



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL

EVALUACIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN DE  
GLICEROL POR VÍA ORAL EN LA TASA DE  
OVULACIÓN Y PROLIFICIDAD EN CABRAS

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

CECILIO UBALDO AGUILAR MARTÍNEZ

TUTOR:

DR. JOEL HERNÁNDEZ CERÓN

COMITÉ TUTORAL:

DR. CARLOS G. GUTIÉRREZ AGUILAR

DR. GERMÁN MENDOZA MARTÍNEZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

## DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

---

*Cecilio Ubaldo Aguilar Martínez*

## **DEDICATORIAS**

A mis dos madres: Victoria Martínez y María Nava, como un tributo por todos los sacrificios que han realizado para sacarnos adelante a mis hermanos y a mí. Gracias por regalarme la vida y hacer de mí la persona que soy. Las amo.

A mis hermanos: Araceli, Gerardo, Juan, Areli, Juan Miguel y Yoselín, por regalarme una vida llena de bellos recuerdos. Gracias por motivarme a seguir adelante.

A la familia Pacheco-Martínez por el apoyo que me otorgó en la realización de mis estudios. Siempre estaré en deuda con ustedes.

A los integrantes del departamento de Reproducción, en especial a Toño, Bety, Gisel, Ana, Cecilia, Susy, Dra. Páramo, Rosita y Gerardo. Gracias por hacer de este Departamento mi segunda casa.

A Esperanza Bernal por el apoyo y cariño que me ha brindado durante los últimos 5 años de mi vida. Diana, mi compañera en los días más oscuros de mi vida, gracias por dejarme formar parte de tu mundo. A mis amigos de la licenciatura: Agustín, Adrián, Dolores, Angélica, Nadia, Coral; por demostrarme que la amistad existe y existirá a pesar de la distancia y el tiempo, por aceptarme como soy y por su apoyo en los momentos difíciles. A Ma. Eugenia, mi “psicóloga particular”, gracias por los momentos especiales que le has dado a mi vida.

A Ernesto Claro, Esteban Romero y Jesús Macías, integrantes de la desaparecida generación de “La Casita”, en Tizayuca. Gracias por todos los momentos de felicidad compartidos durante dos años de nuestras vidas. Espero que nuestros sueños muy pronto se conviertan en realidad.

A Ramón, Alvaro, Arnulfo, Tóbele, Paola, Tania y David y Christian, compañeros y amigos de la maestría, por enseñarme que no importan los obstáculos cuando se tiene una meta, por permitirme conocerlos y regalarme su amistad.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de vivir el sueño que un día tuve, y que ahora estoy a punto de convertir en realidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada, sin la cual no hubiese sido posible la realización de mis estudios de maestría.

A los miembros de mi comité tutorial Joel Hernández Cerón, Carlos G. Gutiérrez Aguilar y Germán Mendoza Martínez. Gracias por la paciencia que me tuvieron durante la realización del proyecto. De igual manera, quiero agradecer a los doctores Alejandro Villa Godoy y Antonio Porras Almeraya por las valiosas aportaciones que hicieron para enriquecer el presente trabajo.

Al personal docente del C.E.I.E.P.A.G., en especial a Yesmín Domínguez y Antonio García. Gracias por el apoyo técnico y la amistad brindada.

A Miriam Plata y Leonardo Mendoza, mis eternos compañeros en el C.E.I.E.P.A.G., gracias por su colaboración desinteresada en la realización del trabajo de campo.

A Susana Rojas, Clara Murcia y Gerardo Perera, por el apoyo técnico en las determinaciones hormonales.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
DECLARACIÓN.....	I
DEDICATORIAS.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.....	VIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	3
2.1 Hipótesis.....	3
2.2 Objetivo general.....	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1 Principales factores que determinan la prolificidad en pequeños rumiantes.....	4
3.1.1 Tasa de ovulación.....	4
3.1.1.1 Factores que afectan la tasa de ovulación.....	4
3.1.1.1.1 Genética.....	5
3.1.1.1.2 Edad de la hembra.....	6
3.1.1.1.3 Nutrición.....	7
3.1.1.2 Métodos utilizados para incrementar la tasa de ovulación.....	8
3.1.1.2.1 Nutricionales.....	8
3.1.1.2.2 Hormonales.....	11
3.1.1.2.3 Genéticos.....	13
3.1.1.3 Desarrollo folicular.....	14
3.1.1.3.1 Crecimiento preantral.....	15
3.1.1.3.2 Crecimiento antral.....	16
3.1.1.3.3 Dinámica folicular.....	19

3.1.2 Supervivencia embrionaria.....	20
3.1.2.1 Desarrollo embrionario temprano.....	20
3.1.2.2. Factores que afectan la supervivencia embrionaria.....	23
3.1.2.2.1 Genética.....	23
3.1.2.2.2 Edad de la hembra.....	24
3.1.2.2.3 Nutrición.....	24
3.1.2.2.4 Factores endócrinos.....	26
3.1.2.2.5 Tasa de ovulación.....	26
3.1.2.2.6 Tipo de ovulación.....	27
3.1.2.2.7 Temperatura.....	27
3.1.2.3 Métodos utilizados para incrementar la supervivencia embrionaria.....	27
3.1.2.3.1 Nutricionales.....	28
3.1.2.3.2 Hormonales.....	29
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	31
4.1 Localización.....	31
4.2 Animales.....	31
4.3 Muestreo sanguíneo y procesamiento de las muestras.....	33
4.4 Análisis estadístico.....	34
5. RESULTADOS.....	35
5.1 Porcentaje de concepción, tasa de ovulación y prolificidad.....	35
5.2 Concentraciones sanguíneas de insulina, glucosa y progesterona.....	35
6. DISCUSIÓN.....	43
7. LITERATURA CITADA.....	50

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b> Prolificidad y porcentajes de concepción y de partos múltiples en cabras tratadas con glicerol por vía oral.	36
<b>Cuadro 2.</b> Porcentaje de ovulaciones múltiples y tasa de ovulación en cabras tratadas con glicerol por vía oral.	37
<b>Figura 1.</b> Diagrama de actividades realizadas durante el estudio.	32
<b>Figura 2.</b> Promedio de las concentraciones de insulina $\pm$ error estándar en cabras tratadas con glicerol por vía oral.	38
<b>Figura 3.</b> Promedio de las concentraciones de glucosa $\pm$ error estándar en cabras tratadas con glicerol por vía oral.	39
<b>Figura 4.</b> Promedio de las concentraciones de progesterona $\pm$ error estándar en cabras tratadas con glicerol por vía oral.	40
<b>Figura 5.</b> Concentraciones de progesterona durante el ciclo estral en una cabra con una fase lútea normal.	41
<b>Figura 6.</b> Concentraciones de progesterona en una cabra con regresión prematura del cuerpo lúteo.	42



## RESUMEN

**Evaluación de la administración de glicerol por vía oral en la tasa de ovulación y prolificidad en cabras.** Aguilar MC, Hernández-Cerón J, Gutiérrez CG, Mendoza MG. Se probó la hipótesis de que el incremento de los niveles sanguíneos de glucosa e insulina durante la fase folicular y los primeros seis días después del servicio, aumenta la tasa de ovulación y prolificidad en cabras. Se sincronizó el estro de 129 cabras de raza Boer-Alpina, con esponjas con FGA. Al momento de retirar la esponja, las cabras del grupo glicerol (G; n = 65) recibieron una toma de 100 ml de una solución glucogénica (90 ml de glicerol:10 ml de agua), la cual se repitió los días 0, 2, 4 y 6 postestro (estro = día 0). El grupo testigo (T; n = 64) recibió 100 ml de agua. Se detectó el estro y se dio una monta con machos de fertilidad probada. Entre los días 8 y 12 posmonta, se determinó la tasa de ovulación mediante ecografía. El diagnóstico de gestación se realizó a través de ecografía el día 40 y la prolificidad se determinó al momento del parto. El porcentaje de concepción (G = 85.7 vs T = 88.3) y la proporción de cabras con ovulación (G = 64.4 vs T = 71.4) y parto múltiple (G = 54.4 vs T = 52.9) fueron similares entre grupos ( $P > 0.05$ ). La tasa de ovulación (G = 1.80 vs T = 1.84) y la prolificidad (G = 1.60 vs T = 1.58) no fueron diferentes ( $P > 0.05$ ) entre grupos. Durante las primeras 4 horas después del tratamiento las concentraciones sanguíneas de insulina fueron mayores en las cabras que recibieron el glicerol que en las testigo ( $P < 0.05$ ). Los niveles de glucosa y progesterona fueron similares ( $P > 0.05$ ) entre grupos. Se concluye que la administración oral de glicerol, durante la fase folicular y los primeros seis días después del servicio, incrementó las concentraciones séricas de insulina, sin embargo, no tuvo efecto en la tasa de ovulación y prolificidad en cabras.

**Palabras clave:** Tasa de ovulación, Prolificidad, Glicerol, Glucosa, Insulina

## ABSTRACT

**Evaluation of glycerol drenching on ovulation rate and litter size in goats.** Aguilar MC, Hernández-Cerón J, Gutiérrez CG, Mendoza MG. This study tested the hypothesis that increase glucose and insulin concentration during the follicular phase and the first six days after mating, increases the ovulation rate and litter size in goats. Oestrus was synchronized in 129 crossbred Alpino-Boer goats with intravaginal sponges impregnated with FGA. At sponge withdrawal, goats of the glycerol group (G; n = 65) received a glucogenic solution drench of 100 ml (90 ml of glycerol:10 ml of water), that was repeated on days 0, 2, 4 and 6 post-oestrus (oestrus = day 0). Control group (C; n = 64) only received 100 ml of water. Oestrus was detected and females mated with fertile males. Between days 8 and 12 postmating ovulation rate was determined by ultrasonography. Pregnancy diagnosis was made by ultrasonography on day 40 and litter size was determined at birth. Conception rate (G = 85.7 vs C = 88.3) and proportions of goats with multiple ovulation (G = 64.4 vs C = 71.4) and multiple kidding (G = 54.4 vs C = 52.9) were similar between groups ( $P > 0.05$ ). Ovulation rate (G = 1.80 vs C = 1.84) and litter size (G = 1.60 vs C = 1.58) were not different ( $P > 0.05$ ) between groups. During the 4 first hours after treatment, insulin concentrations were higher in goats that received glycerol ( $P < 0.05$ ). Glucose and progesterone concentrations were similar ( $P > 0.05$ ) between groups. It is concluded that glycerol drenching, during the follicular phase and the first six days after mating, increased insulin blood concentrations, however, it had not effect on ovulation rate and litter size in goats.

**Key words:** Ovulation rate, Litter size, Glycerol, Glucose, Insulin

# EVALUACIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN DE GLICEROL POR VÍA ORAL EN LA TASA DE OVULACIÓN Y PROLIFICIDAD EN CABRAS

## 1. INTRODUCCIÓN

El éxito de las empresas caprinas dedicadas a la producción de carne depende de la cantidad de animales que puedan producir. Para lograr una mayor productividad se han desarrollado varias estrategias, las cuales buscan incrementar el número de cabritos nacidos anualmente por cabra. Por un lado, se han implementado esquemas de inducción de estros que permiten gestar a las hembras fuera de la época reproductiva. Por otro lado, se ha buscado incrementar el número de cabritos nacidos por parto mediante un aumento en la tasa de ovulación y disminución de la mortalidad embrionaria (Martin *et al.*, 2004).

El aumento en la tasa de ovulación se ha logrado de manera práctica utilizando tratamientos hormonales y manipulando la alimentación. El incremento del aporte energético en la dieta durante la época de empadre (flushing), ha sido ampliamente utilizado para incrementar la prolificidad en pequeños rumiantes. Aunque aún no está completamente comprendido el mecanismo de acción del flushing, las evidencias encontradas indican que sus efectos se producen a nivel ovárico (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004), son independientes de las concentraciones de gonadotropinas (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>; Gutiérrez *et al.*, 1997<sup>a</sup>; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002) y se relacionan con un incremento en los niveles sanguíneos de glucosa e insulina (Cox *et al.*, 1987; Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>). La glucosa e insulina pueden influir en el aumento de la tasa de ovulación, ya que estas sustancias favorecen el desarrollo folicular. Algunos estudios han demostrado que niveles mayores de glucosa e insulina en sangre se relacionan con una mayor cantidad de folículos capaces de responder a la acción de las gonadotropinas (Gutiérrez *et al.*, 1997<sup>a</sup>; Viñoles *et al.*, 2005). Asimismo, la glucosa y glucosamina estimulan la capacidad esteroidogénica de los folículos mediante un aumento en la actividad del Factor de Crecimiento parecido a la Insulina (IGF-I; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004). Por otra parte, la insulina tiene un efecto mitogénico en las células de la granulosa (Peluso *et al.*, 1995; Gutiérrez *et al.*, 1997<sup>b</sup>).

La insulina desempeña un papel importante en el desarrollo embrionario temprano. En embriones bovinos cultivados *in vitro*, la insulina ejerce un efecto mitogénico y antiapoptótico (Byrne *et al.*, 2002; Augustin *et al.*, 2003), lo que resulta en un aumento en la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto. También se ha observado que la adición de insulina a células lúteas cultivadas *in vitro* incrementa la producción de progesterona (Saragueta *et al.*, 1989). Se sabe que los niveles séricos de progesterona influyen en el desarrollo embrionario; así, niveles de progesterona más altos, se han asociado con un desarrollo embrionario acelerado en el ganado vacuno (Remsen *et al.*, 1982; Garret *et al.*, 1998). En ovejas se ha observado que los embriones de animales con concentraciones bajas de progesterona presentan un desarrollo retardado (Nephew *et al.*, 1991).

En ovejas se han evaluado tratamientos cortos con soluciones glucogénicas como el glicerol y propilenglicol, para aumentar la tasa de ovulación. Así, Rodríguez Iglesias *et al.* (1996) lograron aumentar la tasa de ovulación en ovejas inducidas a ciclar, administrando un tratamiento oral de 100 ml de una solución a base de glicerol (70%), propilenglicol (20%) y agua (10%). Asimismo, el tratamiento con glicerol (90% de glicerol y 10% de agua) incrementó la tasa de ovulación en ovejas Pelibuey (Gutiérrez *et al.*, 2000). En ese trabajo, el glicerol se administró por vía oral durante 6 días en dosis crecientes (75, 150, 225, 300, 300 y 300 ml, respectivamente), comenzando 4 días antes de la aplicación de la dosis luteolítica de PGF $2\alpha$ . Por su parte, Martínez (2004) logró aumentar la tasa de ovulación al administrar 100 ml de glicerol al momento de la luteólisis; sin embargo, este aumento no se reflejó en el número de productos nacidos. En cabras no se han realizado estudios similares y es posible que el tratamiento con una sustancia glucogénica como el glicerol, también aumente la tasa de ovulación. En este trabajo se hipotetizó que la administración oral de glicerol durante la fase folicular y los primeros días después del servicio, incrementaría los niveles séricos de glucosa e insulina, lo cual podría reflejarse en un aumento de la tasa de ovulación y prolificidad en cabras.

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **2.1 HIPÓTESIS**

- El incremento en las concentraciones sanguíneas de glucosa e insulina durante la fase folicular y los primeros seis días después del servicio, aumenta la tasa de ovulación y la prolificidad en cabras.

### **2.2 OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el efecto de la administración de glicerol por vía oral en la tasa de ovulación, prolificidad y concentraciones sanguíneas de glucosa e insulina en cabras.

### **3. REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **3.1 PRINCIPALES FACTORES QUE DETERMINAN LA PROLIFICIDAD EN LOS PEQUEÑOS RUMIANTES**

La prolificidad o fecundidad se define como la capacidad de una población para producir descendencia numerosa y se puede expresar como el número de crías por parto o crías por hembra por año (Devendra y Burns, 1983). La prolificidad es uno de los principales parámetros que determina la eficiencia reproductiva en las empresas agropecuarias dedicadas a la producción de carne y/o doble propósito. En pequeños rumiantes, la prolificidad es determinada principalmente por la tasa de ovulación y la supervivencia embrionaria.

##### **3.1.1 TASA DE OVULACIÓN**

La tasa de ovulación se define como el número de ovulaciones que tiene un grupo de hembras en un determinado ciclo estral.

La oveja y la cabra se distinguen de los otros herbívoros domésticos, porque son capaces de tener ovulaciones múltiples en un estro. El aumento de la tasa de ovulación se relaciona con un incremento de la proporción de partos múltiples. En estudios realizados en ovejas se ha determinado que la prolificidad guarda una relación directa con la tasa de ovulación (Mahieu *et al.*, 2004), es decir, que las razas que tienen una tasa de ovulación alta también tienen una mayor prolificidad.

##### **3.1.1.1 Factores que afectan la tasa de ovulación**

La tasa de ovulación y la prolificidad son afectadas por varios factores como genética, edad de la hembra y nutrición, por mencionar los más importantes.

