



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN DE UNA
SOLUCIÓN GLUCOGÉNICA ORAL PARA INCREMENTAR
LA TASA OVULATORIA EN BORREGAS PELIBUEY

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

TLATHUI PALACIOS GOLZARRI

ASESORES: MVZ. MPA. Adriana Saharrea Medina
Ph.D. Carlos Gutiérrez Aguilar
MVZ. MPA. Jorge Armando Álvarez León



MÉXICO, D. F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

EVALUACIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN DE UNA SOLUCIÓN
GLUCOGÉNICA ORAL PARA INCREMENTAR LA TASA OVULATORIA
EN BORREGAS PELIBUEY

Tesis presentada ante la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

De la

Universidad Nacional Autónoma de México para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

Por

Tlathui Palacios Golzarri

MVZ. MPA. Adriana Saharrea Medina
Ph.D. Carlos Gutiérrez Aguilar
MVZ. MPA. Jorge Armando Álvarez León

México, D.F.
2001

DEDICATORIA

*A mi madre por su apoyo incondicional y su paciencia.
A toda la familia Golzarri por su cariño y comprensión.
A Eduardo por su amor y confianza.
A mis amigos por alentarme siempre a seguir adelante.*

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores: Adriana, Carlos y Jorge Armando
Al Departamento de Reproducción en especial a Aranza
A los integrantes del CEIEGT
A DOÑA REBE.

CONTENIDO

	Página
I RESUMEN	1
I INTRODUCCIÓN	3
2.1 Métodos farmacológicos.	3
2.2 Métodos naturales.	5
2.2.1 Efecto macho.	6
2.2.2 Flushing.	6
II OBJETIVO	11
III MATERIAL Y METODOS	11
4.1 Respuesta aguda al tratamiento con glicerol: concentraciones de glucosa y glicerina.	14
4.2 Análisis estadísticos.	16
4.3 Diseño experimental	17
IV RESULTADOS	18
V DISCUSIÓN	24
VI LITERATURA CITADA	29

I RESUMEN

PALACIOS GOLZARRI TLATHUI. Evaluación de la administración de una solución glucogénica oral para incrementar la tasa ovulatoria en borregas pelibuey. (bajo la dirección de: Adriana Saharrea Medina, Carlos Gutiérrez Aguilar y Jorge Armando Alvarez León).

Un periodo de sobrealimentación previo al estro incrementa la tasa ovulatoria en ovejas. El objetivo de este estudio fue probar un tratamiento oral con glicerol sobre la tasa ovulatoria en ovinos. Se utilizaron 50 ovejas pelibuey, las cuales se dividieron en dos grupos, el grupo tratado y el grupo testigo. Las ovejas del grupo tratado recibieron una mezcla de glicerol y agua (90:10 v/v) por vía oral durante 6 días de forma ascendente (día 1: 1 toma de 75ml; día 2: 2 tomas de 75ml; día 3: 3 tomas de 75ml; y los días 4, 5 y 6 3 tomas de 100ml). El grupo testigo, recibió agua de la misma forma y la misma cantidad. Todos los animales fueron sincronizados mediante la aplicación de $\text{PGF2}\alpha$. Las ovejas que presentaron celo fueron sometidas a ultrasonografía transrectal el día 6 del ciclo estral (estro: día 0) para determinar el número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios. Los niveles séricos de glucosa y glicerina se determinaron en muestras sanguíneas obtenidas de 10 ovejas (5 por grupo). Las concentraciones de glucosa y glicerina se analizaron por ANOVA tomando la concentración previa al tratamiento como covariable. Únicamente 30 ovejas presentaron celo, se encontró que el tratamiento con glicerina causó un incremento ($P < 0.05$) en el número de ovulaciones (1.18 ± 0.18 ; $n = 16$), comparado con el grupo testigo (1.21 ± 0.11 ; $n = 14$). No existieron diferencias en las concentraciones de glicerol entre grupos ($P > 0.05$). Sin embargo, la concentración de glucosa en el grupo tratado fue mayor ($p < 0.05$) que en el testigo. El tratamiento de glicerol durante 6 días aumenta las concentraciones de glucosa y glicerina y esto tiene un efecto benéfico sobre la tasa ovulatoria

The effect of short-term administration of a glycogenic solution on plasma glucose concentrations and ovulation rate in Pelibuey sheep.

