... | 28 |
| CUADRO 1..... | 29 |
| CUADRO 2..... | 30 |
| CUADRO 3..... | 31 |
| CUADRO 4..... | 32 |
| CUADRO 5..... | 33 |
| CUADRO 6..... | 34 |
| CUADRO 7..... | 35 |
| CUADRO 8..... | 36 |
| CUADRO 9..... | 37 |

INTRODUCCION

El ciclo estral del ovino se clasifica como poliéstrico estacional, por la particularidad de presentar varios celos durante una época reproductiva determinada (15). Esta actividad se ve influenciada por diversos factores como fotoperiodo, latitud geográfica, nutrición, época de nacimiento y otros (7,12,15).

Se observan comúnmente en esta especie al inicio de la época reproductiva y al llegar a la pubertad fallas en la manifestación conductual del celo (7,8), aun cuando se haya formado un folículo y éste fuera ovulado (17). Dicha falta de conducta estral durante la primera ovulación se debe a que el hipotálamo no está presensibilizado con progesterona proveniente de un ciclo previo, la cual es necesaria para que pueda responder al efecto de los estrógenos (15). Estas ovulaciones sin manifestación externa de celo son llamadas en general "ovulaciones silenciosas" (8).

En ocasiones se presenta una disminución en la intensidad de los signos de estro, e incluso hay ausencia de comportamiento estral en plena época reproductiva, lo cual al parecer está influenciado por la raza, factores nutricionales y ambientales. Por ejemplo, el estrés por calor ocasiona un decremento en la libido y expresión estral, lo cual ha sido mal interpretado al explicarse como una interrupción en los ciclos normales (15, 17,21).

Debido a estas características, es necesario evaluar métodos para detectar la actividad ovárica especialmente el estro, de manera eficaz y confiable en esta especie.

A esto se agrega que el celo de la oveja a veces no es muy notorio, ya que algunas de las manifestaciones conductuales que son evidentes en otras especies, como el comportamiento homosexual de la vaca, están ausentes en los ovinos (14). Además, otros signos como la edematización de la vulva y la secreción de moco por vagina son poco evidentes o no muy notorios en la oveja. Por lo tanto, los métodos de detección de estros en esta especie no se deben basar en los signos antes mencionados.

Tradicionalmente, la detección de calores se ha hecho mediante la utilización de animales celadores en sus diversas variantes : machos vasectomizados, epididimectomizados, penectomizados, desviados del pene, machos enteros con mandil y hembras androgenizadas. Sin embargo, todos estos métodos tienen algunos inconvenientes (6). Los machos tratados quirúrgicamente tienen la desventaja del costo del tratamiento y de la intervención en sí. En cuanto a los machos con pene desviado, pueden llegar a encontrar la posición adecuada y realizar la cópula. También se indica que el animal llega a perder interés sexual al no encontrar la satisfacción de la monta.

El empleo de mandil es un método práctico y económico porque se puede usar cualquier tipo de tela, siempre y cuando no sea demasiado áspera (6) . El inconveniente es que el mandil puede llegar a zafarse, entonces el macho monta a la hembra sin ninguna dificultad. En cuanto al periodo de vida reproductiva

Útil de estos carneros, puede decirse que manteniéndolos en buenas condiciones sanitarias y nutricionales, se pueden mostrar activos reproductivamente durante varios años (6).

En el caso de las hembras androgenizadas, el posible problema es el costo del tratamiento hormonal y de manejo, aunque pueden obtenerse a cambio ventajas, como la eliminación del riesgo de cruza indeseables y la posible transmisión de enfermedades venéreas.

La utilización de animales celadores implica costos de tratamiento, mantenimiento y cuidados. Adicionalmente, ningún tipo de animal celador es capaz de detectar el estro en hembras cuyo sistema nervioso central no responda a la acción de los estrógenos. Por tal razón, conviene evaluar técnicas prácticas de bajo costo que no requieran de animales celadores ni se basen en la conducta de la hembra. Una de ellas podría ser el empleo de las muestras salivales, partiendo de la presentación del fenómeno de arborización en éstas.

Este fenómeno fue descrito por primera vez en mujeres, en 1946, en pruebas de Papanicolao (2), en las cuales se observó que, al colocar muestras de moco cervicovaginal, ser esparcidas en un portaobjetos y dejándose secar a temperatura ambiente, éstas tendían a sedimentar y formar cristalizaciones que al ser observadas al microscopio recordaban hojas de una planta de helecho. Estas arborizaciones varían en cantidad y grosor según el periodo del ciclo en que se encuentre la mujer o las hembras domésticas y se ha comprobado que la mayor arborización se presenta en la etapa folicular del ciclo estral (1,2,4,16).

Raydberg citado por Abuseina et al (2) investigó que el moco cervical y la saliva humana tienen una composición tal que contienen dos moléculas de clorato de sodio y mucina. Así mismo Vuyst, Henriët, Vervack, Arnold y Belle, establecen que la formación de cristales en forma de helechos están influenciados por los niveles estrogénicos, y que se forman cuando el moco tiene mucoproteínas, cloratos de calcio y sodio o cuando hay un incremento de agua (2). Además, en trabajos realizados por Aboul et al (1), se encontró una correlación positiva entre los valores de helechos y las concentraciones de Cl y Na.

Estudios sobre la fisiología de los estrógenos circulantes en sangre, revelan que aunque más de 95% de éstos se encuentran unidos a proteínas, y que estas moléculas son eficientemente retirados de la circulación sanguínea para su destrucción en el hígado, el pequeño porcentaje restante, fisiológicamente libre, se difunde con cierta facilidad a todos los líquidos secretados intercelularmente, como la saliva (9).

Por otro lado las células del acín de las glándulas salivales secretan una solución primaria que contiene K, Cl, HCO₃, provenientes de la sangre en el caso de los dos primeros, y en parte del metabolismo celular y sangre en el caso del bicarbonato (5).

Esta solución primaria es modificada por cambios en la composición de la sangre al pasar ésta a lo largo de los túbulos, como resultado de la difusión pasiva y de la secreción activa de las células. Los cambios más importantes son producidos

activa de las células .Los cambios más importantes son producidos por procesos que pueden hacer que el K y Na se muevan en ambas direcciones a través de los túbulos (es decir, de las células a la sangre y viceversa). La sangre corre primero por los túbulos, donde tienen lugar ciertos intercambios; luego pasa a las células acinosas, donde se extraen los elementos para la solución primaria (5).