### 3.1.1.1.1 Genética

El potencial de la tasa de ovulación se controla genéticamente en una determinada especie o raza, lo cual ha sido promovido por las adaptaciones fisiológicas al ambiente (Hunter *et al.*, 2004) y mutaciones (Juengel *et al.*, 2004).

El proceso de selección natural juega un papel importante en las características reproductivas de las diferentes razas. Mediante este proceso, se fijan a través de los años, características que representan una ventaja para la sobrevivencia. Por otra parte, el proceso de adaptación a los diferentes ambientes, ha propiciado que exista un rango muy amplio en la tasa de ovulación y la prolificidad en las distintas razas de ovinos y caprinos. Existen estudios realizados en caprinos, bajo condiciones de manejo favorables, en los cuales se observa un rango de prolificidad que va desde 1.0 para la raza tropical Pashmina, hasta 2.3 para la raza Anglo-Nubia (Devendra y Burns, 1983). Por su parte, Freetly y Leymaster (2004) encontraron un rango de prolificidad que va de 1.1 en ovejas de la raza Dorset hasta 4.0 en la raza Romanov. En general, se ha observado que, en las razas que habitan en ambientes favorables, la proporción de animales con ovulaciones y partos múltiples es mayor que en los animales que habitan en ambientes adversos, en los que la mortalidad en las crías provenientes de partos múltiples es muy alta (Baird y Campbell, 1998).

En ovejas se han identificado algunas razas con tasa de ovulación alta. Estas razas se pueden dividir en dos grupos. En el primer grupo la selección folicular es multigénica e incluye las razas Romanov y Finish Landrace. En el segundo grupo la tasa de ovulación está controlada monogénicamente e incluye las razas Boorola, Inverdale y Hanna, entre otras.

La tasa de ovulación alta en las ovejas Romanov y Finish Landrace, refleja la acción de varios genes, cada uno de los cuales ejerce efectos pequeños (Webb *et al.*, 1998). En estas razas se ha observado que la fase folicular es de mayor duración, debido a que las concentraciones de estradiol son mayores y las de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) disminuyen de manera lenta (Bindon *et al.*, 1979). De esta manera, el intervalo entre la regresión lútea y el pico de la Hormona Luteinizante (LH) es más

grande que en las razas con tasa de ovulación baja. La mayor duración de la fase folicular ofrece la oportunidad de reclutar y mantener una mayor cantidad de folículos preovulatorios hasta antes de que las concentraciones de FSH disminuyan.

En el segundo grupo de ovejas, la tasa de ovulación alta refleja la mutación de un gen e incluye razas como Booroola (gen  $Fec^B$ ), Inverdale (gen  $FecX^I$ ) y Hanna (gen  $Fec^H$ ). Tal mutación se localiza en el cromosoma 6 de la raza Booroola, en tanto que, la mutación en las razas Inverdale y Hanna se localiza en el cromosoma X (Davis, 2005). En la raza Booroola se ha observado que los animales heterocigóticos tienen una tasa de ovulación de 3 a 4, mientras que en los animales homocigóticos la tasa ovulatoria es mayor de 5. Sin embargo, en las razas Inverdale y Hanna los animales heterocigóticos tienen una tasa de ovulación alta y los homocigóticos son infértiles (Monget *et al.*, 2002). Las mutaciones han sido identificadas en la Proteína Morfogenética Ósea tipo 15 (BMP-15) y el Receptor de la Proteína Morfogenética Ósea tipo IB (BMPR-IB) (Monget *et al.*, 2002), los cuales son necesarios para el crecimiento folicular. En estas razas, los folículos son más pequeños y con menos células de la granulosa, tienen una mayor respuesta a FSH, adquieren receptores para LH a un menor diámetro, muestran un aumento en la actividad de la aromatasa y ovulan a un menor tamaño (Hunter *et al.*, 2004). De esta manera, un mayor número de folículos desarrolla receptores para LH más temprano, lo cual evita la atresia cuando las concentraciones de FSH disminuyen.

#### **3.1.1.1.2 Edad de la hembra**

La tasa de ovulación y la prolificidad son afectadas por la edad de la hembra. La tasa de ovulación y, por consiguiente, la prolificidad en las hembras primaras es baja. Sin embargo, en los partos subsecuentes aumenta el número de crías. El pico en la tasa de ovulación y la prolificidad es alcanzado cuando los animales tienen entre 3 y 6 años de edad, luego declina gradualmente (Jainudeen y Hafez, 1993). En un estudio realizado con ovejas Rambouillet, la tasa de ovulación fue de 1.08 para los animales de 2 años y de 1.66 para los de 5 (Schoenian y Burfening, 1990). Por su parte, Anwar y Ahmad (1999) observaron en cabras una tasa de ovulación de 1.6 para los animales de 1 año, en tanto que la tasa de ovulación para los animales de 4 y 5 años fue de 2.3. La tasa de ovulación baja en los animales jóvenes, evita gestaciones múltiples cuando aún no se



han desarrollado completamente y, de esta manera, disminuyen los riesgos que corren la madre y las crías. El incremento de la prolificidad en animales adultos, puede deberse al incremento de la tasa de ovulación y/o a la disminución de las pérdidas prenatales.

### **3.1.1.1.3 Nutrición**

A pesar de que el potencial de prolificidad se determina genéticamente en las diferentes razas, la tasa de ovulación y la prolificidad también son altamente afectadas por la nutrición. Los animales alimentados de manera óptima, expresan su potencial genético, en cambio, aquellos con una nutrición deficiente no lo manifiestan. Por ejemplo, la subalimentación retrasa la llegada a la pubertad en todas las especies y reduce la tasa de ovulación en cabras (Mani *et al.*, 1992). La tasa de ovulación se ha incrementado manipulando la alimentación en periodos críticos de crecimiento folicular. Por lo tanto, es posible incrementar el número de crías obtenidas por parto, mediante la implementación de prácticas de alimentación adecuadas.

En ovejas y cabras la tasa de ovulación y el peso corporal se relacionan de manera estrecha. Se ha determinado que la nutrición influye en la tasa de ovulación mediante dos efectos: efecto estático y efecto dinámico (Coop, 1966). El efecto estático está dado por el peso corporal de la hembra al momento de la monta. Se ha observado que cuando las hembras no alcanzan un peso corporal mínimo, el potencial de la tasa de ovulación no es expresado. En contraparte, a medida que las hembras sobrepasan el peso corporal mínimo, la tasa de ovulación deja de aumentar de manera gradual, lo que indica que se ha alcanzado el potencial genético. El efecto dinámico es ejercido por el aumento del peso corporal durante el empadre mediante un nivel de alimentación alto (Lindsay *et al.*, 1993). Bajo esta situación, el peso corporal y la tasa de ovulación se correlacionan de manera positiva, es decir, a medida que aumenta el peso corporal, también lo hace la tasa de ovulación. Sin embargo, el mayor incremento de la tasa de ovulación se obtiene en animales de condición corporal moderada que se encuentran ganando peso al momento de la monta (Downing *et al.*, 1991). En estudios recientes se ha logrado reducir el flushing a periodos de 4-6 días (Gutiérrez *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2005), e incluso a una sola administración cuando se utilizan soluciones glucogénicas

(Rodríguez Iglesias *et al.*, 1996; Martínez, 2004). Debido a esto, se ha propuesto que existe un efecto agudo de la nutrición sobre la tasa de ovulación (Lindsay *et al.*, 1993), el cual es mediado a nivel intraovárico por hormonas metabólicas y/o factores de crecimiento (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004).

### **3.1.1.2 Métodos utilizados para incrementar la tasa de ovulación**

Con el incremento de la tasa ovulatoria se busca aprovechar la capacidad genética de la hembra para tener partos múltiples de manera fisiológica. Bajo condiciones de manejo óptimas, los pequeños rumiantes tienen la capacidad de criar de manera eficiente 2 o 3 crías. Sin embargo, los partos múltiples de más de 3 crías son indeseables, debido a la alta mortalidad de las crías en los primeros días de vida. Por otra parte, el aumento de la tasa de ovulación también se ha utilizado para aprovechar el potencial genético de las hembras de alta productividad mediante transferencia embrionaria. Existen diversos métodos que permiten incrementar la tasa ovulatoria, entre los que destacan los nutricionales, hormonales y genéticos.

#### **3.1.1.2.1 Nutricionales**

La nutrición es el principal factor ambiental que determina la tasa de ovulación en pequeños rumiantes. El efecto de los componentes de la dieta sobre la tasa de ovulación ha sido ampliamente estudiado. Aunque la suplementación de energía y proteína en la dieta incrementa la tasa de ovulación en ovejas (Abecia *et al.*, 1997), las infusiones intravenosas de glucosa también lo hacen (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>), lo que indica que la energía es el principal componente de la dieta que determina la tasa de ovulación en pequeños rumiantes.

Un incremento en el suplemento de energía puede estimular el desarrollo folicular e incrementar la tasa de ovulación en ovejas (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>). Este conocimiento ha sido utilizado de manera práctica, incrementando el aporte energético en la dieta durante periodos estratégicos para aumentar la tasa de ovulación, manejo conocido como flushing. Durante el flushing, se han utilizado diversos tratamientos en ovejas, como la sobrealimentación (Viñoles *et al.*, 2005), suplementación de grano de lupina

(Downing *et al.*, 1995<sup>b</sup>), infusiones intravenosas de glucosa y glucosamina (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004), infusiones intravenosas de aminoácidos de cadena ramificada (Downing *et al.*, 1995<sup>c</sup>) y la administración oral de soluciones glucogénicas (Rodríguez Iglesias *et al.*, 1996; Gutiérrez *et al.*, 2000; Martínez, 2004). El rango de duración de estos tratamientos es muy amplio. Se han utilizado tratamientos largos que empiezan desde 6 semanas antes del empadre. Sin embargo, la tendencia actual es utilizar tratamientos cortos que coincidan con los periodos críticos del crecimiento folicular (Hunter *et al.*, 2004), ubicados en la parte final de la fase lútea.

El mecanismo por el cual el flushing incrementa la tasa de ovulación aún no se comprende completamente. Los estudios realizados en bovinos y ovinos, muestran que el flushing aparentemente no altera el patrón de secreción de gonadotropinas. Sin embargo, se asocia con un incremento en las concentraciones de glucosa (Gutiérrez *et al.*, 1997<sup>a</sup>; Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>; Downing *et al.*, 1995<sup>b</sup>; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004; Viñoles *et al.*, 2005). En un estudio realizado en ovejas cateterizadas en la vena ovárica, se logró determinar que la glucosa es la principal fuente de energía en el ovario (Rabiee *et al.*, 1997), lo que sugiere que un incremento en el suministro de glucosa al ovario podría ser el estímulo que incrementa la tasa de ovulación.

La energía de la dieta estimula la esteroidogénesis en los folículos reclutados y seleccionados. Las ovejas sometidas a flushing presentan más folículos aromatasapositivos y concentraciones mayores de estradiol (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002). También se ha observado que hay una mayor cantidad de folículos reclutados en los animales tratados (Viñoles *et al.*, 2005).

Una consecuencia fisiológica del incremento de los niveles de glucosa en la dieta, es el incremento de la insulina circulante. Se ha propuesto que la respuesta al estímulo nutricional es mediada por el aumento de los niveles de insulina, el cual aumenta la utilización de glucosa a nivel ovárico, provocando un incremento de la tasa de ovulación (Downing *et al.*, 1995<sup>b</sup>). Williams *et al.* (2001) proponen tres mecanismos

por medio de los cuales la glucosa e insulina pudiera afectar la función folicular: 1) los cambios en la disponibilidad de glucosa alteran la capacidad esteroidogénica de las células foliculares; 2) alteración en la expresión de transportadores de glucosa en los tejidos ováricos (mediada por insulina), que incrementa el consumo de glucosa y; 3) los cambios de glucosa e insulina en la circulación llevan a un incremento en el consumo de glucosa, que altera la capacidad esteroidogénica y afecta la expresión de transportadores de glucosa.

La glucosa entra a las células por medio de una gran familia de transportadores de glucosa (GLUT-1 a GLUT-12). En ovarios de ovejas se han identificado GLUT-1 y GLUT-4 (Williams *et al.*, 2001). GLUT-1 se localiza en la membrana plasmática y GLUT-4 se encuentra almacenado en vesículas intracitoplasmáticas de las células foliculares. Se ha observado que GLUT-1 promueve el uso de la glucosa a nivel basal (Williams *et al.*, 2001), mientras que GLUT-4 permite la utilización de glucosa, estimulada por la insulina mediante la translocación de las vesículas que lo contienen hacia la membrana plasmática de la célula, lo que resulta en un incremento en el transporte de glucosa de 10 a 20 veces más (Rea y James, 1997).

Por otra parte, se ha observado que la insulina *per se* tiene efectos directos en ovario. La aplicación de una inyección de insulina de larga acción a cerdas con consumo restringido de energía, disminuye la atresia folicular (Matamoros *et al.*, 1991) y aumenta la tasa de ovulación (Almeida *et al.*, 2001). Estos resultados sugieren que los efectos de deterioro en la función ovárica ocasionados por la restricción alimenticia, son contrarrestados por la insulina.

También se ha propuesto que los efectos del flushing en ovario, son mediados por IGF-I. En ovejas sometidas a flushing, no se observan cambios en los niveles circulantes de IGF-I (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>); lo que sugiere que la expresión de dicho factor no responde a cambios agudos en la disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, el aumento en el suministro de glucosa al ovario puede aumentar la acción de IGF-I, mediante el aumento en la síntesis de receptores de tipo I para IGF (IGF-IR) y la disminución de las proteínas ligadoras de IGF (IGFBP's) presentes en el folículo

(Muñoz-Gutierrez *et al.*, 2004). Lo que permite concluir que la biodisponibilidad ovárica de IGF-I es más importante que su concentración.

### **3.1.1.2.2 Hormonales**

La administración de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) y FSH es el método más empleado para incrementar la tasa de ovulación, ya que ambas hormonas promueven el desarrollo de los folículos medianos y grandes (Lindsay, 1991).

Debido a su bajo costo, la eCG es la hormona más utilizada en los tratamientos de sincronización e inducción de estros en pequeños rumiantes. La aplicación de 300-400 UI de eCG, en la parte final de un tratamiento para sincronizar estros, incrementa la tasa de ovulación y la prolificidad en ovejas (Boscos *et al.*, 2002) y cabras (Ahmed *et al.*, 1998). Asimismo, la administración de 1,000-1,500 UI de eCG induce una respuesta superovulatoria en ovejas y cabras (Trejo, 1986; Saharrea *et al.*, 1998). En las hembras superovuladas con eCG, se observa una mayor proporción de animales con regresión prematura de cuerpos lúteos y una menor cantidad de embriones transferibles (Espinosa-Márquez *et al.*, 2004). La eCG es una hormona altamente glucosilada, lo que provoca que tenga una vida media larga. De esta manera, los efectos gonadotrópicos de la eCG se siguen produciendo aún después de la ovulación e inducen otro reclutamiento indeseable de folículos, los cuales producen estrógenos arriba de las concentraciones fisiológicas observadas en los primeros días de gestación, que afectan adversamente el desarrollo de los embriones.

Se han utilizado diversos tratamientos para disminuir los efectos secundarios de la superovulación con eCG. La inmunización contra eCG se ha utilizado para remover de la circulación la hormona que persiste después de que la hembra ha exhibido estro, pero los resultados obtenidos han sido variables. Las altas concentraciones de estrógenos después de un tratamiento de superovulación, también se asocian con la regresión prematura de cuerpos lúteos. Una estrategia para evitar la regresión prematura, consiste en eliminar los folículos responsables de las altas concentraciones de estrógenos durante los primeros días de la gestación. La aplicación de 1,000 UI de Gonadotropina Coriónica Humana (hCG), 84 horas después del inicio del estro, resulta en una mayor

cantidad de cuerpos lúteos normales y mayores concentraciones de progesterona en el día 6 de gestación (Saharrea *et al.*, 1998). La aplicación de esponjas impregnadas con FGA después del estro, aumenta la cantidad de embriones recuperados y transferidos en cabras superovuladas con eCG, aunque no logra inhibir la regresión prematura de los cuerpos lúteos (Espinosa-Márquez *et al.*, 2004).