Food supplementation enhances ovulation rate in sheep. However, in most cases the flushing period should be at least a couple of weeks long to be effective. The objective of this work was to test the effect of a glycogenic solution, given orally, on the ovulation rate of sheep. Fifty Pelibuey sheep (33.1 ± 0.85 kg; 2.3 ± 0.07 body condition score) were kept in pasture and allocated to two groups. Group 1 (G1) were given increasing amounts of a glycerol:water (90:10 v/v) solution, whilst group 2 (G2) received only water for 6 days (Day 1=1x75ml, D2=x 75ml, D3=3x75ml, D4-6=3x100ml) starting on day 8 of the cycle. On the fifth day of treatment, oestrus was synchronised with PGF 2α . Ovulation rate was assessed by transrectal ultrasonography on day 6 of the oestrous cycle. Glucose and glycerol concentrations were determined in 5 sheep per group, from the start of treatment until one day after oestrus. In addition, acute changes in glucose and glycerol concentrations were measured in 6 sheep after a single dose of glycerol or water (100ml) at -30, 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 and 480 min. Thirty sheep showed oestrus two days after PGF 2α injection. Ovulation rate was higher ($P < 0.05$) for G1 (1.81 ± 0.18 ; n=16) compared to G2 (1.21 ± 0.11 ; n=14). Glycerol concentrations did not differ between groups ($P > 0.05$). However, glucose concentrations were higher ($P < 0.05$) in G1. Both glucose and glycerol plasma concentrations increased ($P < 0.05$) after 30 min glycerol administration and remained high for 6 h. In conclusion, short-time glycerol treatment increases ovulation rate in sheep which is associated with higher glycerol and glucose concentrations.

II INTRODUCCIÓN

La prolificidad es el promedio de crías que tienen las hembras durante la época reproductiva y esta directamente relacionada con la tasa ovulatoria. La tasa ovulatoria depende de una serie de factores, tales como la raza, edad, época del año y la nutrición (Hafez, 1987). Existen razas con una prolificidad de 1 a 1.5 crías/parto (Hafez, 1987), lo cual se considera como un promedio subóptimo debido a que la borrega tiene la capacidad de criar de forma eficiente dos corderos, siempre y cuando se mantengan en un estado nutricional óptimo. Sin embargo, para lograr este objetivo es necesario que los animales tengan una tasa ovulatoria de tres folículos, debido a problemas que suceden posteriores a la ovulación, tales como la baja fertilidad y la muerte embrionaria (Salamon, 1990). Entre los métodos que permiten incrementar la tasa ovulatoria y por lo tanto la prolificidad, se encuentran los métodos farmacológicos y los métodos naturales.

2.1 Métodos farmacológicos:

Entre los métodos farmacológicos encontramos la administración de gonadotropinas y las técnicas de inmunización. Ambos sistemas ayudan a estimular el crecimiento de uno o más folículos extra hasta que lleguen a ovular.

La suplementación de gonadotropinas se basa en el hecho de que durante el desarrollo final del folículo existe una etapa de dominancia; durante la cual el folículo dominante produce y libera estradiol e inhibina para bloquear la producción de FSH que los folículos subordinados requieren para seguir creciendo (Salamon, 1990). Debido a esto, la administración exógena de alguna hormona con efecto de FSH va a permitir que los folículos subordinados sigan creciendo y ovulen, aumentando así la tasa ovulatoria. Las gonadotropinas exógenas más comúnmente utilizadas son extractos hipofisarios de caballo, cerdo o de oveja conteniendo FSH y suero de yegua gestante (eCG). Los extractos hipofisarios tienen una vida media corta por lo que se requiere de varias dosis para mantener el desarrollo folicular. La eCG en cambio es de relativa larga duración y sólo se necesita de una sola dosis, administrada tanto por vía subcutánea como intramuscular en 1-2ml de solución salina o agua estéril. La dosis de gonadotropina eCG varía según la época reproductiva y la raza del animal. Como norma general, la dosis superovulatoria debe ser de 400-500 UI para hembras en estación reproductiva y 600-750 UI fuera de estación. Antes de la aplicación de eCG es necesario sincronizar el estro de los animales; el mejor momento de la aplicación es 2 días antes de retirar los tratamientos con progestágenos (esponjas o implantes). La eCG es un producto natural por lo que su composición química y actividad varía de unos lotes a otros, debido a esto, se pueden obtener índices de ovulación variables (Salamon, 1990).