Los estrógenos tienen la capacidad de modificar el flujo de iones y sales a través de la membrana de diferentes células, lo que podría explicar los diferentes patrones de arborización presentes en diversas etapas de ciclo menstrual (20).

Según Betteridge et al, este fenómeno de arborización ha sido descrito en vacas por Alliston et al. , en borregos por Raeside y McDonald y en cerdos por Campos de Paz con Dacosta Lima. Dichos investigadores realizaron sus trabajos en muestras de moco cervicovaginal (4).

El ovino es la especie que tiene la saliva más alcalina, ya que es rica en bicarbonato sódico (13). Su capacidad amortiguadora se debe a su rico contenido de iones de Na y K .Su valor nutricional para los microorganismos ruminales se atribuye al alto contenido de mucina, urea, P, Mg y Cl, que se encuentran en cantidades relativamente elevadas (11). La secreción parotídea del ovino es un líquido isotónico con respecto al plasma . En diferentes investigaciones, se ha observado que las concentraciones de Na y K son prácticamente las mismas que las correspondientes al suero, en tanto que las del bicarbonato y fosfato son 4 a 15 veces más elevadas (13).

En el Depto. de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, se han realizado trabajos donde se observó en caninos y equinos una arborización salival parecida a la del moco cervico vaginal, la cual cambia según la etapa del ciclo estral en la que se encuentran las perras y las yeguas (9).

No existen trabajos que evalúen si en ovinos el patrón de arborización salival es afectado por la etapa reproductiva en que se encuentre el animal.

Los objetivos contemplados en este trabajo fueron, describir el fenómeno de arborización presente en la saliva de ovinos durante el ciclo estral. Y determinar si el fenómeno de arborización salival indica la función ovárica, o si se relaciona de alguna manera con el estado endocrino de las hembras ovinas, además de evaluar su uso como una técnica alterna para la detección o predicción del estro.

MATERIAL Y METODOS

La fase experimental de este trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes (CEPIER), localizado en Topilejo, México D.F. a 19 ° latitud norte y 99 ° latitud oeste, a 2760 msnm, en una región donde predomina el clima semi-frío sub-húmedo con temperatura media de 10 C y pp de 800-1200 mm de Hg.

Se realizaron tres muestreos, uno en época reproductiva (octubre - noviembre) y dos más en época no reproductiva, marzo , abril y mayo.

El primer muestreo se realizó en plena época reproductiva para que los ciclos fueran regulares. Se utilizaron 45 ovejas adultas multíparas encastadas con Pelibuey y Suffolk, a las que se les tomó una muestra salival al día. Durante los primeros ocho días se muestreó a todas las borregas y a partir de detectado el estro con macho celador, se procedió a obtener muestras en los días 1, 2, 3, 8, 10, 14, 15, 16 y 17 del ciclo, tomándose como día 1 el primer día de celo.

El recelaje se realizó utilizando dos machos enteros con mandil de manera alterna para evitar su agotamiento. En todos los casos, la detección de estros se realizó antes de obtener las muestras de saliva.

Las muestras de saliva se tomaron de entre los carrillos, con una bombilla de succión de uso dental en medicina humana. Se observó que el mejor momento para tomar la muestra, fue cuando los animales se encontraban alertas o realizando alguna actividad

observó que el mejor momento para tomar la muestra, fue cuando los animales se encontraban alertas o realizando alguna actividad que no les permitiera estar rumiando, lo que coincidió con el momento en que se servía el alimento.

Una vez tomada la muestra, era colocada en un portaobjetos teniendo cuidado de que quedara al centro de éste. Los portaobjetos fueron identificados con la fecha y el número correspondiente de la borrega.

Ya colocadas las muestras se dejaban en charolas para que se secaran, evitando transportarlas o moverlas mientras no se hubiesen secado, pues por su naturaleza mucosa fácilmente se desplazan y se pierden.

Una vez secas, las muestras se observaron al microscopio con el objetivo de 10 x.

Las arborescencias se buscaron a las orillas del portaobjetos ya que tienden a concentrarse ahí, posiblemente por la característica mucosa de la saliva.

Originalmente, se propuso tomar la clasificación hecha para ganado bovino por Abuseina (2), pero se encontró inadecuada, ya que tales informes se refieren a arborescencias en forma de helecho y las encontradas en las muestras salivales de ovinos son formas redondas totalmente distintas a las descritas por los demás autores, por lo que se clasificaron de acuerdo con lo que fue encontrado en éstas, usando la siguiente clasificación.

TIPO 1 Todas las formas redondas independientemente de su tamaño o grosor.

TIPO 2 Las formas ramificadas, delgadas de diferente disposición.

TIPO 3 Formas ramificadas pero de gran grosor y de apariencia burda.

TIPO 4 Formas poco definidas de disposición lineal y apariencia hialina.

Durante todo el tiempo que se realizó el muestreo de saliva, también se realizó un seguimiento de las concentraciones plasmáticas de progesterona, para lo cual se sangró a las borregas 2 veces a la semana por punción yugular utilizando tubos heparinizados. Se obtuvo el plasma por centrifugación separándose y manteniéndose a - 20 °C hasta que se procesó por el método de radioinmunoanálisis en fase sólida, para la determinación de progesterona (19).

Se trató de relacionar la presencia de las arborescencias y su tipo con las diferentes etapas del ciclo estral (3,10).

Se inició un segundo muestreo el 16 de marzo esperando que la época reproductiva hubiese terminado, y que las borregas se encontraran en anestro estacional (18) . Se procedió a muestrear diariamente durante 17 días y a sangrar una vez por semana de la misma manera que en el primer muestreo. En esta ocasión se utilizaron 30 animales encastados con Pelibuey y Suffolk, pero al analizar las muestras de plasma se observó que algunos animales se encontraban ciclando, por lo que la información de este muestreo se analizó por separado para animales en anestro y animales ciclando.

Por último se llevó a cabo un tercer muestreo, después de haber comprobado que por más de una semana no se presentaron calores en los animales experimentales. En el tercer muestreo se utilizaron 55 ovejas encastadas con Pelibuey y Suffolk, las cuales se muestrearon durante 19 días continuos, sangrándose cada 7 días para vigilar el estado endócrino de las ovejas.