El uso de la FSH ha sido restringido, debido a su alto costo. Las dosis de FSH generalmente se expresan en miligramos Armour, que es una unidad de actividad de una prueba biológica equivalente a 10 a 14  $\mu$ g de FSH pura. Durante el tratamiento para sincronizar el estro, la aplicación de una sola dosis de aproximadamente 10 mg de FSH, al retirar la fuente de progestágeno, es suficiente para soportar el crecimiento de folículos antrales y garantizar de manera satisfactoria la fertilidad en el estro subsecuente (Boscos *et al.*, 2002). Debido a la vida media corta de la FSH, se han desarrollado tratamientos de superovulación que implican la administración de 6-8 dosis decrecientes, aplicadas a intervalos de tiempo regulares y comenzando desde 72-24 h antes de retirar la fuente de progestágeno. La dosis total de FSH en ovejas y cabras es de 16-25 mg (Trejo, 1986; Chagas e Silva *et al.*, 2003). Con la utilización de FSH en el tratamiento superovulatorio se obtiene una mayor cantidad de folículos ovulados y embriones viables (Trejo, 1986). En ovejas tratadas con FSH hay una mayor eficiencia en la recuperación de embriones, comparadas con aquellas tratadas con eCG (Chagas e Silva *et al.*, 2003), lo que se asocia a un menor número de folículos presentes al momento del lavado. Por lo tanto, se puede concluir que, la aplicación de FSH requiere de un mayor manejo en comparación con la aplicación de eCG, aunque se obtienen mejores resultados utilizando la primera.

La inmunización contra hormonas esteroides (estrógenos, estrona, androstenediona y testosterona) resulta en un incremento de la tasa de ovulación y la proporción de partos múltiples en ovejas (Lindsay, 1991; Campbell *et al.*, 1991) y cabras (Roberts y Reeves, 1988). La inmunización contra hormonas esteroides inhibe la retroalimentación negativa en la liberación de GnRH ejercida por los estrógenos en hipotálamo y, de esta manera, lleva a un incremento en las concentraciones sanguíneas de LH y FSH en el momento que los folículos subordinados las requieren (McNatty *et*

*al.*, 1988; Campbell *et al.*, 1991). Esto se traduce en una mayor cantidad de folículos que llegan a ovular. La inmunización inicial contra androstenediona requiere de dos dosis, las cuales se aplican entre las semanas 5 y 2, antes del parto, mientras que la inmunización para la siguiente época reproductiva requiere de una sola dosis (Buckrell, 1997). Los animales con baja condición corporal no responden a la inmunización. Este método ofrece algunas ventajas con respecto a la administración de gonadotropinas, ya que no causa superovulación y no requiere de la sincronización del ciclo previo al estro (Land *et al.*, 1982).

La inhibina es secretada por las células de la granulosa de los folículos dominantes y ejerce una retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH a nivel de la hipófisis. En ovejas, la inmunización pasiva y activa contra inhibina produce aumento en las concentraciones de FSH y en la tasa de ovulación (Wheaton *et al.*, 1992). La administración de líquido folicular libre de esteroides, de origen equino (García *et al.*, 2001) y bovino (Henderson *et al.*, 1986) también incrementa la tasa de ovulación en ovejas. Aunque el líquido folicular es rico en inhibina, se ha observado que posterior a su administración existe un efecto de “rebote”, en el cual, las concentraciones suprimidas de FSH se incrementan. Por otra parte, es posible que el líquido folicular provoque la eliminación del folículo dominante y permita un aumento en el número de folículos reclutados por FSH (García *et al.*, 2001).

### **3.1.1.2.3 Genéticos**

Las razas actuales de ovejas y cabras han sido moldeadas por las adaptaciones fisiológicas a los cambios del ambiente y por la selección artificial a la que han sido sometidas, lo que ha ocasionado que los ecotipos se diversifiquen (Cueto *et al.*, 2006). Sin embargo, las características reproductivas como la tasa de ovulación y la prolificidad, se han basado en la selección artificial que el hombre ha realizado en las diferentes razas, lo que ha propiciado que dichas características sean mayores a las expresadas por sus antecesores silvestres.

El criterio de selección inicial para las hembras, se basó en la prolificidad, cuya heredabilidad es de 0.16 (Gong y Webb, 1996). Sin embargo, los avances fueron lentos,

porque esta característica es únicamente estimable en hembras en edad reproductiva que han concebido y mantenido la gestación (Waldron y Thomas, 1992).

Posteriormente, se determinó que la tasa de ovulación es la variable principal ligada a la variación genética en la prolificidad (Hanrahan, 2003). La selección con base en la tasa de ovulación, ha obtenido avances más rápido, porque la tasa de ovulación tiene una gran variabilidad genética y, además, puede ser determinada antes del parto y no depende de la concepción ni de una gestación exitosa (Waldron y Thomas, 1992). El rango de heredabilidad para la tasa de ovulación en ovejas va de 0.07 a 0.50, con una media de 0.29 (Lindsay, 1991). La identificación de genes mayores involucrados en la determinación de la tasa de ovulación, ha permitido implementar estrategias de cruzamientos entre los portadores y los no portadores de dichos genes, dando como resultado un avance genético más rápido (Davis, 2005).

La evidencia de variación en la tasa de ovulación y prolificidad de las diferentes razas de cabras, indican un comportamiento genético similar. Sin embargo, existen pocos estudios comparativos al respecto.

### **3.1.1.3 Desarrollo folicular**

El desarrollo folicular ó foliculogénesis es el proceso por medio del cual los folículos ováricos crecen y se desarrollan. Comienza con la formación de folículos primordiales que en algún momento de la vida reproductiva comenzarán a crecer hasta ovular, o bien, sufrirán atresia.

En rumiantes se ha estimado que la foliculogénesis dura entre 4 y 6 meses (Campbell *et al.*, 2003) y que solo el 0.1-0.2% de los folículos presentes al nacimiento llegan a ovular (Webb *et al.*, 2003).

En los rumiantes, los folículos en diferentes etapas de desarrollo se encuentran alojados en la corteza ovárica. Los folículos primordiales son microscópicos, representan el estado más pequeño e inmaduro de los folículos. Están formados por una



capa de células aplanadas que rodea al ovocito. Los folículos primordiales comienzan su desarrollo bajo el estímulo de diversos factores intraováricos y hormonales (McGee y Hsueh, 2000); las células aplanadas comienzan a dividirse y cambian morfológicamente para adquirir una forma cuboidal, dando origen al folículo primario. Las células cuboidales se multiplican formando dos o más capas, esta estructura recibe el nombre de folículo secundario. En este estadio se comienza a observar una capa delgada y translúcida de mucopolisacáridos que recubre al ovocito y recibe el nombre de zona pelúcida. En el folículo terciario, además de las estructuras ya mencionadas, se comienza a observar una cavidad llena de fluido que recibe el nombre de antro folicular. El folículo terciario continuará su crecimiento y cuando llega al estado preovulatorio se conoce como folículo de Graff. En pequeños rumiantes se ha estimado que, independientemente del estado fisiológico en que se encuentre el animal, en el ovario existen entre 12,000 y 86,000 folículos preantrales y entre 50 y 400 folículos antrales, de los cuales de 10 a 40 son visibles en la superficie ovárica (Rubianes, 2000).

Para su estudio, el desarrollo folicular se ha dividido dos etapas: una independiente de gonadotropinas (basal) y otra dependiente de ellas (tónica). En la etapa basal se ha identificado un crecimiento lento que dura aproximadamente 130 días y un crecimiento rápido que dura entre 25 y 35 días, en el cual se forma el antro. La etapa tónica dura de 3 a 5 días y en ella el folículo madura completamente (Lindsay *et al.*, 1993).

#### **3.1.1.3.1 Crecimiento preantral**

El crecimiento preantral se define como el proceso que sufre un folículo desde que es primordial hasta que se forma el antro. Esta etapa ocupa la mayor parte de la foliculogénesis. Comienza con un reclutamiento inicial (McGee y Hsueh, 2000), en el cual los folículos primordiales que se encuentran suspendidos en su desarrollo reciben algún tipo de señal y comienzan a crecer, mientras que el resto de los folículos permanece sin cambios. Se ha propuesto que esta señal consiste en un estímulo proporcionado por hormonas metabólicas y/o factores intraováricos como insulina, IGF-I, Factor de Crecimiento Epidermal (EGF), Hormona anti-Mülleriana (AMH), BMP-15, Factor de Crecimiento Diferenciante (GDF-9), Factor de Crecimiento

Transformante tipo  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), activina, factor kit-C, factor Steel, estrógenos y andrógenos, entre otros (Fortune, 2003).

El papel de la insulina e IGF-I en el reclutamiento folicular inicial ha sido ampliamente estudiado en rumiantes. Se ha observado que la adición de insulina a folículos preantrales de bovino estimula su crecimiento, mientras que el IGF-I lo inhibe. Sin embargo, IGF-I es necesario para el desarrollo posterior del folículo (Yang y Fortune, 2003).

### **3.1.1.3.2 Crecimiento antral**

Los folículos antrales están compuestos por tres capas diferentes de células: teca externa, teca interna y granulosa. La teca externa es tejido conectivo que rodea y da soporte al folículo. Las células de la teca interna se localizan enseguida y bajo el estímulo de la LH producen andrógenos. Entre las células de la teca interna y de la granulosa existe una membrana basal. Las células de la granulosa responden al estímulo de la FSH y producen principalmente estrógenos e inhibina. Entre las células de la granulosa existe una cavidad llena de fluido.

El crecimiento antral abarca desde la formación del antro hasta la ovulación, o bien, la muerte del folículo por atresia. En la rata se ha observado que es completamente dependiente de las concentraciones de FSH y LH (McGee y Hsueh, 2000).

Mediante el uso de ultrasonografía, se ha logrado determinar que el crecimiento antral en rumiantes ocurre en forma de oleadas (Ginther y Kot, 1994). Las oleadas foliculares se presentan aún antes de la pubertad, en etapas tempranas de gestación, durante el anestro estacional y a lo largo del ciclo estral. En ovejas y cabras, cada onda folicular emerge cada 4 o 5 días y está compuesta por un grupo de folículos reclutados (cohorte) de aproximadamente 2 a 3 mm de los cuales alguno(s) crecerá(n) hasta un diámetro de 4-7 mm de diámetro y ovularán, mientras que el resto sufrirá atresia (Bartlewski *et al.*, 1999).

Existen cuatro etapas en el crecimiento antral: reclutamiento, selección, dominancia y atresia.

La etapa de reclutamiento se caracteriza por un pico transitorio de FSH, seguido de la emergencia de una cohorte (Webb *et al.*, 2003). El pico transitorio de FSH estimula la proliferación celular de los folículos antrales pequeños, los cuales incrementan la expresión de citocromo P450 SCC y citocromo P450 aromatasasa (Garverick *et al.*, 2002).

En la etapa de selección, una parte de los folículos reclutados es seleccionada para continuar su desarrollo. Dos de las principales acciones de la FSH en las células de la granulosa, son la inducción de la actividad aromatasasa que conlleva a un aumento en las concentraciones periféricas de estrógenos y la inducción de receptores para LH (LHr), proceso necesario para el establecimiento de la dominancia.

Conforme los folículos seleccionados crecen, producen cantidades cada vez mayores de inhibina-A y estradiol, ejerciendo un efecto inhibitorio transitorio en la secreción de FSH a nivel de la hipófisis (Bleach *et al.*, 2001). Simultáneamente, la expresión de LHr permite que los folículos en maduración reduzcan su dependencia a FSH y puedan responder a LH. Este mecanismo, permite la maduración folicular en presencia de concentraciones insuficientes de FSH, que no pueden soportar el desarrollo de los folículos subordinados. En ovejas, los folículos comienzan a mostrar LHr cuando miden aproximadamente 3.5 mm de diámetro (Campbell *et al.*, 2003).

Aún no está claro qué es lo que determina que un folículo se convierta en dominante o subordinado. Se ha propuesto que la adquisición de LHr en las células de la granulosa es lo que diferencia a los folículos dominantes de los subordinados (Bao *et al.*, 1997). También se ha observado que los folículos dominantes tienen un lecho vascular más grande por acción de factores angiogénicos como el Factor de Crecimiento Endotelio Vascular (VEGF), por lo que se ha propuesto que también tienen un suministro mayor de gonadotropinas con respecto a los folículos subordinados (Barboni *et al.*, 2000). Por otra parte, se ha determinado un papel esencial

de los componentes del sistema IGF en el establecimiento de la dominancia. De acuerdo con Nicholas *et al.* (2002), existe una mayor disponibilidad y acción de IGF-I en los folículos dominantes debido a que las concentraciones intrafoliculares de proteínas ligadoras de IGF (IGFBP-2, IGFBP-3 e IGFBP-4) son menores, lo que indica que la disponibilidad de IGF-I es más importante que su concentración folicular.

La atresia folicular se produce en la mayoría de los folículos inicialmente reclutados y ocurre mediante apoptosis de las células somáticas y del ovocito. Aunque se acepta que la atresia puede ocurrir en cualquier etapa del desarrollo folicular, en estudios recientes se ha determinado que no se presenta con la misma intensidad en todos los estadios del desarrollo folicular. La mayoría de los folículos se vuelven atrésicos en la octava o novena generación de las células de la granulosa, antes de este estado, los folículos pueden desarrollarse en presencia de cantidades basales de gonadotropinas, hormonas metabólicas y factores de crecimiento. Sin embargo, cuando los folículos alcanzan la octava o novena generación de células de la granulosa, requieren que tales hormonas y factores se incrementen (Hirshfield, 1991). En un estudio realizado en cabras, la administración de 30 mg de FSH (día 9 del ciclo estral) incrementó la cantidad de folículos medianos y grandes, redujo la apoptosis de los folículos medianos e incrementó la expresión de RNAm para IGF-I. Al realizar estudios *in vitro*, se observó que el porcentaje de células de la granulosa en apoptosis disminuyó de 70 al 10% cuando FSH e IGF-I se adicionaron al medio de cultivo. Los resultados del estudio sugieren que la FSH incrementa el desarrollo de folículos medianos al suprimir la apoptosis de las células de la granulosa mediante un incremento en la producción de IGF-I (Yu *et al.*, 2003).

Estudios recientes han mostrado que tanto en el crecimiento preantral como en el antral, existe un efecto sinérgico entre la acción de los factores de crecimiento y las gonadotropinas, que modula la sobrevivencia, proliferación y diferenciación de células foliculares y asegura el crecimiento de folículos pequeños al aumentar la mitosis de las células granulosas. El crecimiento preantral puede llevarse a cabo aún en ausencia de gonadotropinas. Sin embargo, se ha comprobado una disminución del reclutamiento inicial de folículos en ovejas hipofisectomizadas (Dufour *et al.*, 1979). Un modelo de

desarrollo folicular propuesto por Zeleznik (2004) hipotetiza que la FSH estimula el desarrollo y/o reduce la atresia de folículos preantrales. Por otra parte, aunque el crecimiento antral es dependiente de las concentraciones de gonadotropinas, también se ha demostrado que es influido por insulina e IGF-I. La insulina e IGF-I pueden actuar incrementando el crecimiento, la síntesis de estradiol y la respuesta a FSH en células de la granulosa de rumiantes, y su ausencia incrementa la atresia folicular (Silva y Price, 2000; Selvaraju *et al.*, 2003).

### **3.1.1.3.3 Dinámica folicular**

Como ya se ha mencionado, en rumiantes el desarrollo folicular se caracteriza por un patrón parecido a oleadas (Ginther y Kot, 1994). Una oleada folicular o cohorte se define como la emergencia y crecimiento sincronizado de un grupo de folículos antrales pequeños, de los cuales algunos son seleccionados para crecer hasta un tamaño mayor a 3 mm de diámetro (Bartlewski *et al.*, 1999).

Aunque el rango de oleadas foliculares durante el ciclo estral en pequeños rumiantes va de 2 a 5, el promedio en ovejas es de 3, y en cabras 4. Los días de emergencia de las oleadas foliculares en las ovejas son 0-3, 7 y 12, mientras que en cabras son los días 0, 6-7, 11 y 15 (Evans, 2003; Lassala *et al.*, 2004).

Las características de las oleadas foliculares en pequeños rumiantes han sido revisadas recientemente por Rubianes y Menchaca (2003), quienes encontraron varias características comunes observadas en los trabajos realizados: 1) al menos un folículo alcanza un tamaño mayor a 5 mm de diámetro por oleada, 2) el folículo más grande de cada oleada crece por 5 a 7 días y tiene una tasa de crecimiento de 1 mm por día, 3) conforme avanza la fase lútea y se aumentan las concentraciones de progesterona el periodo entre oleadas se va acortando, 5) la ovulación de dos folículos ocurre con menos de 24 h de diferencia y 6) si la luteólisis coincide con la presencia de una cohorte en crecimiento, los folículos dominantes llegarán a ovular.

Una pequeña parte de los folículos ovulatorios proviene de oleadas diferentes. En ovejas se ha observado que en la mayoría de los casos, los folículos ovulatorios se

desarrollan de la última oleada folicular. Sin embargo, el examen por ultrasonido ha mostrado que los folículos ovulatorios pueden derivar de la penúltima y última oleada, lo que lleva a la introducción del concepto de codominancia para tratar de explicar la presencia de dos o más folículos grandes en cada oleada de desarrollo folicular (Gibbons *et al.*, 1999).