Las técnicas de inmunización, se basan en estimular la formación de anticuerpos contra esteroides ováricos o ante la inhibina folicular para reducir el efecto inhibitorio del desarrollo y la dominancia. Esto tiene como consecuencia el aumento en la secreción de gonadotropinas, especialmente de FSH, desarrollándose más folículos a punto de ovulación. En cambio, la inmunización contra la inhibina se ha realizado en forma experimental, pero todavía no existe un tratamiento comercial disponible. La inmunización contra esteroides ováricos ha demostrado ser una mejor alternativa. Esta técnica requiere de una inyección subcutánea de Fecundin (producto comercial Glaxo, Animal Health, México) 5 semanas antes de la monta o la inseminación, seguida de una inyección de refuerzo 3 semanas más tarde (2 semanas antes de la monta o la IA). Este método proporciona un aumento medio del índice de ovulación sin alcanzar una sobreestimulación. Los efectos de la inmunización persisten varias semanas y la inmunización para las siguientes estaciones reproductivas se puede obtener por tratamientos de refuerzo. Como ventajas se pueden mencionar que evita la excesiva estimulación y que el índice de ovulación se puede lograr sin necesidad de sincronizar el estro.

2.2 Métodos naturales:

Entre estos métodos encontramos al efecto macho y el efecto flushing (periodo de sobrealimentación previo al servicio).

2.2.1 Efecto Macho:

Este método se basa en la introducción de machos a lotes de hembras que han estado totalmente aisladas de los machos por lo menos durante cuatro semanas. Este efecto debe ser utilizado durante la época de transición y para que el método sea efectivo es necesario mantener un 4% de machos de forma continua.

Las borregas ovulan pocos días después de la introducción del macho, pero por lo general la primera ovulación no va acompañada de signos de estro y el cuerpo lúteo que se forma es de corta duración, por lo que sería conveniente esperar al primer celo acompañado de signos de estro (segundo ciclo) que seguirá estando sincronizado.

2.2.2 Flushing:

Se sabe que el Flushing (sobrealimentación antes del apareamiento) tiende a incrementar la tasa ovulatoria y la prolificidad (Wallace, 1961; Coop, 1966). No se ha investigado plenamente su mecanismo de acción aunque se cree que la respuesta se basa en el reclutamiento de nuevos folículos o la estimulación de los folículos destinados a sufrir atresia. Existe una gran variación en la respuesta ovulatoria al flushing y se ha demostrado que los principales factores que la pueden afectar son la raza, la condición corporal y la duración del tratamiento. Los mejores resultados se han encontrado cuando los animales sometidos al período de sobrealimentación se encuentran en una condición corporal pobre (1.5 a 2), en una escala del 1 al 5. La raza es un factor que ha presentado

controversia, ya que hay reportes en los que se indica que el flushing es efectivo únicamente en razas prolíficas (Forcada *et al.*, 1992) y otros que han tenido éxito en razas poco prolíficas (Smith y Steward, 1990).

La duración del flushing parece ser un factor importante ya que se han realizado programas de sobrealimentación exitosa por períodos tan cortos como de 6 días y otros en los que fue necesario 30 días de tratamiento. Tanto la duración del flushing como el día del inicio del tratamiento con respecto al ciclo son importantes. Se han obtenido buenos resultados con tratamientos de 17 días de flushing (Fletcher, 1981; Davis *et al.*, 1981), mientras que otros autores reportan que la sobrealimentación por 17 y 18 días es insuficiente (Knight, 1980; Gunn *et al.*, 1984 b). Dufour y Matton (1977) no obtuvieron buenos resultados cuando dieron flushing por un período de 10 días, mientras que Lindsay (1976) administró grano lupin por períodos de 6 días logrando incrementar la tasa ovulatoria.

Existe evidencia de que la ganancia de peso y la condición corporal durante el flushing es importante para incrementar la tasa ovulatoria (Landau *et al.*, 1995 y Gunn *et al.*, 1972). Downing y Scaramuzzi (1991) demostraron que por cada kg. de incremento en el peso corporal habrá un aumento del 2-2.5% en la tasa ovulatoria. Asimismo, el cambio de condición corporal de 1.5 (pobre) a 2 (moderada) incrementó la tasa ovulatoria, mientras que no existieron diferencias entre animales en los que se incrementó la condición corporal de 2 (moderada) a 2.5 (moderada-buena) (Gunn *et al.*, 1984 a). Aunque durante los tratamientos

realizados con lupin no se han observado cambios de peso ni de condición corporal sí se ha logrado incrementar la tasa ovulatoria (Oldham y Lindsay, 1984). Luego entonces, parece ser que los mejores beneficios del flushing se logran en animales en condición corporal moderada, quizás porque animales con mejor condición corporal tienen una tasa ovulatoria cercana a su límite genético (Downing y Scaramuzzi, 1991).