Los análisis estadísticos empleados para evaluar los resultados de este trabajo fue ji - cuadrada y estadística descriptiva.

RESULTADOS

A lo largo de la observación de las muestras de saliva, se lograron identificar formas nuevas diferentes a las descritas en la literatura. Existe gran variedad de formas y combinaciones, que se pueden englobar en 4 grandes grupos.

El tipo 1 fue la forma de mayor frecuencia de presentación y variabilidad en cuanto a grosor y tamaño. Se puede describir como precipitaciones en forma de coliflor o roseta de maíz de variable grosor y definición. Se distinguen en general tres tamaños relacionados con el grosor y cantidad total de arborizaciones en la laminilla. Las arborizaciones más pequeñas eran invariablemente las más abundantes cubrían el 100% del campo de observación y se encontraban en cualquier parte de la laminilla. Seguía una forma de tamaño intermedio, la cual presentaba bordes más delineados o marcados, de mayor o menor grosor, presentes en cantidad regular cubriendo aproximadamente un 70 % del campo, encontrándose más hacia los extremos de la muestras aunque llegaban a encontrarse al centro de la misma. Existió otro tipo muy parecido al anterior pero que se condensaba en conjuntos de arborizaciones, dando aspecto de racimos, estos sólo se encontraban en la periferia de la muestra. Por último, la forma más delgada y estilizada era invariablemente la menos abundante, cubriendo de un 20 a un 30 % del campo, encontrándose en cualquier parte de la laminilla.

En el tipo 2 se agruparon formas que recuerdan las ramas de un árbol o arbusto de diferente disposición y grosor.

El tipo 3 se observó como estructuras también en forma de ramas, pero con gran precipitación de sales y material diverso, de forma poco estilizada o burda. Ambos tipos generalmente abarcaban todo el campo y podían localizarse en cualquier parte de la laminilla.

El tipo 4 se describe como un cristal poco definido con aspecto hialino, que a veces presentaba la disposición de helechos o formas rectas. La cantidad era mínima, cubriendo aproximadamente 10 % del campo, la frecuencia de presentación también era escasa.

Además existieron combinaciones entre los distintos tipos, siendo en orden de frecuencia las combinaciones más comunes el tipo 1 con 2, el 2 con 3 y rara vez el 3 con 1. En algunos casos se encontraron todos los tipos a la vez (5 tipos variados). En la Figura 1 pueden observarse ejemplos representativos de los diferentes grupos, mientras que en la Figura 2 se muestran combinaciones.

De los 45 animales utilizados en el primer muestreo sólo 30 alcanzaron a presentar dos celos, una oveja no manifestó comportamiento estral, pero conforme a las lecturas de progesterona, hubo formación de cuerpo lúteo por lo menos en dos ocasiones. Por último 14 animales solo alcanzaron a presentar un solo celo.

El macho celador detectó 83 celos en total, de los cuales 76 coincidían con niveles de P4 de menos de 1 ng /ml lo que habla de una precisión del 91.56 %. Los celos variaron de uno a tres días de duración, siendo el 10.52 % de tres días, 31.57 % de dos días

y el 57.89 % de uno.

En la Figura 3 se muestra la distribución de frecuencias de los diferentes tipos de arborescencias durante el estro. Donda a pesar de dominar el tipo 1, se puede encontrar cualquier otro tipo (1,2,3 o 4).

Al comparar las frecuencias de cada tipo de arborización en los diversos días del ciclo, no se encontro diferencia significativa entre los distintos días de este ($P = 0.554$), por lo que la distribución de los distintos tipos fue constante durante todo el ciclo (Cuadro 1).

En el Cuadro 2 se observa que al agrupar las muestras según la etapa específica del ciclo en la que realizó el muestreo (proestro, estro, metaestro o diestro), tampoco se encontró que algún tipo fuera representativo de una etapa determinada, ya que no se encontraron diferencias significativas entre etapas ($P > 0.05$).

Si se observa el comportamiento global del fenómeno de arborización durante el primer muestreo (época reproductiva), se identifica una dominancia del tipo 1, así como un número elevado de muestras negativas (-) y muestras con sólo trazas de cristales (T) (Cuadro 3).

Para comprobar si el fenómeno de arborización indica actividad ovárica se realizó un segundo muestreo, en época teóricamente de anestro, pero sólo 19 de los 30 animales entraron en anestro, mientras que los 11 restantes seguían ciclando. En este muestreo se observó una completa dominancia del tipo 1 (81.27 %) sobre los demás tipos. No se encontró diferencia significativa entre los patrones de arborización de ovejas

significativa entre los patrones de arborización de ovejas cíclicas y de ovejas en anestro (Cuadro 4).

En el tercer muestreo 28 ovejas estaban ciclando y 29 se encontraban en anestro (Cuadro 5). Se observó un comportamiento muy parecido al del segundo muestreo, donde siguió el predominio del tipo 1, un incremento en el número y porcentaje de muestras traza, sobre todo en el grupo que seguía ciclando , así como un ligero aumento de muestras negativas (-).

Se comparó el comportamiento del fenómeno entre los animales ciclando, tanto en el segundo como en el tercer muestreo, con los que se encontraban en anestro, sin diferencia significativa (Cuadro 6).

Se encontró una diferencia altamente significativa en la distribución de arborescencias en el segundo muestreo, al comparlo con el tercero ($P = 0.001$) (Cuadro 7).

La distribución del fenómeno en el tercer muestreo fue muy parecida a la del primero (Cuadro 8).

El comportamiento global de los 3 muestreos puede observarse en el Cuadro 9, donde puede apreciarse un comportamiento más o menos homogéneo en el primero y tercer muestreo, mientras que en el segundo muestreo se observó mayor dominio del tipo de arborización 1.

DISCUSION

No se encontraron informes del fenómeno de arborización en muestras salivales de ovinos en la literatura, por lo que es importante hablar de sus características, problemas en su obtención y manejo de las muestras.

Los cristales son altamente solubles, por lo que no pueden ser fijados con calor, alcohol o fijador celular (citospray). Tampoco pueden ser teñidos con tinciones como azul de metileno, short o giemsa, ya que todas ellas son tinciones hidrosolubles que invariablemente disuelven los cristales.