### **3.1.2 SUPERVIVENCIA EMBRIONARIA**

La supervivencia embrionaria es otro de los factores que determina la prolificidad. En ovejas se ha estimado que solo entre 70 y 80% de los óvulos fertilizados llegan al término de la gestación, ocurriendo la mayor parte de las pérdidas embrionarias durante el primer mes (Edey, 1969; Hanrahan, 2003).

La mayoría de los estudios sobre supervivencia embrionaria realizados en cabras y ovejas, se basan en la diferencia individual existente entre la tasa de ovulación y el número de crías nacidas por hembra.

#### **3.1.2.1 Desarrollo embrionario temprano**

Después de su formación, el cigoto sufre una serie de divisiones mitóticas, este proceso es conocido como segmentación. La primera división genera un embrión de dos células, las cuales son llamadas blastómeros. Los blastómeros sufren divisiones subsiguientes dentro de la zona pelúcida, lo que provoca que el embrión siga manteniendo su tamaño. Los blastómeros de las etapas de 2 a 8 células son totipotenciales, esto significa que a partir de ellos se puede originar cualquier tipo de célula especializada. Por otra parte, el material genómico del embrión se expresa a partir de la etapa de 8 células (Crosby *et al.*, 1988), lo que quiere decir que antes de ese estado la síntesis de proteínas se lleva a cabo con el RNA y los ribosomas que provienen del ovocito.

Cuando los blastómeros no se pueden contar de manera precisa, el embrión es llamado mórula. Las células de la mórula que ocupan la parte externa se compactan

más que las del centro y se comienzan a separar en dos poblaciones diferentes: células externas y células internas. El ambiente uterino juega un papel muy importante en este proceso. En estudios *in vitro*, se ha observado que el aislamiento del embrión provoca trastornos en el establecimiento de ambas poblaciones celulares (Kaye y Gardner, 1999). Las células internas desarrollan uniones de hendidura que permiten la comunicación intercelular, mientras que las células externas desarrollan uniones estrechas que alteran la permeabilidad celular. Las células externas de la mórula tienen una bomba activa de sodio, la cual bombea iones de sodio a la porción central. Conforme la fuerza iónica aumenta adentro, el agua difunde a través de la zona pelúcida, al interior del embrión y comienza a formar una cavidad llena de fluido (blastocèle).

Cuando una cavidad es detectable, el embrión es denominado blastocisto. En el blastocisto se pueden reconocer dos tipos de células: la masa celular interna y el trofoblasto. La masa celular interna dará origen al embrión, mientras que el trofoblasto al corion. Conforme el blastocisto crece, la zona pelúcida se comienza a debilitar. El crecimiento y la acumulación de fluido dentro del blastocisto, la producción de enzimas proteolíticas por las células del trofoblasto y las contracciones intermitentes del blastocisto, son factores que incrementan la presión y causan la ruptura de la zona pelúcida, proceso conocido como eclosión o liberación (Senger, 2003).

Durante el desarrollo embrionario temprano, la supervivencia del embrión depende de la función adecuada del cuerpo lúteo. Se ha demostrado un mayor desarrollo en los embriones de ovejas tratadas con progesterona durante los primeros 3 días de gestación (Kleemann *et al.*, 1994). Este efecto ocurre por un estímulo en la secreción de las glándulas endometriales y un aumento en la expresión de factores de crecimiento y sus receptores en endometrio (Barnes, 1999). En ausencia de uniones anatómicas, el desarrollo embrionario temprano depende de los nutrientes, hormonas y factores de crecimiento presentes en el medio uterino. Se ha observado que la progesterona altera la expresión en el endometrio de algunas proteínas del complejo IGF y del receptor de insulina. Así por ejemplo, la insulina e IGF-I modifican el

metabolismo celular embrionario, incrementando la proliferación y la diferenciación celular (Kaye y Gardner, 1999).

La ruptura de la zona pelúcida le permite al blastocisto crecer. En el día 11 en la oveja, el embrión experimenta un crecimiento logarítmico y una fase de elongación. Para el día 18 de gestación, el embrión se ha extendido hasta el cuerno uterino contralateral. El crecimiento rápido del embrión se debe en gran medida al desarrollo de las membranas extraembrionarias (saco vitelino, corion, amnios y alantoides). Las membranas extraembrionarias son indispensables para que el embrión se fije al útero. Por otra parte, la masa celular interna sufre un proceso conocido como gastrulación, durante el cual se forman las capas básicas del embrión: ectodermo, mesodermo y endodermo.

La migración embrionaria transuterina es rara en ovejas y cabras monoovulatorias. Sin embargo, ocurre antes del día 15 cuando existen ovulaciones múltiples en el mismo ovario (Nephew *et al.*, 1992). La migración intrauterina tiende a distribuir equitativamente el número de embriones dentro del útero. Así, el embrión tiene un área mayor para desarrollarse y crecer. Resultados de experimentos realizados en ovejas, indican que la migración transuterina es estimulada por la liberación embrionaria de estrógenos y prostaglandina E<sub>2</sub> (Nephew *et al.*, 1991, 1992).

El reconocimiento materno de la gestación constituye un evento crítico en el desarrollo embrionario temprano. Mediante este mecanismo, el embrión ovino sintetiza proteínas conocidas como Interferón tau (IFN- $\tau$ ) en los días 12-15, mientras que el embrión caprino lo hace en los días 14-17 (Bazer *et al.*, 1997). El IFN- $\tau$  evita la regresión del cuerpo lúteo, regulando la síntesis pulsátil de PGF2 $\alpha$ . La secreción de PGF2 $\alpha$  depende de la presencia de receptores de oxitocina (rOT) en el endometrio. El IFN- $\tau$  bloquea la síntesis de rOT en endometrio.



### **3.1.2.2 Factores que afectan la supervivencia embrionaria**

El desarrollo del embrión depende del potencial intrínseco de este y de un ambiente uterino adecuado. Dado que el embrión deriva de los gametos, los defectos en la formación o desarrollo tanto del ovocito como del espermatozoide, pueden disminuir la supervivencia embrionaria. También, es probable que ocurra una mortalidad embrionaria debido a defectos genéticos ocurridos durante etapas muy tempranas del desarrollo (Edey, 1969); sin embargo, la mayor parte de las pérdidas embrionarias se debe a condiciones ambientales adversas.

Los principales factores que determinan la supervivencia embrionaria son: genéticos, edad de la hembra, nutrición, tasa de ovulación, tipo de ovulación, temperatura, tóxicos y enfermedades, entre otros.

#### **3.1.2.2.1 Genética**

Los embriones genéticamente anormales contribuyen con una proporción constante de pérdidas prenatales. En diversos estudios realizados en ovejas, se ha estimado que las pérdidas embrionarias por anomalías genéticas, después del día 2, pueden alcanzar un porcentaje mayor al 15% (Nancarrow, 1994).

La variabilidad genética para la supervivencia embrionaria es muy baja en pequeños rumiantes. Sin embargo, existen algunas diferencias detectadas entre las diferentes razas, e incluso, entre líneas de una misma raza. Se ha determinado que las ovejas Merino con baja tasa de ovulación son capaces de albergar una cantidad de embriones igual a la que albergan las ovejas con alta tasa de ovulación, sin que se incremente la mortalidad embrionaria (Bindon *et al.*, 1971). Por otra parte, el cruzamiento de razas prolíficas como Finnish Landrace y Booroola con ovejas menos prolíficas, muestra un efecto positivo en la capacidad uterina de las crías, lo que indica un efecto de cruzamiento (Meyer *et al.*, 1983). Esto indica que las diferencias en supervivencia embrionaria, más que relacionarse con la tasa de ovulación, están relacionadas principalmente con la eficiencia uterina que existe entre las diferentes razas y sus cruas (Michels *et al.*, 1998).

### **3.1.2.2.2 Edad de la hembra**

La edad de la hembra también influye en la supervivencia embrionaria. Se ha observado que las ovejas primaras tienen más pérdidas embrionarias que las adultas. Al comparar las pérdidas embrionarias en ovejas primaras y maduras con gestación simple, se observaron que estas fueron menores en las ovejas maduras (Kleemann y Walter, 2005). Se han realizado varios estudios en ovejas para explicar este comportamiento reproductivo. Lane *et al.* (1993) compararon el transporte y distribución de espermatozoides después de la inseminación artificial, en ovejas maduras y ovejas de primer y tercer estros. Ellos recuperaron un porcentaje mayor de espermatozoides de la parte anterior del aparato reproductor de las ovejas maduras y de las de tercer estro. Sin embargo, el transporte y distribución de los espermatozoides no parece ser uno de los factores limitantes que regulan la fertilidad en ovejas primaras. La calidad de los embriones y el ambiente uterino en ovejas primaras y maduras también han sido evaluados. Los resultados indican que los embriones de ovejas primaras tienen un potencial intrínseco bajo para desarrollarse en el útero de las ovejas primaras y adultas. Por otra parte, también se han logrado determinar condiciones subóptimas en el útero de las ovejas jóvenes, las cuales tienen un efecto de deterioro sobre el embrión (Quirke y Hanrahan, 1977). Por lo tanto, se puede concluir que la menor supervivencia embrionaria en las hembras primaras, se debe a que estas aún no han alcanzado la madurez plena de los sistemas que controlan la actividad reproductiva y, por lo tanto, son más susceptibles a padecer pérdidas embrionarias.

### **3.1.2.2.3 Nutrición**

El metabolismo energético en el embrión es bajo inicialmente, y depende de la fosforilación oxidativa para la generación de ATP. Durante el desarrollo temprano, el embrión muestra preferencia por el piruvato, como fuente primaria de energía (Leese y Barton, 1984). El consumo de glucosa y su transformación a lactato es bajo en las primeras divisiones, pero se incrementa durante la etapa de mórula. El consumo celular de glucosa es facilitado por algunos transportadores. En embriones bovinos se ha detectado la presencia de RNAm que codifica para los transportadores de glucosa GLUT-1, GLUT-3, GLUT-4 y GLUT-8 (Sinclair *et al.*, 2003). GLUT-1 y GLUT-3 proveen de una captación basal de glucosa, mientras que GLUT-4 y GLUT-8 proveen

de una captación de glucosa estimulada por insulina. Por lo tanto, la insulina puede jugar un papel importante en el desarrollo embrionario temprano, regulando el consumo de glucosa. El incremento en los niveles de glucosa inducido por la dieta, estimula la secreción materna de insulina. Varios estudios han demostrado un efecto positivo de la insulina en el desarrollo embrionario temprano. La adición de insulina al medio de cultivo incrementa la tasa de segmentación y la proporción de embriones que llegan a etapa de blastocisto, y disminuye la cantidad de cuerpos apoptóticos en embriones de bovino (Byrne *et al.*, 2002; Augustin *et al.*, 2003). Se ha sugerido que la insulina actúa en los embriones como un factor de sobrevivencia, bloqueando la apoptosis (Byrne *et al.*, 2002). Sin embargo, se ha observado que las concentraciones altas de insulina e IGF-I desencadenan la apoptosis en embriones de ratón (Chi *et al.*, 2000). Lo que sugiere que los efectos adversos de las altas concentraciones de insulina son provocados por la internalización de sus receptores, dando como resultado que se suprima la captación celular de glucosa estimulada por esta hormona.

Los efectos de la nutrición sobre el desarrollo embrionario temprano han sido abordados en innumerables investigaciones. Se ha observado que los extremos en el plano nutricional afectan de manera adversa el crecimiento y la sobrevivencia de los embriones de varias especies.

Los estados de desnutrición comprometen el crecimiento e incrementan las pérdidas embrionarias (Rhind *et al.*, 1989). Un bajo plano de nutrición puede retardar el desarrollo embrionario, comprometiendo la supervivencia del embrión en periodos críticos (Rhind *et al.*, 1989; Abecia *et al.*, 1997). Aparentemente, las ovejas jóvenes y viejas con condición corporal baja, son más susceptibles a padecer pérdidas embrionarias. En cambio, las ovejas con buena condición corporal, requieren de un periodo de desnutrición severo para sufrir una reducción en la supervivencia embrionaria (Nancarrow, 1994). En cabras también se han reportado mayores pérdidas embrionarias en las hembras con alimentación restringida (Mani *et al.*, 1992).

La sobrealimentación incrementa las pérdidas embrionarias. Este efecto se ha tratado de explicar en función del flujo sanguíneo hepático durante los periodos de

sobrealimentación y la tasa de degradación de la progesterona circulante. Se ha observado que el flujo sanguíneo hepático aumenta en ovejas sobrealimentadas (Bensadoun y Reid, 1962). Parr *et al.* (1987) hipotetizaron que la disminución de la supervivencia embrionaria en hembras sobrealimentadas, es causada por los aumentos del flujo sanguíneo y la degradación hepática de la progesterona circulante. Otra posibilidad latente es que las altas concentraciones de glucosa e insulina provocadas por la sobrealimentación, sean tóxicas para el embrión (De Hertogh *et al.*, 1991; Chi *et al.*, 2000).

#### **3.1.2.2.4 Factores endócrinos**

Cuando la ovulación no ha sido precedida por un periodo de exposición a progesterona, es frecuente que se formen cuerpos lúteos de corta duración, que entran en regresión después del día 4 (Hunter, 1991). Este fenómeno es conocido como regresión prematura del cuerpo lúteo. La regresión prematura del cuerpo lúteo se presenta de manera natural después de la primera ovulación puberal, estacional o posparto. También es frecuente en tratamientos de inducción de la ovulación en los que se utiliza GnRH (Garverick *et al.*, 1992). La regresión prematura del cuerpo lúteo causa la pérdida de la gestación en curso, por lo que es una causa de infertilidad en pequeños rumiantes.

#### **3.1.2.2.5 Tasa de ovulación**

La tasa de ovulación se relaciona de manera inversa con la supervivencia embrionaria. Existen evidencias que muestran que la oportunidad de que un embrión sobreviva, disminuye conforme la tasa de ovulación se incrementa. Los valores de supervivencia embrionaria estimados en ovejas con 1, 2 y 3 ovulaciones, fueron 81, 76 y 66%, respectivamente (Kelly, 1984). Por su parte, Kleemann y Walker (2005) observaron una sobrevivencia embrionaria de 83.4 y 56.2% para las ovejas con ovulaciones simples y dobles, respectivamente. En cabras se han realizado pocos estudios al respecto. Aunque no se han observado diferencias estadísticas de mortalidad embrionaria entre las cabras con ovulación simple y múltiple, el comportamiento sigue la misma tendencia observada en ovejas (Anwar y Ahmad, 1999).

### **3.1.2.2.6 Tipo de ovulación**

Tomando como criterio el sitio de ovulación, las ovulaciones se pueden clasificar como unilaterales o bilaterales. Las unilaterales se presentan cuando 2 o más ovulaciones ocurren en un solo ovario, mientras que en las bilaterales, las ovulaciones ocurren en ambos ovarios. En ovejas y cabras se ha observado que cuando ocurren ovulaciones unilaterales, existe migración transuterina de los embriones (Nephew *et al.*, 1992; Anwar y Ahmad, 1999). Mediante la migración transuterina, los embriones se distribuyen de manera equitativa dentro del útero. Edey (1966) propuso que la probabilidad de supervivencia es mayor en los embriones que no migran que en aquellos que si lo hacen. Las ovejas con ovulación bilateral tienden a mostrar valores de supervivencia embrionaria más altos (Scaramuzzi y Downing, 1997; Wilkins, 1997). Esto indica un riesgo ligero de muerte embrionaria durante la migración del embrión.

### **3.1.2.2.7 Temperatura**

Las altas temperaturas al momento de la monta, afectan la fertilización y la supervivencia embrionaria. Se ha observado que los embriones en etapa de segmentación, son más sensibles a las altas temperaturas (Thwaites, 1967). También se observó que cuando el estrés calórico se produce inmediatamente después de que ocurre la fertilización, se incrementa la proporción de embriones anormales. El mecanismo por el cual el estrés calórico induce mortalidad embrionaria no está completamente comprendido. Sin embargo, en bovinos se ha observado una disminución del peso del embrión (Biggers *et al.*, 1987) y de la producción de IFN- $\tau$  en el día 17 (Putney *et al.*, 1988). Probablemente el tamaño pequeño de los embriones influya negativamente en su capacidad para producir las señales bioquímicas que previenen la lisis del cuerpo lúteo.

### **3.1.2.3 Métodos utilizados para incrementar la supervivencia embrionaria**

La mayor parte de las pérdidas embrionarias es causada por factores ambientales adversos, esta particularidad hace que la supervivencia embrionaria pueda ser manipulada hasta cierto punto. Entre los principales métodos que se han utilizado para disminuir las pérdidas embrionarias se encuentran los nutricionales y los hormonales.

### 3.1.2.3.1 Nutricionales

La supervivencia embrionaria se ha buscado incrementar mediante la manipulación de la alimentación. En ovejas, se ha observado que el aumento de la dieta al 200% de los requerimientos nutricionales, se relaciona con la disminución de la tasa de gestación (Parr *et al.*, 1987). Sin embargo, en las ovejas alimentadas con el 150% de sus requerimientos nutricionales, se observó un mayor porcentaje de embriones en un estado de desarrollo más avanzado y de mayor tamaño (Rhind *et al.*, 1989; Abecia *et al.*, 1997). Esto permite sugerir que un aumento moderado de nutrientes en la dieta, favorece la supervivencia embrionaria mediante un desarrollo más rápido del embrión.

Actualmente se sabe que la insulina juega un papel muy importante en el desarrollo embrionario. Por medio de la alimentación se ha tratado de incrementar su concentración durante los primeros días de gestación. Así por ejemplo, la administración oral de propilenglicol incrementa las concentraciones de insulina en vacas lecheras, durante el periodo posparto (Miyoshi *et al.*, 2001). Este aumento de insulina se asoció con una mayor duración de la fase lútea, lo que puede indicar que la insulina también tiene efectos en el cuerpo lúteo.

El plano nutricional al que son sometidos los animales, también influye en las concentraciones circulantes de progesterona. En ovejas se ha demostrado una relación inversa entre el plano de nutrición y las concentraciones de progesterona. Las ovejas alimentadas con una dieta que proporciona el 50% de sus requerimientos nutricionales tuvieron mayores concentraciones de progesterona (Parr y Cumming, 1982). Por su parte, Kiyama *et al.* (2004) observaron que la restricción total de la dieta entre los días 7 y 11 del ciclo, causó un incremento en las concentraciones de progesterona. Se ha observado que la restricción alimenticia provoca un flujo reducido de sangre al hígado (Bensadoun y Reid, 1962), por lo que la tasa de degradación de la progesterona puede estar disminuida, resultando en un incremento de progesterona circulante, sin alterar su secreción (Parr y Cumming, 1982). Por otra parte, en ovejas alimentadas con una dieta que contenía el 200% de sus requerimientos nutricionales, se observó una disminución

en las concentraciones de progesterona. Este efecto también se ha explicado en función del flujo sanguíneo hepático (Parr *et al.*, 1987).

### **3.1.2.3.2 Hormonales**

Se han utilizado diversos tratamientos hormonales para incrementar la supervivencia embrionaria. Entre ellos se pueden mencionar la suplementación de progesterona, la administración de insulina, la aplicación de hCG y GnRH, entre otros.

La progesterona tiene un papel esencial en el desarrollo embrionario temprano. En vacas se ha demostrado que la aplicación de progesterona exógena durante los primeros 4 días del ciclo, acelera el crecimiento y desarrollo embrionario y disminuye la mortalidad (Geisert *et al.*, 1991). La administración de progesterona durante los primeros 3 días de gestación también acelera el desarrollo embrionario en ovejas (Kleemann *et al.*, 1994), mientras que las concentraciones bajas de progesterona se asocian con un desarrollo embrionario retardado (Nephew *et al.*, 1991). La progesterona regula la actividad secretora de las glándulas endometriales y probablemente su administración produzca cambios cualitativos en la síntesis de proteínas durante la fase lútea. Por otra parte, las concentraciones de progesterona se relacionan con la habilidad del embrión para bloquear la lisis del cuerpo lúteo. En vacas se ha observado que una mayor producción de progesterona después del día 12 incrementa la síntesis de IFN- $\tau$  (Thatcher *et al.*, 1995) y previene la luteólisis.

Las concentraciones de progesterona se relacionan de manera positiva con la tasa de gestación (Remsen *et al.*, 1982). Por tal motivo, se han diseñado diversos tratamientos hormonales con hCG y GnRH, para incrementar las concentraciones de progesterona en los periodos críticos de desarrollo embrionario. Se ha observado que la aplicación de hCG y GnRH durante la gestación temprana, induce la formación de cuerpos lúteos accesorios. Por ejemplo, la aplicación de hCG 84 h después la monta, se relacionó con concentraciones de progesterona más altas en el día 6 en cabras superovuladas (Saharrea *et al.*, 1998). Sin embargo, en ese estudio no se logró determinar si las concentraciones más altas de progesterona se debieron a la inhibición de la regresión prematura de los cuerpos lúteos o a la formación de cuerpos lúteos

accesorios. En ovejas, se ha observado que la administración de hCG y GnRH el día 12 posmonta, disminuye la mortalidad embrionaria por un incremento en la función lútea (Cam *et al.*, 2002). También se ha observado que las ovejas tratadas tienen mayores tasas de ovulación y proporción de gestaciones múltiples (Cam y Kuran, 2004), mientras que los embriones muestran un mayor desarrollo y secretan cantidades mayores de IFN- $\tau$  (Nephew *et al.*, 1994).



## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 Localización

El experimento se realizó de septiembre a noviembre de 2004 en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Agrícola y Ganadera (CEIEPAG), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. El CEIEPAG se encuentra ubicado en Tequisquiapan, Querétaro (entre los 20° 36´ Latitud Norte y 99° 56´ Longitud Oeste), a una altitud de 1,920 metros sobre el nivel del mar. El clima de la región es semiseco templado (BS<sub>1</sub>K), con una temperatura anual promedio de 17.5° C y una precipitación pluvial media anual de 511.8 mm.

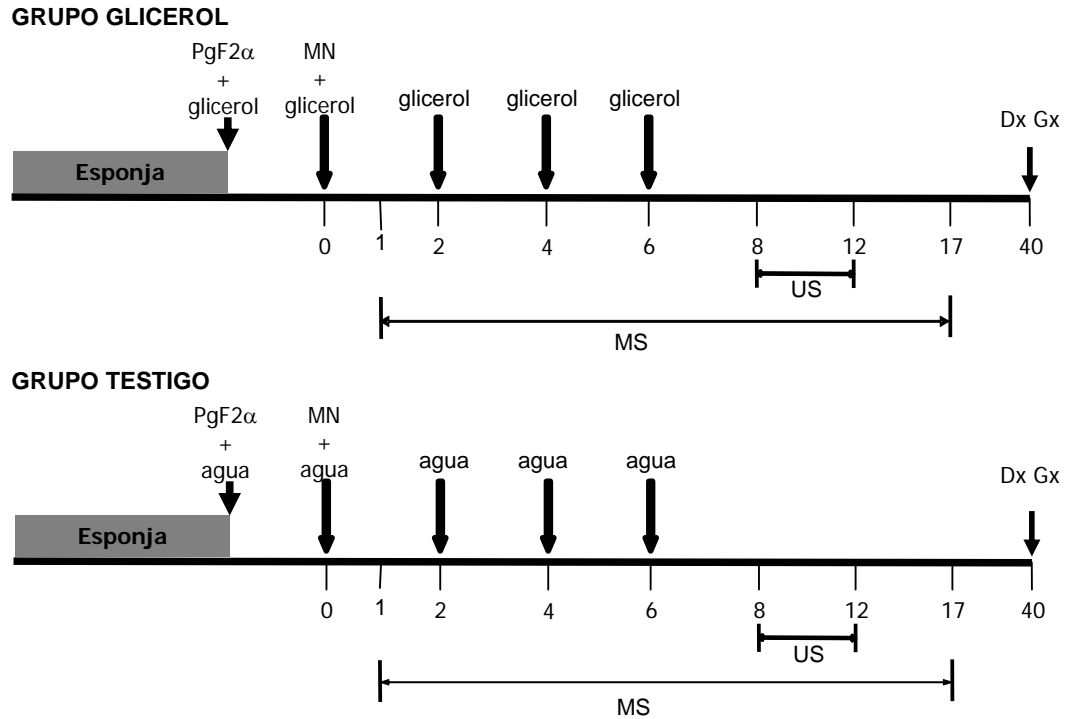
### 4.2 Animales

Se utilizaron 129 cabras (22 primíparas y 107 multíparas) de raza cruzada (Boer-Alpino Francés), sanas, con condiciones corporales entre 2 y 3 (Russel *et al.*, 1969). Las cabras primíparas pesaron en promedio  $28.77 \pm 4.89$  kg (media  $\pm$  desviación estándar), mientras que las multíparas pesaron  $46.74 \pm 8.96$  kg. Las cabras multíparas tenían un tiempo posparto promedio de 6 meses.

Las cabras permanecieron en estabulación y se alojaron en corrales dotados de suficiente espacio y comederos, así como una fuente permanente de agua de bebida. Todas las cabras recibieron en promedio 3 kg de una dieta consistente en heno de alfalfa (18.51% PC) y heno de sorgo (7.21% PC), con un porcentaje de inclusión de 40 y 60% respectivamente. El alimento se proporcionó a las 7:30 AM y a las 2:30 PM.

Se sincronizó el estro de todas las cabras con esponjas intravaginales impregnadas con 45 mg de acetato de fluorogestona (FGA; Chronogest<sup>®</sup>, Intervet, México), las cuales permanecieron *in situ* durante 12 días. Al retirar las esponjas se aplicó una dosis luteolítica de cloprostenol sódico (Celosil<sup>®</sup>, Schering-Plough, México). En ese momento, las cabras se distribuyeron al azar en los grupos glicerol (n=65) y testigo (n=64). Las cabras del grupo glicerol recibieron una toma oral de 100 ml de una solución a base de glicerol y agua (90:10 v/v; 4.86 cal/ml), la cual se repitió los días 0,

2, 4 y 6 postestro (día del estro = día 0). El grupo testigo recibió 100 ml de agua en lugar del glicerol (Figura 1).



**Figura 1.** Diagrama de actividades realizadas durante el estudio. PGF2α = Prostaglandina F2α; MN = Monta natural; US = Ultrasonografía; MS = Muestreo sanguíneo; Dx Gx = Diagnóstico de gestación.

La detección de estros se realizó con machos enteros provistos de un mandil y comenzó 24 horas después de retirar las esponjas. A las hembras detectadas en estro se les dio una monta con machos de fertilidad probada.

Entre los días 8 y 12 posmonta, se determinó la tasa de ovulación por el conteo de cuerpos lúteos a través de ecografía transrectal (Aloka, Echo Camera SSD-506), para este propósito se utilizó un transductor lineal de 7.5 MHz (Aloka, Co., LTD, Tokyo, Japan), al cual se le adaptó un soporte rígido que permitió su manipulación. El porcentaje de concepción se determinó mediante el diagnóstico de gestación por ultrasonografía el día 40 postestro. La determinación de la prolificidad se realizó contando los cabritos al momento del parto.

La tasa de ovulación se obtuvo dividiendo el total de cuerpos lúteos entre el número de hembras a las que se les realizó el conteo de cuerpos lúteos. La prolificidad fue definida como número de cabritos nacidos por hembra parida. El porcentaje de concepción se calculó dividiendo el total de las ovejas gestantes en el día 40 entre el número de ovejas montadas. El porcentaje de cabras con ovulación múltiple se obtuvo dividiendo el número de cabras que tuvieron 2 o más ovulaciones entre el número total de cabras. El porcentaje de cabras con parto múltiple se obtuvo dividiendo el número de cabras con 2 o más crías entre el número de cabras paridas.

### **4.3 Muestreo sanguíneo y procesamiento de las muestras**

Para determinar las concentraciones sanguíneas de glucosa, insulina y progesterona, se realizaron muestreos sanguíneos a 11 cabras seleccionadas al azar (6 del grupo glicerol y 5 del grupo testigo). Adicionalmente, en el día 4 posmonta se realizó un muestreo para determinar las concentraciones sanguíneas de glucosa e insulina en respuesta a la administración oral de glicerol. La primera muestra se tomó en ayuno y las siguientes a las 2, 4, 8 y 12 h después de la toma de glicerol. Asimismo, se tomaron muestras sanguíneas diariamente, a partir del día 1 hasta el día 17, para cuantificar las concentraciones de progesterona.

Las muestras de sangre (10 ml) se colectaron por venopunción de una de las venas yugulares, en tubos Vacutainer<sup>®</sup> que contenían 100 µg de citrato de sodio. Las muestras se centrifugaron a 1500 x g durante 10 minutos, para separar el plasma, el cual se conservó a -20 °C hasta su análisis en el Laboratorio de Endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. La determinación de las concentraciones de progesterona e insulina se realizó mediante radioinmunoanálisis en fase sólida (Coat-A-Count<sup>®</sup>, RIA kit, DPC; USA). En el caso de progesterona, la sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng/ml y un coeficiente de variación intraensayo de 4.2%; mientras que para insulina la sensibilidad fue 0.052 ng/ml y un coeficiente de variación intraensayo de 3.3%.

Los niveles sanguíneos de glucosa se determinaron por medio de espectrofotometría, para lo cual se utilizó el kit Sera-Pak<sup>®</sup> (Bayer de México, S. A. de C. V. México). El ensayo se basa en el método enzimático GOD/POD, en el cual la glucosa es transformada a ácido glucurónico y peróxido de hidrógeno por la enzima glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de hidrógeno en presencia de la enzima peroxidasa (POD) oxida el cromógeno (4-aminofenazona/fenol) convirtiéndolo en un compuesto de color rojo, al que posteriormente se le determina la absorbancia en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 505 nanómetros. El ensayo se realizó utilizando 8 µl de muestra y 1 ml de reactivo. Las muestras con el reactivo se incubaron a 37°C durante 15 minutos. Para calcular las concentraciones de glucosa, la absorbancia de la muestra se comparó con las absorbancias de un blanco (0 mg/dl de glucosa) y de un patrón (100 mg/dl de glucosa).

#### **4.4 Análisis estadístico**

La tasa de ovulación y la prolificidad se compararon entre grupos utilizando una t de Student. Los porcentajes de cabras con ovulaciones y partos múltiples, y el porcentaje de concepción, se compararon entre grupos mediante una prueba de Ji-cuadrada. Las concentraciones de glucosa, insulina y progesterona se analizaron por medio de un análisis de varianza para mediciones repetidas por el procedimiento Mixed (REML) del paquete estadístico SAS (SAS, 1988).

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Porcentaje de concepción, tasa de ovulación y prolificidad**

El porcentaje de concepción, la proporción de partos múltiples y la prolificidad fueron similares entre grupos ( $P > 0.05$ ; Cuadro 1). En el Cuadro 2 se muestran el porcentaje de ovulaciones múltiples y la tasa de ovulación; no se encontraron diferencias estadísticas entre grupos ( $P > 0.05$ ).

### **5.2 Concentraciones sanguíneas de insulina, glucosa y progesterona**

Las concentraciones de insulina (Figura 2) fueron mayores en las cabras del grupo glicerol que en las del grupo testigo ( $P < 0.05$ ). La elevación de los niveles de insulina en el grupo tratado se observó a las 2 y 4 horas posteriores al tratamiento ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, en los siguientes muestreos las concentraciones entre grupos fueron similares ( $P > 0.05$ ). Las cabras del grupo testigo mostraron concentraciones de insulina similares en todos los muestreos ( $P > 0.05$ ). Las concentraciones sanguíneas de glucosa no difirieron entre grupos ( $P > 0.05$ ; Figura 3).

Las concentraciones de progesterona entre los días 1 y 17 posmonta, fueron similares entre grupos ( $P > 0.05$ ; Figura 4). Dos cabras del grupo testigo presentaron regresión prematura del cuerpo lúteo, por lo que no fueron incluidas en el análisis estadístico de progesterona. En la Figura 5 se muestran las concentraciones de progesterona en una cabra con fase lútea normal y en la Figura 6 las concentraciones en una cabra con regresión prematura del cuerpo lúteo.