Afortunadamente se fijan de modo adecuado al secarse a temperatura ambiente, pero debe tenerse cuidado de no frotar los portaobjetos unos con otros o tenerlos en lugares muy húmedos, ya que la humedad ambiental acorta la duración de las muestras. Se recomienda que la observación se haga el mismo día en que se tomó la muestra siempre y cuando este totalmente seca.

Es importante mencionar que la forma de los cristales observados en las muestras de saliva ovina es distinta a la señalada en la literatura en otras especies, posiblemente debido a las características propias de la saliva del ovino, tomando en cuenta la gran cantidad de bicarbonatos que contienen. Al margen de este trabajo y de manera informal se hicieron diferentes soluciones de Cloruro de Sodio, Bicarbonato de Sodio y Fosfatos de las cuales se tomó una pequeña muestra, la cual fue colocada en un portaobjetos y se dejó secar. Una vez seca se observó al microscopio, pudiéndose apreciar que en las muestras de soluciones en las que se usó bicarbonato se formaban

soluciones en las que se usó bicarbonato se formaban sedimentaciones muy parecidas al tipo 1 presente en las muestras salivales de la oveja, lo que es muy sugerente en cuanto al porque en esta especie son distintos los patrones de formación, al de forma de helecho previamente encontrado por otros autores en las demás especies.

En cuanto a la obtención de la muestra, como ya se indicó , esta se tomó de entre los carrillos con una bombilla de succión, conviene que ésta sea tomada cuando el animal esté alerta o realizando alguna actividad con el fin de que no se encuentre rumiando. La rumia afecta la observación de las muestras pues en este caso se observan demasiado sucias o con gran cantidad de alimento, lo que no permite observar ningún patrón . Muchas veces lo que se obtiene en realidad son muestras de líquido ruminal y no de saliva. Esto se puede evitar si se introduce un dedo o un objeto a la cavidad bucal para que la borrega lo trate de tragar, provocando con esto la salivación y la deglución.

Franson afirma que el reflejo psíquico de la salivación no existe o es muy leve en rumiantes (1988) . En este trabajo se observó que sí salivaban más o por lo menos las muestras eran más abundantes y limpias al momento de servir el alimento, por lo que las muestras en general fueron tomadas en la mañana, poco antes de que los animales comieran.

El manejo de las muestras resultó muy delicado. Gran número de éstas se perdió porque al momento de ser tomada el animal estaba rumiando y no se obtenía saliva, porque al ser puesta en el portaobjeto siendo muy abundante se escurría hacia abajo y se perdía , o porque al momento de transportarlas éstas aún con el

mayor cuidado se desplazaban hacia abajo y también se perdían.

Se piensa que el proporcionar sales minerales a los animales afectó directamente la forma de las arborescencias, ya que la presentación del tipo de arborescencia 3 coincidía invariablemente con el aporte de las sales. Sin embargo las características propias del cristal, como el gran cúmulo de material sobre ella, la gran concentración de sal como tal que se observa a simple vista, la apariencia burda o poco estilizada de ramas gruesas y muy grandes permiten diferenciarlo perfectamente como un cristal de sales. Además la especie ovina requiere de esta suplementación, por lo que no es práctico pensar el no proporcionar estas sales.

En el primer muestreo se trató de relacionar las observaciones con el ciclo estral y el patrón de crecimiento folicular de los ovinos, tomando en cuenta que el crecimiento folicular se sucede a intervalos de 5 días en ausencia de cuerpo lúteo (CL) . Si el folículo que se ha ovulado es destruido por electrocoagulación, de tal suerte que impide la formación del CL, el animal ovula nuevamente unos 4 o 5 días después de la primera ovulación. Esto indica que la oveja tiene un ciclo intrínseco de desarrollo folicular y ovulación en ausencia de CL, y en presencia de éste, tiene ciclos de desarrollo folicular (más no de ovulación) de 4 - 5 días. Estas ondas de crecimiento folicular dentro del ciclo van acompañadas de aumentos en los niveles de estrógenos en los días 2, 8 y 14 del ciclo, con máximos niveles en los días 5, 10 y 16 aproximadamente (3,10). Por ello en el primer muestreo, a partir de la detección de un estro, se procedió a tomar muestras en los días 8, 10, 14, 15, 16, 17 o

se procedió a tomar muestras en los días 8, 10, 14,15, 16, 17 o cero y 1,2 del ciclo partiendo de que según la literatura la presencia de las arborescencias esta directamente influenciada por niveles estrogénicos altos (1,2,4,16). Con dicho patrón de muestreo se pensó en coincidir con estos niveles significativos de estrógenos. Ya que por razones técnicas no fue posible medir niveles de estrogénos sanguíneos, se tomó como parámetro los niveles de progesterona y los informes del comportamiento estrogénico dados por la literatura . Pero no se encontró diferencia estadísticamente significativa, aún comparando las distintas etapas del ciclo estral, lo que nos lleva a pensar que no hay un tipo representativo de una etapa determinada ni un patrón de presentación fijo o constante.

No se encontró un patrón definido y constante, ya que incluso con niveles significativos de progesterona, hormona antagonista de los estrógenos, se seguían presentando arborescencias, y no un tipo determinado de éstas, sino que bien podía ser cualquiera de los 4 tipos distintos, ccmbinaciones de estos o muestras negativas.

Al comparar el comportamiento de las arborescencias en las distintas etapas del ciclo de borregas que se encontraban en actividad reproductiva, no hubo diferencia significativa entre éstas, por lo que se infiere que por lo menos en esta especie la presencia de las arborescencias se debe a algun fenómeno ajeno al estado endocrinológico del animal.

Por otro lado existía la alternativa de que, dadas las particulares características endocrinas de los ovinos, crecimiento constante de folículos (10) y la susceptibilidad de responder a cantidades mínimas de estrógenos pudiera explicar la presencia constante de arborescencias, al tener un nivel mínimo pero constante de estrógenos.