**Cuadro 1.** Prolificidad y porcentajes de concepción y de partos múltiples en cabras tratadas con glicerol por vía oral

Grupos	n	Porcentaje de concepción	Porcentaje de partos múltiples	Prolificidad (media $\pm$ desviación estándar)
Glicerol	65	85.7	54.4	1.60 $\pm$ 0.61
Testigo	64	88.3	52.9	1.58 $\pm$ 0.60
Total	129	86.9	53.6	1.59 $\pm$ 0.60

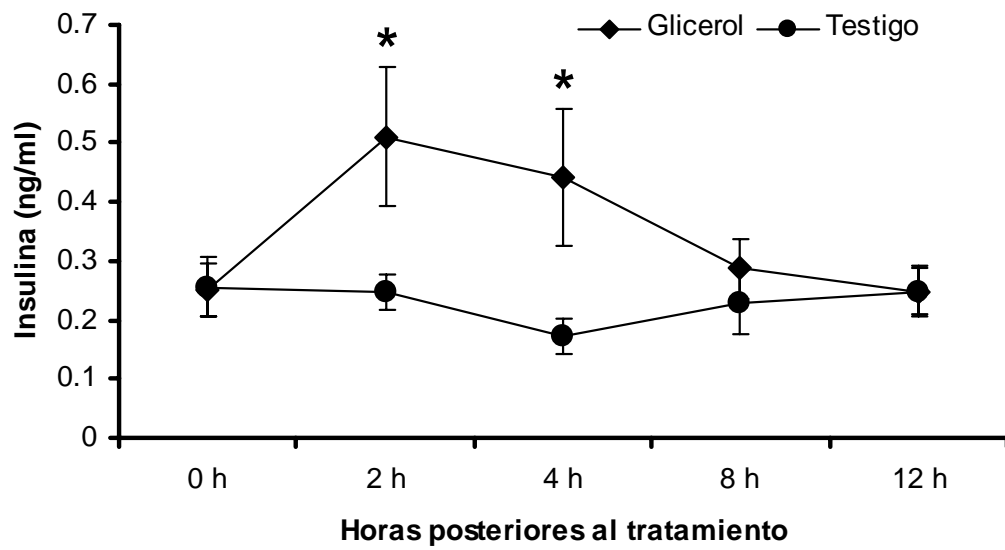
No se encontraron diferencias estadísticas entre grupos ( $P > 0.05$ )

**Cuadro 2.** Porcentaje de ovulaciones múltiples y tasa de ovulación en cabras tratadas con glicerol por vía oral

Grupos	n*	Porcentaje de cabras con ovulaciones múltiples	Tasa de ovulación (media $\pm$ desviación estándar)
Glicerol	45	64.4	1.80 $\pm$ 0.76
Testigo	49	71.4	1.84 $\pm$ 0.62
Total	94	68.1	1.82 $\pm$ 0.67

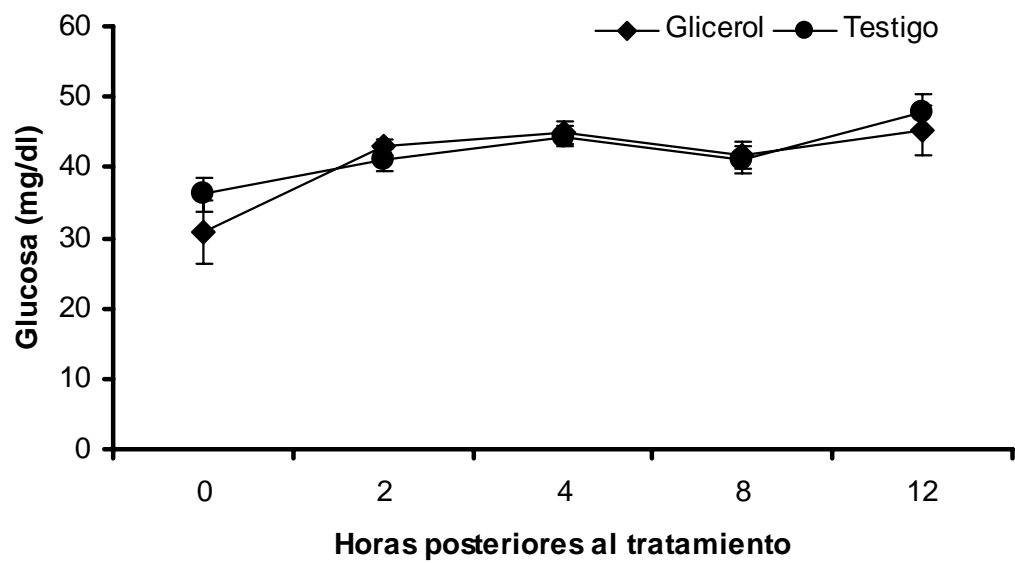
No se encontraron diferencias estadísticas entre grupos ( $P > 0.05$ ).

\*El número de cabras en las que se determinó la tasa de ovulación fue menor al número total de cabras del experimento, debido a que en dos lotes no se contó el número de cuerpos lúteos.

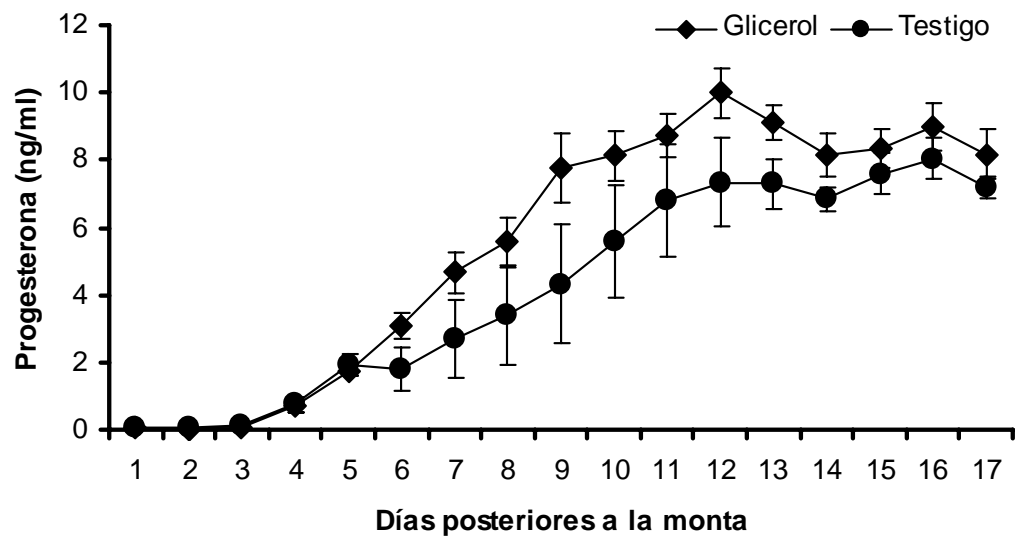


**Figura 2.** Concentraciones promedio de insulina ( $\pm$  error estándar) en cabras tratadas o no con glicerol por vía oral. \*Se encontró diferencia estadística entre grupos ( $P < 0.05$ ).

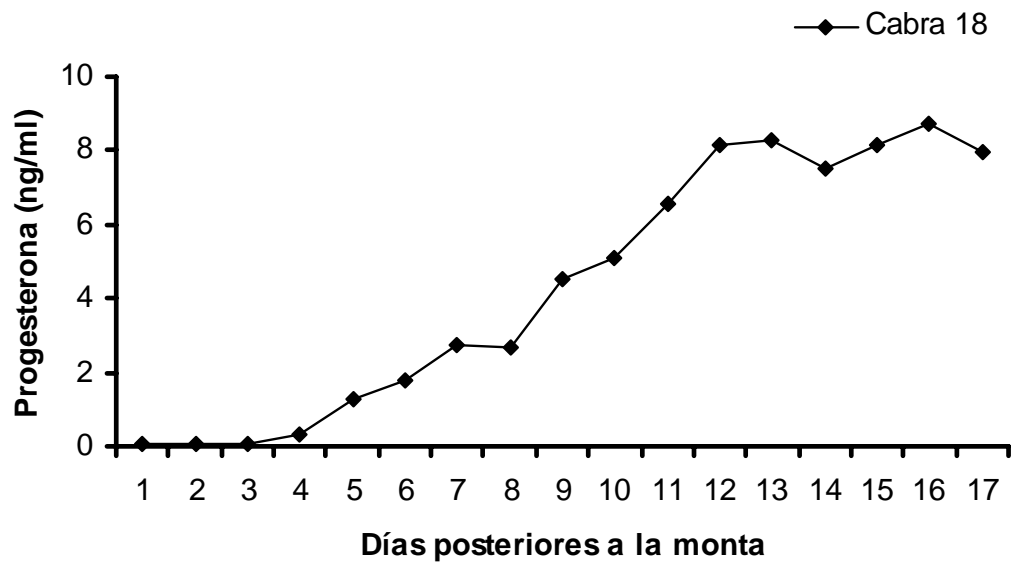




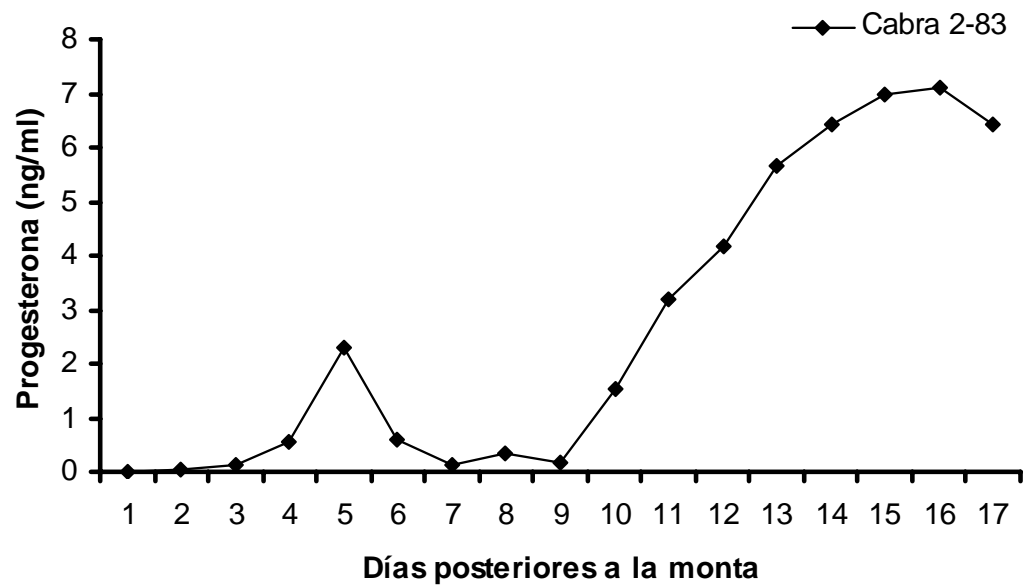
**Figura 3.** Concentraciones promedio de glucosa ( $\pm$  error estándar) en cabras tratadas o no con glicerol por vía oral. No se encontró diferencia estadística entre grupos ( $P > 0.05$ ).



**Figura 4.** Concentraciones promedio de progesterona ( $\pm$  error estándar) en cabras tratadas o no con glicerol por vía oral. No se encontró diferencia entre grupos ( $P > 0.05$ ).



**Figura 5.** Concentraciones de progesterona durante el ciclo estral en una cabra con una fase lútea normal.



**Figura 6.** Concentraciones de progesterona en una cabra con regresión prematura del cuerpo lúteo.

## 6. DISCUSIÓN

La administración oral de glicerol en cabras incrementó las concentraciones sanguíneas de insulina, sin embargo, no afectó la tasa de ovulación ni la prolificidad. La administración de glicerol al momento de la luteólisis no incrementó la tasa de ovulación ni la proporción de cabras con ovulaciones múltiples. En el pasado se propuso que el incremento de la tasa de ovulación en ovejas sometidas a manejos nutricionales, se debía al aumento en las concentraciones sanguíneas de FSH y LH. Sin embargo, en trabajos posteriores se ha determinado que el aumento de la tasa de ovulación en animales sometidos a flushing es independiente de las concentraciones de gonadotropinas (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>; Gutiérrez *et al.*, 1997<sup>a</sup>; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002). Se ha propuesto que los efectos del flushing en el desarrollo folicular y la tasa de ovulación son mediados por las concentraciones de glucosa e insulina (Downing *et al.*, 1995<sup>a</sup>). El aumento de las concentraciones de glucosa e insulina en las ovejas sometidas a flushing, se relaciona con un mayor número de folículos pequeños (Gutiérrez *et al.*, 1997<sup>a</sup>; Viñoles *et al.*, 2005), una mayor cantidad de folículos aromatas positivos y con concentraciones mayores de estradiol (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002). Aparentemente el flushing incrementa la tasa de ovulación aumentando la oferta de folículos capaces de responder a las gonadotropinas.

En el presente estudio el tratamiento no logró incrementar la tasa de ovulación y, por lo tanto, la proporción de cabras con ovulaciones múltiples. Este resultado es diferente a los encontrados en ovejas por Rodríguez Iglesias *et al.* (1996), Gutiérrez *et al.* (2000) y Martínez (2004). Existen varios factores que probablemente afectaron la respuesta al tratamiento, como la especie, el tipo de alimentación y la condición corporal. Una posibilidad es que la especie influya en la respuesta al tratamiento, ya que todos los estudios en los que se han evaluado soluciones glucogénicas, se han realizado en ovejas y vacas. Sin embargo, se ha determinado que las cabras poseen una serie de adaptaciones fisiológicas, ausentes en otros rumiantes domésticos, que les confieren la capacidad de sobrevivir en ambientes adversos en los que impera la escasez de alimento y agua. Así por ejemplo, se ha observado en las cabras una mayor selectividad alimenticia, mayor capacidad ruminal y tránsito intestinal retardado, lo que

les permite aprovechar los forrajes con alto contenido de fibra (Silanikove, 2000). Estas características tal vez contribuyan a que las cabras, comparadas con las ovejas, sean menos sensibles a los cambios en la calidad del alimento y que por lo tanto, su potencial reproductivo dependa en menor grado de la alimentación a que son sometidas.

El manejo y la alimentación también deben ser considerados. En los trabajos anteriores, las ovejas fueron mantenidas en condiciones de pastoreo, alimentándose con forraje fresco en cantidad desconocida, mientras que, las cabras utilizadas en este estudio se mantuvieron en estabulación y se les proporcionó una dieta a base de heno de sorgo y heno de alfalfa.

Se ha observado que la tasa de ovulación tiene un aumento mayor cuando los animales sometidos a flushing tienen una condición corporal baja (Downing y Scaramuzzi, 1991), mientras que los animales con buena condición corporal no responden a la sobrealimentación (Scaramuzzi y Radford, 1983). Las cabras utilizadas en el presente trabajo tuvieron condiciones corporales de moderadas a buenas (con valores entre 2 y 3), lo que permite suponer que debido a esto la administración de glicerol no afectó la tasa de ovulación. Aunque la condición corporal de las cabras fue muy parecida a la de las ovejas utilizadas en trabajos anteriores (Gutiérrez *et al.*, 2000; Martínez, 2004), esta similitud no puede utilizarse como punto de referencia para comparar ambas especies, debido a las diferencias en la composición corporal. Las ovejas tienden a depositar sus reservas grasas principalmente en tejido subcutáneo, músculo y en la cavidad pélvico-abdominal, mientras que las cabras lo hacen predominantemente en la cavidad pélvico-abdominal. Así, en un estudio comparativo entre ovejas y cabras adultas en condiciones de alimentación intensiva, se observó un mayor porcentaje de grasa en la carne de los ovinos (45% *vs* 29.67%; Gaili *et al.*, 1972). En cabras se ha estimado que la grasa corporal contenida en la canal corresponde al 8.84% del peso total del organismo, mientras que la grasa contenida en las cavidades corporales y sus órganos corresponde al 10.23% (Mahgoub y Lu, 1998). Por lo tanto, la evaluación física probablemente no haya sido el método más apropiado para evaluar el estado nutricional de las cabras utilizadas, ya que podría estar estimando erróneamente su estado corporal.

El porcentaje de concepción fue similar entre los grupos tratado y testigo. En los trabajos realizados anteriormente en ovejas, no se determinó el efecto del tratamiento con glicerol en el porcentaje de concepción (Rodríguez Iglesias *et al.*, 1996; Gutiérrez *et al.*, 2000; Martínez, 2004). En ganado lechero se ha observado que las vacas tratadas con propilenglicol tienden a mostrar porcentajes de concepción y de gestación, mayores (Miyoshi *et al.*, 2001; Hidalgo *et al.*, 2004). En ovejas se ha observado que al incrementarse la proporción de ovulaciones múltiples, también lo hace el porcentaje de concepción (Wilkins, 1997). Se ha logrado determinar que existe cierta independencia en las pérdidas embrionarias, es decir, que bajo condiciones normales, un embrión proveniente de una ovulación simple tiene la misma probabilidad de sufrir pérdida que aquel proveniente de una ovulación múltiple. De esta manera, si una hembra con gestación simple sufre pérdida embrionaria, se termina la gestación, en cambio, si una hembra con gestación múltiple pierde un embrión, es probable que los embriones restantes mantengan la gestación. En el presente trabajo no se observó un mejoramiento del porcentaje de concepción en las cabras que recibieron glicerol, lo cual pudo deberse, al menos en parte, a la falta de un incremento de la proporción de ovulaciones múltiples.

Este trabajo es el primero realizado en cabras, en que se evalúa el efecto de un tratamiento corto con glicerol en la prolificidad. El tratamiento con glicerol durante los primeros días del desarrollo embrionario provocó un aumento en los niveles de insulina; sin embargo, este aumento no se reflejó en un incremento en la prolificidad ni en la proporción de cabras con partos múltiples.

En este trabajo se propuso que un aumento en los niveles de insulina favorecería la prolificidad debido al efecto que tiene esta hormona en el desarrollo embrionario temprano. No obstante el incremento en los niveles de insulina, la proporción de pérdidas embrionarias (calculada con base en la diferencia entre la tasa de ovulación y prolificidad) fue similar entre grupos. Esto indica que el tratamiento con glicerol durante los primeros días no afectó la supervivencia embrionaria. En estudios realizados *in vitro* se observa que la insulina mejora el desarrollo embrionario,

incrementando la proliferación celular y previniendo la apoptosis (Herrler *et al.*, 1998; Byrne *et al.*, 2002; Augustin *et al.*, 2003). Sin embargo, en esos estudios los embriones fueron cultivados en concentraciones de insulina altas (1.7 y 1.8  $\mu\text{mol}$ ) y constantes. Por lo tanto, la falta de respuesta al tratamiento pudo deberse a que el aumento logrado en las concentraciones de insulina fue insuficiente, o bien, a que las concentraciones altas de insulina alcanzadas con el tratamiento durante los primeros días del desarrollo embrionario no fueron constantes.

El tratamiento con glicerol incrementó las concentraciones de insulina. Se ha observado que el glicerol administrado por vía oral puede seguir varias rutas metabólicas para estimular la secreción de insulina. En diversos estudios realizados *in vitro* e *in vivo*, se ha determinado que el glicerol es fermentado y transformado en ácido propiónico por la microbiota del rumen (Rémond *et al.*, 1993). El ácido propiónico es el principal ácido graso volátil glucogénico, que posteriormente es transportado del rumen al hígado, donde es transformado en glucosa. En una serie de estudios realizados en ovejas, se observó que únicamente la mitad del glicerol marcado con carbono-14 ( $^{14}\text{C}$ ) es utilizado para la producción de glucosa, la mitad restante es utilizada para la síntesis de otras moléculas como piruvato y lactato (Bergman *et al.*, 1968).

Por otra parte, en ovejas tratadas con 100 ml de glicerol por vía oral se observa un incremento en sus niveles sanguíneos, a partir de la administración hasta 10 h después (Gutiérrez *et al.*, 2000; Martínez, 2004). Esto indica que una proporción del glicerol se absorbe rápidamente a través de la mucosa digestiva, sin llegar necesariamente a ser fermentado en el rumen. El glicerol circulante puede utilizar una ruta alterna para ser transformado en glucosa a nivel hepático o renal, en la cual inicialmente es transformado en glicerol-3-fosfato (G3P) y posteriormente en dihidroxiacetona fosfato (DHA-P). Dependiendo del balance energético del animal, la DHA-P puede ser utilizada para producir Glucosa-6-P y glucosa, o bien, para la producción de piruvato. En experimentos realizados con células pancreáticas de rata, infectadas con un adenovirus, que contiene un gen bacterial para la expresión de la enzima glicerol kinasa (GK), se ha observado que el glicerol *per se* puede estimular la síntesis de proinsulina y la secreción de insulina en las células beta del páncreas (Noel *et al.*, 1997; Skelly *et al.*,



2001). En ese estudio se observó que las concentraciones bajas de glicerol (0.25-0.05 mmol/l) estimulan la síntesis de proinsulina, mientras que las concentraciones altas (1.0-1.5 mmol/l) estimulan la secreción de insulina (Skelly *et al.*, 2001). Sin embargo, este efecto no se ha logrado observar en células pancreáticas sin la infección por adenovirus, lo que indica la ausencia de actividad de la GK (Noel *et al.*, 1997). No se han realizado estudios similares en rumiantes. Por lo tanto, se puede concluir que el mecanismo más viable por el cual el glicerol incrementa los niveles de insulina es mediado por las concentraciones de glucosa mediante dos vías posibles: la primera vía consiste en la transformación del glicerol en ácido propiónico a nivel ruminal, y su posterior transformación hepática en glucosa, mientras que, la segunda, involucra la transformación del glicerol a glucosa en hígado y riñones.

En el presente trabajo, el tratamiento con glicerol no afectó las concentraciones sanguíneas de glucosa. Este resultado contrasta con los obtenidos en los estudios realizados en ovejas, en los cuales se logró un incremento en las concentraciones sanguíneas de glucosa en los animales tratados (Rodríguez Iglesias *et al.*, 1996; Gutiérrez *et al.*, 2000; Martínez, 2004). La diferencia entre este y los otros trabajos, se pudo deber al manejo de las muestras y al esquema de muestreo seguido. A pesar de las precauciones tomadas con las muestras, no se descarta una alteración de los resultados por el manejo posterior de las mismas, ya que antes de realizar las determinaciones hormonales y de glucosa, las muestras permanecieron almacenadas en congelación durante 6 meses. En un estudio realizado con muestras de plasma, mantenidas en congelación durante más de 4 meses, se observó una disminución de las concentraciones de glucosa previamente determinadas (Giampietro, 1981). Esta evidencia podría indicar que el almacenamiento de las muestras por largos periodos, influye en la determinación de las concentraciones sanguíneas de glucosa. Sin embargo, el comportamiento de las concentraciones de glucosa en este trabajo sugiere que este no fue el caso, ya que si el tiempo de almacenamiento hubiera afectado a la glucosa, sus efectos detrimentales se habrían manifestado en todas las muestras y probablemente, la diferencia inicial en las concentraciones de glucosa (en caso de que existiera) se hubiera mantenido.

En los trabajos realizados anteriormente, se observa que en los animales tratados, las concentraciones sanguíneas de glucosa comienzan a ser diferentes de manera significativa desde los 30 minutos (Gutiérrez *et al.*, 2000), mientras que el nivel más alto se observa entre las 2 (Gutiérrez *et al.*, 2000) y las 6 horas (Rodríguez Iglesias *et al.*, 1996) pos-tratamiento. En el presente trabajo no se observó un incremento en los niveles circulantes de glucosa asociado al tratamiento. Sin embargo, las concentraciones de insulina fueron más elevadas en las cabras tratadas con glicerol que en las del grupo testigo. Así, el nivel más alto de insulina se observó a las 2 horas postratamiento, lo que indica que posiblemente las concentraciones más altas de glucosa ocurrieron antes de las 2 horas y que cuando fueron tomadas las muestras tales concentraciones ya habían disminuido por acción de la insulina.

Por otro lado, la ausencia de incremento en el nivel de glucosa en las cabras tratadas con glicerol, tal vez pudo obedecer a diferencias metabólicas entre especies. Los estudios para determinar el metabolismo del glicerol se han realizado en ovejas y vacas (Bergman *et al.*, 1968; Rémond *et al.*, 1993). No existen informes de este tipo de estudios en cabras. Investigaciones posteriores deben realizarse para determinar si existe una diferencia en el metabolismo del glicerol en las cabras.

En el presente estudio se observó que la administración oral de glicerol durante los primeros días del ciclo no afectó las concentraciones de progesterona. En los trabajos realizados anteriormente en ovejas, no se determinó el efecto del glicerol en la función lútea (Rodríguez Iglesias *et al.*, 1996; Gutiérrez *et al.*, 2000; Martínez, 2004). En vacas lecheras se observa que la administración oral de una solución glucogénica (propilenglicol) se relaciona con un aumento en las concentraciones sanguíneas de progesterona. En un estudio realizado en ganado lechero, se observó que la administración de propilenglicol desde 20 días antes de la transferencia embrionaria, aumentó la calidad del cuerpo lúteo y las concentraciones circulantes de progesterona (Hidalgo *et al.*, 2004). La progesterona desempeña un papel esencial en el desarrollo embrionario temprano. La administración de progesterona durante los primeros días de gestación acelera el desarrollo embrionario (Kleemann *et al.*, 1994). También se ha determinado que las concentraciones de progesterona se relacionan con la habilidad del

embrión para bloquear la lisis del cuerpo lúteo (Thatcher *et al.*, 1995). Por otra parte, la administración de glicerol entre los días 7 y 42 post-parto previene las fases lúteas cortas en vacas lecheras (Miyoshi *et al.*, 2001). Se ha propuesto que el efecto de las soluciones glucogénicas sobre la función lútea es mediado por el incremento de las concentraciones sanguíneas de insulina (Miyoshi *et al.*, 2001). La suplementación de insulina a células foliculares de bovino cultivadas por 1 ó 2 días, incrementa el número de células de la teca y actúa de manera sinérgica con LH para aumentar la producción de progesterona y androstenediona. Ambos efectos son independientes y aditivos a los efectos de la glucosa (Stewart *et al.*, 1995). Por su parte, Saragüeta *et al.* (1989) observaron que la adición de insulina a cultivos de células lúteas, incrementa la producción de progesterona. Sin embargo, en el presente estudio las concentraciones mayores de insulina no tuvieron un efecto sobre la función del cuerpo lúteo. Esto tal vez pudo deberse al esquema de tratamiento utilizado. En los trabajos realizados en bovinos, la administración de la solución glucogénica fue diaria y durante largos periodos, contrario al tratamiento utilizado en este trabajo, en el que se administraron únicamente 4 dosis (días 0, 2, 4 y 6 postestro). Por otra parte, aunque dos cabras del grupo testigo y ninguna en el grupo tratado con glicerol, sufrieron regresión prematura del cuerpo lúteo, no se puede asumir que el tratamiento tuvo un efecto en la función lútea, debido al número tan reducido de animales en los que se estudiaron las concentraciones de progesterona.

Los resultados de este estudio permiten concluir que la administración oral de glicerol, durante la fase folicular y los primeros seis días después del servicio, incrementó las concentraciones séricas de insulina, sin embargo, no tuvo ningún efecto en la tasa de ovulación y prolificidad en cabras.

## 7. LITERATURA CITADA

- Abecia JA, Lozano JM, Forcada, F, Zarazaga L. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. *Anim Reprod Sci.* 1997;48:209-218.
- Ahmed MM, Malawi SE, Jubara AS. Synchronization of oestrus in Nubian goats. *Small Rumin Res.* 1998;30:113-120.
- Almeida FR, Mao J, Novak S, Cosgrove JR, Foxcroft GR. Effects of different patterns of feed restriction and insulin treatment during the luteal phase on reproductive, metabolic, and endocrine parameters in cyclic gilts. *J Anim Sci.* 2001;79:200-212.
- Anwar M, Ahmad KM. Ovulation rate, number of fetuses and embryo loss in Teddy goats of Pakistan. *Small Rumin Res.* 1999;31:281-283.
- Augustin R, Pocar P, Wrenzycki C, Niemann H, Fischer B. Mitogenic and anti-apoptotic activity of insulin on bovine embryos produced *in vitro*. *Reproduction.* 2003;126:91-99.
- Baird DT, Campbell BK. Follicle selection in sheep with breed differences in ovulation rate. *Mol Cell Endocrinol.* 1998;145:89-95.
- Bao B, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Salfen BE, Youngquist RS. Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biol Reprod.* 1997;56:1158-1168.
- Barboni B, Turriani M, Galeati G, Spinaci M, Bacci ML, Forni M, Mattioli M. Vascular endothelial growth factor production in growing pig antral follicles. *Biol Reprod.* 2000;63:858-864.
- Barnes FL. The effects of the early uterine environment on the subsequent development of embryo and fetus. *Theriogenology.* 2000;53:649-658.
- Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Chandolia RK, Honaramooz, Rawlings NC. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in the prolificacy. *J Reprod Fertil.* 1999;115:111-124.
- Bazer FW, Spencer TE y Ott TL. Interferon tau: a novel pregnancy recognition signal. *Am J Reprod Immunol.* 1997;37:412-420.

- Bensadoun A, Reid JT. Estimation of rate of portal blood flow in ruminants; effect of feeding, fasting and anesthesia. *J Dairy Sci.* 1962;45:540-543.
- Bergman EN, Starr DJ y Reulein SS, Jr. Glycerol metabolism and gluconeogenesis in the normal and hypoglycemic ketonic sheep. *Am J Physiol.* 1968;215:874-880.
- Biggers BG, Geisert RD, Wettemann RP, Buchanan DS. Effect of heat stress on early embryonic development in the beef cow. *J Anim Sci.* 1987;64:1512-1518.
- Bindon BM, Ch'ang TS, Turner HN. Ovarian response to gonadotrophin by Merino ewes selected for fecundity. *Aust J Agric Res.* 1971;22:809-820.
- Bindon BM, Blanc MR, Pelletier J, Terqui M, Thimonier J. Periovulatory gonadotrophin and ovarian steroid patterns in breeds of sheep with differing fecundity. *J Reprod Fertil.* 1979;55:15-25.
- Bleach EC, Glencross RG, Feist SA, Groome NP, Knight PG. Plasma inhibin A in heifers: relationship with follicle dynamics, gonadotrophins, and steroids during the estrous cycle and after treatment with bovine follicular fluid. *Biol Reprod.* 2001;64:743-752.
- Boscós CM, Samartzi FC, Dellis S, Rogge A, Stefanakis A, Krambovitis E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology.* 2002;58:1261-1272.
- Buckrrell BC. Ovine theriogenology. In: Youngquist RS, Editor. *Current therapy in large animal theriogenology.* Philadelphia:W. B. Saunders Company, 1997:571-656.
- Byrne AT, Southgate J, Brison DR, Leese HJ. Regulation of apoptosis in the bovine blastocyst by insulin and insulin-like growth factor (IGF) superfamily. *Mol Reprod Dev.* 2002;62:489-495.
- Cam MA, Kuran M, Yildiz S, Selcuk E. Fetal growth and reproductive performance in ewes administered GnRH agonist on day 12 post-mating. *Anim Reprod Sci.* 2002;72:73-82.
- Cam MA y Kuran M. Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 post mating on fetal growth and reproductive performance of sheep. *Anim Reprod Sci.* 2004;80:81-90.
- Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Evans G y Downing JA. Increased ovulation rate in androstenedione-immune ewes is not due to elevated plasma concentrations of FSH. *J Reprod Fertil.* 1991;91:655-666.

- Campbell BK, Souza C, Gong J, Webb R, Kendall N, Masters P, *et al.* Domestic ruminants as model for elucidation of the mechanisms controlling ovarian follicle development in humans. *Reproduction*. 2003;61 Suppl:429-443.
- Chagas e Silva J, Lopes da Costa L, Cidadão R, Robalo Silva J. Plasma progesterone profiles, ovulation rate, donor embryo yield and recipient embryo survival in native Saloia sheep in the fall and spring breeding season. *Theriogenology*. 2003;60:521-532.
- Chi MM, Schlein AL, Moley KH. High insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and insulin concentrations trigger apoptosis in the mouse blastocyst via down-regulation of the IGF-1 receptor. *Endocrinology*. 2000;141:4784-4792.
- Coop IE. Effect of flushing in reproductive performance of ewes. *J Agric Sci*. 1966;67:305.
- Cox NM, Stuart MJ, Althen TG, Bennett WA, Miller HW. Enhancement of ovulation rate in gilts by increasing dietary energy and administering insulin during follicular growth. *J Anim Sci*. 1987;64:507-516.
- Crosby IM, Gandolfi F, Moor RM. Control of protein synthesis during early cleavage of sheep embryos. *J Reprod Fertil*. 1988;82:769-775.
- Cueto M, Gibbons A, Alberio R, Taddeo H, Gonzalez-Bulnes A. Timing of emergence of ovulatory follicles in polyovulatory goats. *Anim Reprod Sci*. 2006;91:275-284.
- Davis GH. Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet Sel Evol*. 2005;37 Suppl 1:S11-S23.
- De Hertogh R, Vanderheyden I, Pamfer S, Robin D, Dufrasne E, Delcourt J. Stimulatory and inhibitory effects of glucose and insulin on rat blastocyst development *in vitro*. *Diabetes*. 1991;40:641-647.
- Devendra C, Burns M. Reproductive performance. In: Devendra C, Burns M, Editors. *Goat production in the tropics*. London:Commonwealth Agricultural Bureaux, 1983:74-89.
- Downing JA, Scaramuzzi RJ. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J Reprod Fertil*. 1991;43 Suppl 1:209-227.
- Downing JA, Joss J, Scaramuzzi RJ. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrous cycle. *J Endocrinol*. 1995<sup>a</sup>;146:403-410.