Lo anterior lleva a pensar que en una etapa de anestro profundo el fenómeno no debía presentarse por la ausencia de niveles estrógenicos adecuados, pudiendo entonces considerarse a este fenómeno como un indicativo de funcionalidad ovárica. Debido a esto se realizó un segundo muestreo, en época no reproductiva (mes de marzo) (18). Pero contrariamente a lo esperado y confirmando con los niveles de progesterona (P4), algunas borregas aún se encontraban ciclando, por lo que es importante recordar que se utilizaron animales encastados con Pelibuey y Suffolk, en los cuales no obstante el informe de decremento notable de presentación de estros entre marzo, abril y mayo, las ovejas cruce con Pelibuey adaptadas a su medio no muestran del todo este comportamiento de anestro marcado como los animales de raza pura nórdica (10,18). Por ende se realizó un tercer muestreo, en los meses de abril- mayo. Pero de los 55 animales usados 28 se encontraban ciclando y 29 en anestro .

Ello permitió evaluar el comportamiento de las arborescencias en distintos estados endocrinológicos, resultando que el comportamiento en cuanto a frecuencias de presentación de los distintos tipos fue muy parecido en el primer y tercer muestreo, se recuerda que aquí se compararon animales en plena

época reproductiva (ciclando) y animales en anestro (sin actividad reproductiva). En el segundo muestreo aun habiendo animales de ambos tipos, el comportamiento fue distinto a los otros dos muestreos, por lo que se puede pensar en un efecto de estación en cuanto a cambios en el alimento, manejo o cualquier factor relacionado con estos animales, pero no con un estado reproductivo determinado. En el último muestreo, se observaron cambios en la conformación y definición de los cristales, además de un aumento de muestras negativas y sobre todo trazas.

En la sucesión de observaciones se constataron cambios sutiles en la presentación de las arborescencias, por ejemplo, en el primer muestreo fue continua, primero la presencia del tipo 2 y después del tipo 1, y casi nunca la del 4 .

En el segundo muestreo, predominaba fuertemente el tipo 1. En el último muestreo primero seguía siendo el 1, pero al final, en las últimas muestras empezó a prevalecer el tipo 2 , el 3 y las combinaciones 1 - 2 . Aunque debe recalcar que esto es una apreciación subjetiva del observador.

El diseño de este experimento no permitió controlar todas las variables involucradas, por lo que se sugiere se realicen experimentos posteriores tratando de controlar los diferentes estadios endocrinológicos del animal. Se sugieren los siguientes métodos: ovariectomía y aplicación hormonas como estrógenos, progesterona o una combinación de ambas, así como controlar la administración de sales minerales para evaluar su participación en el fenómeno. Todo esto con el fin de confirmar en la especie ovina cual factor hormonal es el que participa, si es que

participa, con la presentación de este fenómeno, pudiendo seguir más de cerca su posible valor práctico. Su presencia pueda indicar algún evento fisiológico, aunque no parece relacionarse con el aspecto reproductivo de esta especie.

Se concluye que la arborización en muestras salivales en ovinos no permite realizar un diagnóstico sobre la etapa reproductiva en la que se encuentra el animal, por lo que tampoco puede utilizarse como método para detección de estro.

LITERATURA CITADA

1. Aboul-ela, M.B., Topps , J.H. and MacDonald, D.C.: Relation ships between intravaginal electrical resistance, cervicovaginal mucus characteristics and blood progesterona and LH. Anim. Reprod. Sci. 5 : 259-273 (1982-1983).
2. Abuseina, M.E.:A study of the fern-like crystalline patterns of cervical and vaginal mucus of cattle . Vet. Rec. 74: 614-621 (1962).
3. Alba, J. :Reproducción animal. Prensa Médica Mexicana . México ,D.F. 1985.
4. Betteridge, K.J. and Raeside, J.I.:Investigation of cervical mucus an indicador of ovarian activity in pigs.J. Reprod. Fertil. 2: 1-16 (1962).
5. Deverport, H.W.: Fisiología de la Digestión. 4a ed.Interamericana, México, D.F., 1986.
6. Duran del C. A.: Anatomía Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial en Ovinos. Hemisferio Sur, Montevideo ,Uruguay, 1968.
7. Dyrmuson, O.R.:Puberty and early reproductive performance in sheep. I . Ewe lambs. Ann. Breed. Abstr. 41: 273-289 (1973).
8. Edey, T.N., Chu, T.T., Kilgour, R. Smith, J.F. and Tervit, R. H.: Estrous without ovulation in puberal ewe. Theriogenology. 7: 11-15 (1977).
9. Esquivel, L.C.F.:Utilización de frotis Salivales para el seguimiento del ciclo estral de la perra. Memoria 1er Curso Internacional de Reproducción Canina .Aibir, México (1992).

10. Fernandez, B. S.: Aspectos Reproductivos de la Oveja. Memorias del Curso de Actualización Aspectos de Produccion Ovina. México, Octubre 1981: 79-89. Universidad Nacional Autónoma de México. Fac. Med. Vet. y Zoot. División de Estudios de Posgrado México (1981).
11. Fuentes, O.V.: Fisiología Veterinaria. editado por. Victor Fuentes, México D.F. 1986.
12. Galina ,C. Valencia, M.J. Bustamante, C.G., Salties, C.A. Becerril, A. Calderón, Y.A. Duchateau, B. A. Fernández, B.S., Olguín, B.A. Páramo, R.M. y Zarco A.L.: Reproducción en Animales Domésticos. Limusa, México D.F. 1986.
13. Guitler, H. Ketz, H.A.: Fisiología Veterinaria. Acribia, Zaragoza, España, 1971.
14. Hafez, E. S. E.: Reproducción e Inseminación Artificial en animales Domésticos. 5a ed. Interamericana, México, D.F. (1987).
15. Mcleon, B.J. and Haresing, W. and Lamming, G.E.: Response of seasonally anoestrus ewes to small-dose multiple injections of GnRH without progesterone pretreatment. J. Reprod. Fertil., 65: 223-230 (1982).
16. Noonam, J.J. Shultze, A.B. and Elligton, E.: Changes in Bovin cervical and vaginal mucus during the estrous cycle and early pregnancy. J. Anim. Sci., 4: 1084-1088 (1975).
17. Quirke, J. F. Stabenfeldt, G.H. and Bradford G.E.: Onset of puberty and duration of the breeding season in Suffolk, Rambullet, Finnish Landrace, Dorset and Finnish-Dorset ewe lambs. J. Anim. Sci., 60: 1463-1471 (1985).

18. Quispe, T.L.: Estudios sobre el uso del Acetato de Melengestrol para la sincronización e inducción de estros en ovejás. Tesis de Doctorado en Producción Animal. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 1989.
19. Srikandakumar, A. Ingraham, R. H. Ellsworth, M. Archbalb, I.F. Liao, A. and Godke, R. A.: Comparison of a solid-phase, noextraction radioimmunoassay for progesterona with and extration assay for monitoring luteal function in the mare, bith and cow. Theriogenology 26: 779-793 (1986).
20. Tepperman, J.,: Fisiología Metabólica y Endócrina. Jaed. Interamericana , México D.F. 1975.
21. Williams , W. Collier, R.; Efecto del calor sobre la productividad animal. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias Jalapa Ver. México (1983).

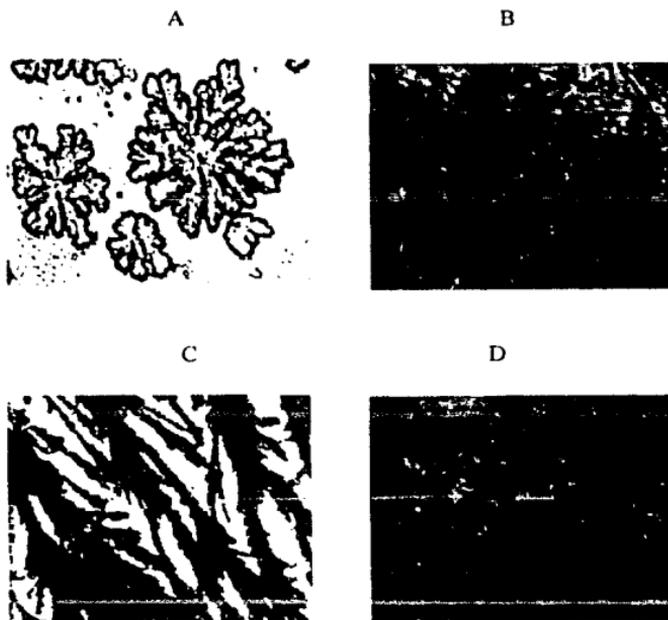


Figura 1. Ejemplos representativos de los cuatro grupos de cristales (arborescencias) observados en muestras salivales. A arborización tipo 1, B arborización tipo 2, C arborización tipo 3 y D arborización tipo 4. (aumento 10 \times).

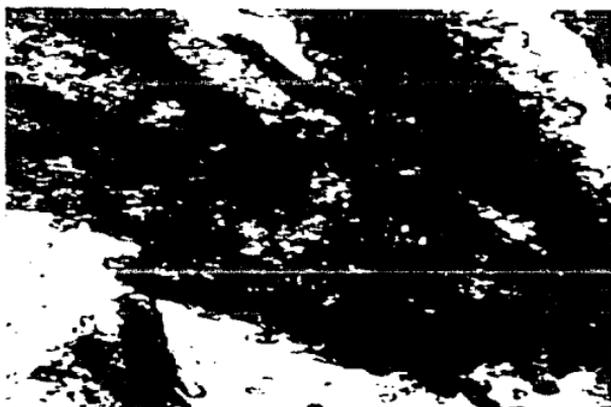


Figura 2. Interacción de los diferentes tipos de cristales. Cuadro superior arborizaciones tipo 1 y 2 cuadro inferior arborizaciones tipo 1 y 3.

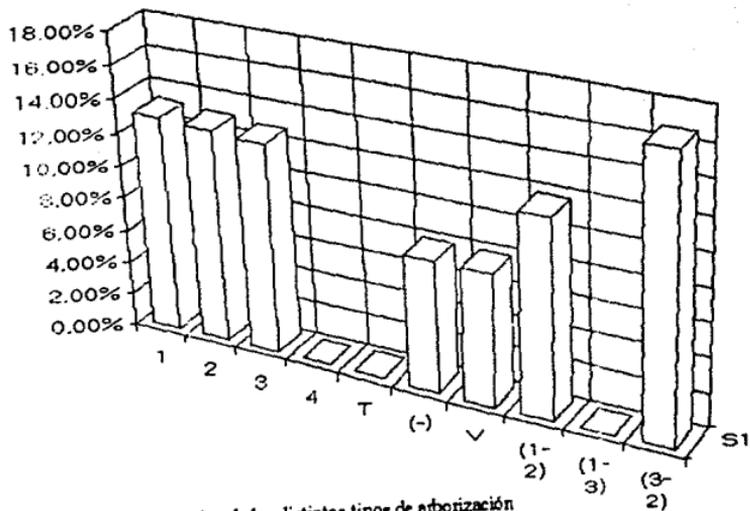


fig 3 Frecuencia de presentación de los distintos tipos de arborización en etapa de estro

CUADRO.1

DISTRIBUCION DE LA PRESENTACION DEL FENOMENO DE ARBORIZACION DE ACUERDO
CON EL PATRON DE MUESTREO

| DIAS | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | T | | V | | (-) | | 1-2 | | 1-3 | | 3-2 | |
|------|----|------|----|------|----|------|---|-----|---|------|---|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 8 | 21 | 51.2 | 4 | 9.7 | 3 | 7.3 | 0 | 0.0 | 5 | 12.2 | 2 | 4.8 | 5 | 12.2 | 1 | 2.4 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| 10 | 16 | 47.0 | 3 | 8.8 | 1 | 2.9 | 0 | 0.0 | 4 | 11.7 | 1 | 2.9 | 6 | 17.6 | 1 | 2.9 | 0 | 0.0 | 2 | 5.8 |
| 14 | 13 | 56.5 | 1 | 4.3 | 4 | 17.3 | 0 | 0.0 | 3 | 13.0 | 0 | 0.0 | 1 | 4.3 | 1 | 4.3 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| 15 | 10 | 32.2 | 6 | 19.3 | 2 | 6.4 | 0 | 0.0 | 2 | 6.4 | 1 | 3.2 | 6 | 19.3 | 3 | 9.6 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| 16 | 11 | 22.0 | 8 | 16.0 | 8 | 16.0 | 1 | 2.0 | 7 | 14.0 | 1 | 2.0 | 5 | 10.0 | 5 | 10.0 | 2 | 4.0 | 2 | 4.0 |
| 17 | 22 | 39.2 | 8 | 14.2 | 10 | 17.8 | 0 | 0.0 | 3 | 5.3 | 1 | 1.7 | 7 | 12.5 | 3 | 5.3 | 0 | 0.0 | 2 | 3.5 |
| 1 | 26 | 40.6 | 10 | 15.6 | 12 | 18.7 | 0 | 0.0 | 3 | 4.6 | 1 | 1.5 | 7 | 10.9 | 3 | 4.6 | 0 | 0.0 | 2 | 3.1 |
| 2 | 28 | 38.8 | 11 | 15.2 | 10 | 13.8 | 1 | 1.3 | 9 | 12.5 | 2 | 2.7 | 4 | 5.5 | 6 | 8.3 | 0 | 0.0 | 1 | 1.3 |
| 3 | 29 | 45.3 | 8 | 12.5 | 9 | 14.0 | 0 | 0.0 | 3 | 4.6 | 2 | 3.1 | 6 | 9.3 | 5 | 7.8 | 2 | 3.1 | 0 | 0.0 |