- Downing JA, Joss J, Connell P, Scaramuzzi RJ. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. *J Reprod Fertil.* 1995<sup>b</sup>;103:137-145.
- Downing JA, Joss J, Scaramuzzi RJ. A mixture of the branched chain amino acids leucine, isoleucine and valine increases ovulation rate in ewes when infused during the late luteal phase of the oestrous cycle: an effect that may be mediated by insulin. *J Endocrinol.* 1995<sup>c</sup>;145:315-323.
- Dufour J, Cahill LP, Mauleon P. Short- and long-term effects of hypophysectomy and unilateral ovariectomy on ovarian follicular populations in sheep. *J Reprod Fertil.* 1979;57:301-309.
- Edey TN. Prenatal mortality in sheep: a review. *Anim Breed Abstr.* 1969;37:173-190.
- Espinosa-Márquez MC, Valencia J, Zarco L, Escobar-Medina FJ, Colina-Flores F, Arechiga-Flores CF. Effect of fluorogestone acetate on embryo recovery and quality in eCG-superovulated goats with premature luteal regression. *Theriogenology.* 2004;62:624-630.
- Evans AC. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim Reprod Sci.* 2003;78:289-306.
- Fortune JE. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim Reprod Sci.* 2003;78:135-163.
- Freetly HC, Leymaster KA. Relationship between litter birth weight and litter size in six breeds of sheep. *J Anim Sci.* 2004;82:612-618.
- Gaili ES, Ghanem YS, Mukhtar AM. A comparative study of some carcass characteristics of Sudan desert sheep and goats. *Anim Prod.* 1972;14:351-357.
- García AA, Hernández CJ, Valencia MJ. Afecto de la administración de líquido folicular equino libre de esteroides durante la fase lútea sobre la tasa de ovulación en ovejas Rambouillet. *Vet Méx.* 2001;32:1-5.
- Garret JE, Geisert RD, Zavy MT, Morgan GL. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J Reprod Fertil.* 1988;84:437-446.
- Garverick HA, Zollers WG, Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim Reprod Sci.* 1992;28:111-124.

- Garverick HA, Baxter G, Gong J, Armstrong DG, Campbell BK, Gutierrez CG, *et al.* Regulation of expression of ovarian mRNA encoding hypogonadotrophic cattle. *Reproduction*. 2002;123:651-661.
- Geisert RD, Fox TC, Morgan GL, Wells ME, Wettemann RP, Zavy MT. Survival of bovine embryos transferred to progesterone-treated asynchronous recipients. *J Reprod Fertil*. 1991;92:475-482.
- Giampietro O. Evidence indirectly confirming that plasma glucose decreases on storage at -20°C. *Clin Chem*. 1981;27:1474-1475.
- Gibbons JR, Kot K, Thomas DL, Wiltbank MC, Ginther OJ. Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology*. 1999;52:1005-1020.
- Ginther OJ, Kot K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*. 1994;42:987-1001.
- Gong JG, Webb R. Control of ovarian follicle development in domestic ruminants: its manipulation to increase ovulation rate and improve reproductive performance. *Anim Breed Abstr*. 1996;64:195-204.
- Gutiérrez CG, Oldham J, Bramley TA, Gong JG, Campbell BK, Webb R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J Anim Sci*. 1997<sup>a</sup>;75:1876-1884.
- Gutiérrez CG, Campbell BK, Webb R. Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. *Biol Reprod*. 1997<sup>b</sup>;56:608-616.
- Gutiérrez CG, Saharrea A, Palacios T, Alvarez J, Aguilera I, López N. The effect of short-term administration of a glycogenic solution on plasma glucose concentrations and ovulation rate in Pelibuey sheep. *J Reprod Fertil*. 2000;25 Abstract Series:55.
- Hanrahan JP. Aspects of reproductive performance in small ruminants—opportunities and challenges. *Reproduction*. 2003;61 Suppl 1:15-26.
- Henderson KM, Prisk MD, Hudson N, Ball K, McNatty KP, Lun S, *et al.* Use of bovine follicular fluid to increase ovulation rate or prevent ovulation in sheep. *J Reprod Fertil*. 1986;76:623-635.



- Herrler A, Krusche CA, Beier HM. Insulin and insulin-like growth factor-I promote rabbit blastocyst development and prevent apoptosis. *Biol Reprod.* 1998;59:1302-1310.
- Hidalgo CO, Gómez E, Prieto L, Duque P, Goyache F, Fernández L, *et al.* Pregnancy rates and metabolic profiles in cattle treated with propylene glycol prior to embryo transfer. *Theriogenology.* 2004;62:664-676.
- Hirshfield AN. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol.* 1991;124:43-101.
- Hunter MG. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fertil.* 1991;43 Suppl 1:91-99.
- Hunter MG, Robinson RS, Mann GE, Webb R. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim Reprod Sci.* 2004;82-83:461-477.
- Jainudeen MR y Hafez ESE. Reproduction in farm animals. In: Hafez ESE, Editor. *Sheep and Goats.* 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia:Lea & Febiger, 1993:315-402.
- Juengel JL, Bodensteiner KJ, Heath DA, Hudson NL, Moeller CL, Smith P, *et al.* Physiology of GDF9 and BMP15 signalling molecules. *Anim Reprod Sci.* 2004;82-83:447-460.
- Kaye PL, Gardner HG. Preimplantation access to maternal insulin and albumin increases fetal growth rate in mice. *Hum Reprod.* 1999;14:3052-3059.
- Kelly RW. Fertilisation failure and embryonic wastage. In: Lindsay DR, Pearce DT, Editors. *Reproduction in sheep.* Canberra:Cambridge University Press, 1984:127-133.
- Kiyma Z, Alexander BM, Van Kirk EA, Murdoch WJ, Hallford DM, Moss GE. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *J Anim Sci.* 2004;82:2548-2557.
- Kleemann DO, Walker SK, Seamark RF. Enhanced fetal growth in sheep administered progesterone during the first three days of pregnancy. *J Reprod Fertil.* 1994;102:411-417.
- Kleemann DO, Walker SK. Fertility in South Australian commercial Merino flocks: sources of reproductive wastage. *Theriogenology.* 2005;63:2075:2088.
- Land RB, Morris BA, Baxter G, Fordyce M, Forster J. Improvement of sheep fecundity by treatment with antisera to gonadal steroids. *J Reprod Fertil.* 1982;66:625-634.
- Lane MA, Berardinelli JG, Cardenas H, Staigmiller RB. Sperm transport and distribution during the pubertal transition in ewe lambs. *J Anim Sci.* 1993;71:707-713.

- Lassala A, Hernández-Cerón J, Rodríguez-Maltos R, Gutiérrez CG. The influence of the corpus luteum on ovarian follicular dynamics during estrous synchronization in goats. *Anim Reprod Sci.* 2004;84:369-375.
- Leese HJ, Barton AM. Pyruvate and glucose uptake by mouse ova and preimplantation embryos. *J Reprod Fertil.* 1984;72:9-13.
- Lindsay DR. Reproduction in the sheep and goat. In: Cupps PT, Editor. *Reproduction in domestic animals.* California:Academic Press, Inc., 1991:491-515.
- Lindsay DR, Martin GB y Williams IH. Nutrition and reproduction. In: King GJ, Editor. *Reproduction in domesticated animals.* Amsterdam:Elsevier Science Publisher B. V., 1993:485-491.
- Mahgoub O, Lu CD. Growth, body composition and carcass tissue distribution in goats of large and small sizes. *Small Rumin Res.* 27:267-278.
- Mahieu M, Cognié Y, Chemineau P. Ovulation rate, litter size and prenatal losses in hair sheep of the French West Indies. *Reprod Nutr Dev.* 2004;44:333-339.
- Mani AU, McKelvey WAC, Watson ED. The effects of low level of feeding on response to synchronization of estrus, ovulation rate and embryo loss in goats. *Theriogenology.* 1992;38:1013-1022.
- Martin GB, Milton JTB, Davidson RH, Banchero Hunzicker GE, Lindsay DR, Blache D. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminant. *Anim Reprod Sci.* 2004;82-83:231-245.
- Martínez TVM. Efecto del tratamiento con una solución glucogénica oral sobre la tasa de ovulación de ovejas pelibuey (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2004.
- Matamoros IA, Cox NM, Moore AB. Effects of exogenous insulin and body condition on metabolic hormones and gonadotropin-induced follicular development in prepuberal gilts. *J Anim Sci.* 1991;69:2081-2091.
- McGee EA y Hsueh AJW. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Rev.* 2000;21:200-214.
- McNatty KP, Hudson NL, Gibb M, Collins FL. Plasma concentrations of FSH, LH and progesterone in sheep immunized against androstenedione-protein conjugate. *J Reprod Fertil.* 1988;82:63-69.

- Meyer HH, Clarke JN, Harvey TG, Malthus IC. Genetic variation in uterine efficiency and differential responses to increased ovulation rate in sheep. *Proc N Z Soc Anim Prod.* 1983;43:201-204.
- Michels H, Vanmontfort D, Dewil E, Decuypere E. Early prenatal survival in relation to the parenteral environment in sheep: A review. *Small Rumin. Res.* 1998;29:143-156.
- Miyoshi S, Pate JL, Palmquist DL. Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2001;68:29-43.
- Monget P, Fabre S, Mulsant P, Lecerf F, Elsen JM, Mazerbourg S, *et al.* Regulation of ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic animals. *Domest Anim Endocrinol.* 2002;23:139-154.
- Muñoz-Gutiérrez M, Blache D, Martin GB, Scaramuzzi RJ. Folliculogenesis and ovarian expression of mRNA encoding aromatase in anoestrous sheep after 5 days of glucose or glucosamine infusion or supplementary lupin feeding. *Reproduction.* 2002;124:721-731.
- Muñoz-Gutiérrez M, Blache D, Martin GB, Scaramuzzi RJ. Ovarian follicular expression of mRNA encoding the type I IGF receptor and IGF-binding protein-2 in sheep following five days of nutritional supplementation with glucose, glucosamine or lupins. *Reproduction.* 2004; 128:747-756.
- Nancarrow CD. Embryonic mortality in ewe and doe. In: Zavy MT y Geisert RD, Editors. *Embryonic mortality in domestic species.* Boca Raton, Florida. CRC Press Inc., 1994.
- Nephew KP, McClure KE, Ott T, Budois DH, Bazer FW, Pope WF. Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration in ewes. *Biol Reprod.* 1991;44:536-539.
- Nephew KP, Xie S, Broermann-Ridder DM, McClure KE, Pope WF. Influence of the embryo on intrauterine migration in sheep. *J Anim Sci.* 1992;70:1911-1915.
- Nephew KP, Cardenas H, McClure KE, Ott TL, Bazer FW, Pope WF. Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *J Anim Sci.* 1994;72:453-458.

- Nicholas B, Scougall RK, Armstrong DG, Webb R. Changes in insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) isoforms during bovine follicular development. *Reproduction*. 2002;124:439-446.
- Noel RJ, Antinozzi PA, McGarry JD, Newgard CB. Engineering of glycerol-stimulated insulin secretion in islet beta cells. *J Biol Chem*. 1997;272:18621-18627.
- Parr RA, Cumming IA. Effects of maternal nutrition and plasma progesterone concentrations on survival and growth of the sheep embryo in early gestation. *J Agric Sci*. 1982;98:39-46.
- Parr RA, Davis IF, Fairclough, Miles MA. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *J Reprod Fertil*. 1987;80:317-320.
- Peluso JJ, Luciano AM, Pappalardo A, White BA. Cellular and molecular mechanisms that mediate insulin-dependent rat granulosa cell mitosis. *Biol Reprod*. 1995;52:124-130.
- Putney DJ, Malayer JR, Gross TS, Tatcher WW, Hansen PJ, Drost M. Heat Stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptus and uterine endometrium. *Biol Reprod*. 1988;39:717-728.
- Quirke JF, Hanrahan JP. Comparison of the survival in the uteri of adult ewes of cleaved ova from adult ewes and ewe lambs. *J Reprod Fertil*. 1977;51:487-489.
- Rabiee AR, Lean IJ, Gooden JM, Miller BG. Short-term studies of ovarian metabolism in the ewe. *Anim Reprod Sci*. 1997;47:43-58.
- Rea S, James DE. Moving GLUT4: the biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles. *Diabetes*. 1997;46:1667-1677.
- Rémond B, Souday E, Jouany JP. *In vitro* and *in vivo* fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim Feed Sci Technol*. 1993;41:121-132.
- Remsen LG, Roussel JD, Karihaloo AK. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology*. 1982;18:365-372.
- Rhind SM, McKelvey WAC, McMillen S, Gunn RG, Elston DA. Effect of restricted food intake, before and/or after mating, on the reproductive performance of Greyface ewes. *Anim Prod*. 1989;48:149-155.
- Roberts AJ, Reeves JJ. Kidding rates of angora goats passively immunized against estrogens. *J Anim Sci*. 1988;66:2443-2447.

- Rodríguez Iglesias RM, Ciccioli NH, Irazoqui H, Giglioli C. Ovulation rate in ewes after single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. *Anim Reprod Sci.* 1996;44:211-221.
- Rubianes E. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Actas de Fisiología.* 2000;6:93-103.
- Rubianes E, Menchaca A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim Reprod Sci.* 2003;78:271-287.
- Russel AJF, Doney JM, Gunn RG. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci.* 1969;72:451-454.
- Saharrea A, Valencia J, Balcázar A, Mejía O, Caballero V, Zarco L. Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology.* 1998;50:1039-1052.
- Saragueta P, Krimer AR, Charreau EH, Tesone M. Insulin regulation of steroidogenic activity in rat culture luteal cells *J Steroid Biochem.* 1989;32:393-397.
- SAS. Statistical Analysis System. In: SAS/STAT user's guide. Release 6.03. Cary, NC, SAS Institute Inc., 1988:15-21.
- Scaramuzzi RJ, Radford HM. Factors regulating ovulation rate in the ewe. *J Reprod Fertil.* 1983;69:353-367.
- Scaramuzzi RJ, Downing JA. The distribution of ovulations from the ovaries of Merino and Border Leicester X Merino ewes and its effect on the survival of their embryos. *Anim Reprod Sci.* 1997;47:327-336.
- Schoenian SG, Burfening PJ. Ovulation rate, lambing rate, litter size and embryo survival of Rambouillet sheep selected for high and low reproductive rate. *J Anim Sci.* 1990;68:2263-2270.
- Selvaraju S, Agarwal SK, Karche SD, Majumdar AC. Ovarian response, embryo production and hormonal profile in superovulated goats treated with insulin. *Theriogenology.* 2003;59:1459-1468.
- Senger PL, Editor. Pathways to the pregnancy and parturition. 2<sup>nd</sup> ed. Washington:Current Conceptions, Inc., 2003.
- Silanikove N. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Rumin Res.* 2000;35:181-193.

- Silva JM, Price CA. Insulin and IGF-I are necessary for FSH-induced cytochrome P450 aromatase but not cytochrome P450 side-chain cleavage gene expression in oestrogenic bovine granulosa cells in vitro. *J Endocrinol.* 2002;174:499-507.
- Sinclair KD, Rooke JA, McEvoy TG. Regulation of nutrient uptake and metabolism in pre-elongation ruminant embryos. *Reproduction.* 2003;61 Suppl 1:371-385.
- Skelly RH, Wicksteed B, Antinozzi PA, Rhodes CJ. Glycerol-stimulated proinsulin biosynthesis in isolated pancreatic rat islets via adenoviral-induced expression of glycerol kinase is mediated via mitochondrial metabolism. *Diabetes.* 2001;50:1791-1798.
- Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, Keefer BE. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. *J Anim Sci.* 1995;73:3719-3731.
- Thatcher WW, Meyer MD, Danet-Desnoyers G. Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fertil.* 1995;49 Suppl 1:15-28.
- Thwaites CJ. Embryo mortality in the heat stressed ewe. I. The influence of breed. *J Reprod Fertil.* 1967;14:5-14.
- Trejo GA. Control de la reproducción caprina. En: Arbiza AS, Editor. Producción de caprinos. México:AGT Editor, 1986:242-274.
- Viñoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajarville C, Repetto J, Meikle A. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction.* 2005;129:299-309.
- Waldron DF, Thomas DL. Increased litter size in Rambouillet sheep: I. Estimation of genetic parameters. *J Anim Sci.* 1992;70:3333-3344.
- Webb R, Braincourt MA, Hanrahan JP. Ovulation rate in the ewe: mechanisms underlying genetic variation. Proceedings of the 6<sup>th</sup> World Congress on Genetic Applied to Livestock Production. 1998;27:3-10.
- Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, *et al.* Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction.* 2003;61 Suppl:71-90.

- Wheaton JE, Carlson KM, Kusina NT. Active and passive immunoneutralization of inhibin increases follicle-stimulating hormone levels and ovulation rate in ewes. *Biol Reprod.* 1992;47:361-367.
- Wilkins JF. Method of stimulating ovulation rate in Merino ewes may affect conception but not embryo survival. *Anim Reprod Sci.* 1997;47:31-42.
- Williams SA, Blache D, Martin GB, Foot R, Blackberry MA, Scaramuzzi RJ. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reproduction.* 2001;122:947-956.
- Yang MY, Fortune JE. Insulin and insulin-like growth factor I exert opposite effects on the activation of bovine primordial follicles in vitro. *Biol Reprod.* 2002;66 Suppl 1:111.
- Yu Y, Li W, Han Z, Luo M, Chang Z, Tan J. The effect of follicle-stimulating hormone on follicular development, granulosa cell apoptosis and steroidogenesis and its mediation by insulin-like growth factor-I in the goat ovary. *Theriogenology.* 2003;60:1691-1704.
- Zeleznik AJ. The physiology of follicle selection. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004;2:31.