El comportamiento de las arborizaciones en los distintos días del ciclo no fue significativamente distinto ($P = 0.554$).

CUADRO.2

COMPORTAMIENTO DE LAS ARBORESCENCIAS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CICLO ESTRAL
(PRIMER MUESTREO - EPOCA REPRODUCTIVA)

| TIPO DE ARBORIZACION | PROESTRO | ESTRO | METAESTRO | DIESTRO | TOTAL DE MUESTRAS | % |
|----------------------|----------|-------|-----------|---------|-------------------|-------|
| 1 | 17.63 | 13.14 | 25.64 | 43.59 | 312 | 40.26 |
| 2 | 23.38 | 12.99 | 18.18 | 45.45 | 77 | 9.94 |
| 3 | 18.60 | 12.79 | 26.74 | 41.86 | 86 | 11.10 |
| 4 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1 | 0.13 |
| T | 26.67 | 0.00 | 20.00 | 53.33 | 15 | 1.94 |
| (-) | 11.76 | 7.84 | 20.59 | 59.80 | 102 | 13.16 |
| V | 12.17 | 7.63 | 23.48 | 56.52 | 115 | 14.84 |
| INTERACCIONES | | | | | | |
| 1 - 2 | 19.01 | 11.76 | 23.53 | 45.10 | 51 | 6.58 |
| 1 - 3 | 33.33 | 0.00 | 66.67 | 0.00 | 3 | 0.39 |
| 3 - 2 | 25.00 | 16.67 | 16.67 | 41.07 | 12 | 1.55 |

La presentación del fenómeno de arborización no cambió significativamente en ninguna etapa del ciclo estral de la borrega ($P > 0.05$).

CUADRO. 3

COMPORTAMIENTO GLOBAL DEL FENOMENO DE ARBORIZACION
EN EPOCA REPRODUCTIVA

PRIMER MUESTREO

| TIPO DE ARBORIZACION | TOTAL DE MUESTRAS | % |
|-------------------------|----------------------|------------|
| 1 | 336 | 40.00 |
| 2 | 73 | 8.69 |
| 3 | 79 | 9.40 |
| 4 | 2 | 0.23 |
| T | 137 | 16.30 |
| (-) | 116 | 13.80 |
| V | 12 | 1.42 |
| INTERACCIONES | | |
| 1 - 2 | 60 | 7.14 |
| 1 - 3 | 3 | 0.35 |
| 3 - 2 | 22 | 2.61 |
| TOTAL | 840 | 100 |

CUADRO. 4

COMPORTAMIENTO DE LAS ARBORIZACIONES EN EPOCA DE TRANSICION Y ANESTRO ABARCANDO SEGUNDO Y TERCER MUESTREO.

SEGUNDO MUESTREO

| TIPO DE ARBORIZACION | TOTAL DE MUESTRAS | t |
|----------------------|-------------------|-------|
| 1 | 217 | 81.27 |
| 2 | 1 | 0.37 |
| 3 | 4 | 1.49 |
| 4 | 0 | 0 |
| T | 17 | 6.36 |
| (-) | 9 | 3.37 |
| V | 5 | 1.87 |
| INTERACCIONES | | |
| 1 - 2 | 8 | 2.99 |
| 1 - 3 | 6 | 2.24 |
| 3 - 2 | 0 | 0 |
| TOTAL | 267 | 99.96 |

CUADRO. 5

COMPARACION ENTRE EL SEGUNDO Y TERCER MUESTREO AGRUPANDO ANIMALES CICLANDO Y EN ANESTRO

| TIPO DE ARBORIZACION | SEGUNDO MUESTREO | | | | TERCER MUESTREO | | | |
|----------------------|--------------------|-------|--------------------|-------|--------------------|-------|--------------------|-------|
| | CICLANDO | | ANESTRO | | CICLANDO | | ANESTRO | |
| | NUMERO DE MUESTRAS | % |
| 1 | 89 | 84.79 | 128 | 79.01 | 170 | 41.36 | 181 | 48.78 |
| 2 | 0 | 0 | 1 | 0.61 | 18 | 4.37 | 20 | 5.39 |
| 3 | 1 | 0.95 | 3 | 1.85 | 14 | 3.47 | 14 | 3.77 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0.72 | 10 | 2.69 |
| T | 4 | 3.80 | 13 | 8.02 | 120 | 29.19 | 59 | 15.90 |
| (-) | 4 | 3.80 | 5 | 3.08 | 50 | 12.16 | 55 | 14.82 |
| V | 1 | 0.95 | 4 | 2.46 | 6 | 1.45 | 5 | 1.34 |
| INTERACCIONES | | | | | | | | |
| 1 - 2 | 3 | 2.85 | 5 | 3.08 | 22 | 5.35 | 20 | 5.39 |
| 1 - 3 | 3 | 2.85 | 3 | 1.85 | 7 | 1.70 | 2 | 0.53 |
| 2 - 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.24 | 5 | 1.34 |
| TOTAL DE ANIMALES | 11 | | 19 | | 28 | | 27 | |
| TOTAL | 105 | 100 | 162 | 100 | 411 | 99.99 | 371 | 99.95 |

CUADRO.6

COMPARACION DEL COMPORTAMIENTO DEL FENOMENO DE ARBORIZACION SEGUN EL ESTADO REPRODUCTIVO DE LOS ANIMALES

| TIPO DE ARBORIZACION | SEGUNDO MUESTREO | | | | | | TERCER MUESTREO | | | | | |
|----------------------|------------------|-------|---------|-------|--------|-------|-----------------|-------|---------|-------|-------|-------|
| | CICLANDO | | ANESTRO | | TOTAL | | CICLANDO | | ANESTRO | | TOTAL | |
| | No.M | % | No.M | % | No. M. | % | No.M. | % | No.M. | % | No.M. | % |
| 1 | 89 | 84.79 | 128 | 79.01 | 217 | 20.81 | 170 | 41.36 | 181 | 48.78 | 345 | 33.08 |
| 2 | 0 | 0.00 | 1 | 0.61 | 1 | 0.10 | 18 | 4.37 | 20 | 5.39 | 38 | 3.64 |
| 3 | 1 | 0.95 | 3 | 1.85 | 4 | 0.38 | 14 | 3.40 | 14 | 3.77 | 28 | 3.07 |
| 4 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 3 | 0.72 | 10 | 2.69 | 13 | 1.25 |
| T | 4 | 3.80 | 13 | 8.02 | 17 | 1.63 | 20 | 29.19 | 59 | 15.90 | 179 | 17.16 |
| (-) | 4 | 3.80 | 5 | 3.08 | 9 | 0.86 | 50 | 12.16 | 55 | 14.82 | 105 | 10.07 |
| V | 1 | 0.95 | 4 | 2.46 | 5 | 0.48 | 6 | 1.45 | 5 | 1.34 | 11 | 1.05 |
| INTERACCIONES | | | | | | | | | | | | |
| 1 - 2 | 3 | 2.85 | 5 | 3.08 | 8 | 0.77 | 22 | 5.35 | 20 | 5.39 | 42 | 4.02 |
| 1 - 3 | 3 | 2.85 | 3 | 1.85 | 6 | 0.58 | 7 | 1.70 | 2 | 0.53 | 9 | 0.86 |
| 3 - 2 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 1 | 0.24 | 5 | 1.34 | 6 | 0.58 |

El comportamiento de las arborizaciones entre los dos tipos de animales no mostró diferencia significativa, pero si entre los dos muestreos (P=0.001).

CUADRO.7

COMPARACION DEL FENOMENO DE ARBORIZACION EN LOS DIFERENTES MUESTREOS
EN EPOCA REPRODUCTIVA Y ANESTRO

| TIPO DE ARBORIZACION | SEGUNDO MUESTREO | | TERCER MUESTREO | | TOTAL | |
|-------------------------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-------|-------|
| | NUMERO DE MUESTRAS | % | NUMERO DE MUESTRAS | % | | % |
| 1 | 217 | 20.81 | 345 | 33.08 | 562 | 53.88 |
| 2 | 1 | 0.10 | 38 | 6.64 | 39 | 3.74 |
| 3 | 4 | 0.38 | 28 | 2.68 | 32 | 3.07 |
| 4 | 0 | 0.00 | 13 | 1.25 | 13 | 1.25 |
| T | 17 | 1.63 | 179 | 17.16 | 196 | 18.79 |
| (-) | 9 | 0.86 | 105 | 10.07 | 114 | 10.93 |
| V | 5 | 0.48 | 11 | 1.05 | 16 | 1.53 |
| 1 - 2 | 8 | 0.77 | 42 | 4.03 | 50 | 4.79 |
| 1 - 3 | 6 | 0.58 | 9 | 0.86 | 15 | 1.44 |
| 3 - 2 | 0 | 0.00 | 6 | 0.58 | 6 | 0.58 |
| TOTAL | 267 | 25.60 | 776 | 74.40 | 1043 | 100 |

Al compar la presentación del fenómeno de arborización en los dos últimos muestreos se observa una significativa diferencia entre estos ($P= 0.001$).

CUADRO. 8
EPOCA NO REPRODUCTIVA

TERCER MUESTREO

| TIPO DE ARBORIZACION | TOTAL DE MUESTRAS | % |
|-------------------------|----------------------|------------|
| 1 | 351 | 44.88 |
| 2 | 38 | 4.85 |
| 3 | 28 | 3.58 |
| 4 | 13 | 1.66 |
| T | 179 | 22.89 |
| (-) | 105 | 13.42 |
| V | 11 | 1.40 |
| INTERACCIONES | | |
| 1 - 2 | 42 | 5.37 |
| 1 - 3 | 9 | 1.15 |
| 3 - 2 | 6 | 0.76 |
| TOTAL | 782 | 100 |

CUADRO. 9

DISTRIBUCION GLOBAL DEL FENOMENO DE ARBORIZACION EN LOS TRES MUESTREOS EN DISTINTAS EPOCAS REPRODUCTIVAS

| TIPO DE ARBORIZACION | TOTAL DE MUESTRAS | | | | | |
|----------------------|-------------------|--------------|------------|--------------|------------|------------|
| | PRIMERO | % | SEGUNDO | % | TERCERO | % |
| 1 | 336 | 39.43 | 217 | 81.27 | 351 | 44.88 |
| 2 | 73 | 8.56 | 1 | 0.3 | 38 | 4.85 |
| 3 | 79 | 9.27 | 4 | 1.49 | 28 | 3.58 |
| 4 | 2 | 0.23 | 0 | 0 | 13 | 1.66 |
| T | 137 | 16.07 | 17 | 6.36 | 179 | 22.89 |
| (-) | 116 | 13.61 | 9 | 3.37 | 105 | 13.42 |
| V | 12 | 1.40 | 5 | 1.87 | 11 | 1.40 |
| INTERACCIONES | | | | | | |
| 1 - 2 | 60 | 7.04 | 8 | 2.99 | 42 | 5.37 |
| 1 - 3 | 3 | 0.35 | 6 | 2.24 | 9 | 1.15 |
| 3 - 2 | 22 | 2.58 | 0 | 0 | 6 | 0.76 |
| TOTAL | 840 | 99.99 | 267 | 99.99 | 782 | 100 |