Existen dos modelos para explicar la acción de la nutrición sobre la tasa ovulatoria. La primera es la hipótesis Hipotálamo-Hipófisis, la cual sostiene que el flushing modifica las concentraciones séricas de gonadotropinas en un momento crítico del desarrollo folicular. La segunda es la teoría ovárica, la cual indica que el incremento en la tasa de ovulación esta mediado por la modificación de la concentración de las hormonas metabólicas en respuesta al cambio de nutrientes, aumentando el número de folículos activados, sin que se involucren cambios en los niveles sanguíneos de gonadotropinas (Downing y Scaramuzzi, 1991).

Beitz, demostró en 1985, que el consumo de dietas altas en energía y proteína producen la modificación en las concentraciones de algunas hormonas metabólicas tales como la Hormona del crecimiento, Prolactina e Insulina pudiendo ser el eslabón de unión entre la nutrición y la tasa ovulatoria. Así tenemos que las concentraciones de Insulina se han visto incrementadas al administrar grano lupin (Downing y Scaramuzzi, 1991), glucosa intravenosa (Teleni *et al.*, 1989) y una mezcla de leucina, isoleucina y valina (Downing y Scaramuzzi, 1991), mientras que las concentraciones de prolactina se han visto incrementadas al administrar

lupin (Downing y Scaramuzzi, 1991) y glucosa intravenosa (Teleni *et al.*, 1989), aunque no se vieron incrementadas al utilizar una mezcla de leucina, isoleucina y valina (Downing y Scaramuzzi, 1991). Las concentraciones de la hormona del crecimiento decrecieron posteriormente a la administración de lupin y no existieron diferencias al administrar una mezcla de leucina, isoleucina y valina (Downing y Scaramuzzi, 1991) ni de glucosa intravenosa (Teleni *et al.*, 1989).

Hinch y Roelufs (1986); así como Teleni *et al.*, (1989) demostraron que el incremento en la tasa ovulatoria no es debido a un incremento en las gonadotropinas hipofisarias durante el flushing. La glucosa y la insulina se ven incrementadas durante el estímulo nutricional y que son capaces de incrementar el desarrollo folicular (Gutiérrez *et al.*, 1997) y aumentar la tasa ovulatoria al administrarlas directamente, aunque la infusión directa de las mismas al ovario no resulta en un incremento de la tasa ovulatoria (Downing y Scaramuzzi, 1991). Boden *et al.*, (1996), demostraron que cambios drásticos en la concentración de glucosa e insulina regulan la variación en los niveles de leptina, por lo que es posible que la leptina este involucrada en el incremento de la tasa ovulatoria observada durante el flushing.

La viabilidad de los folículos puede ser estimada por su habilidad para producir estradiol, porque el número de receptores de FSH de la granulosa (Carson *et al.*, 1979) y la P450 aromática tienden a disminuir conforme los folículos sufren atresia (Armstrong *et al.*, 1998). Tanto los folículos atrésicos como los no atrésicos (folículos activados), tienen

receptores de LH en las células de la teca interna, pero los folículos activados, que son los únicos capaces de madurar y ovular, tienen sus receptores en células de la teca y la granulosa (England *et al.*, 1981).

La tasa de ovulación dependerá del número de folículos activados presentes capaces de responder a la LH cuando decrecen las concentraciones de FSH (Webb *et al.*, 1984; Webb y Gault, 1985). Se propone que los mecanismos por los cuales el flushing influye sobre la tasa ovulatoria es el aumento de la oferta de folículos capaces de responder a las gonadotropinas resultando en un incremento en el número de folículos activados en el pico preovulatorio de LH.

III OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fué determinar el efecto de la administración de una solución de glicerol por vía oral durante un período de 6 días, sobre la tasa ovulatoria y las concentraciones séricas de glucosa y triglicéridos en borregas pelibuey.

IV MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el Municipio de Tlapacoyan, Veracruz, localizado a 151 msnm, a 20° 4' de latitud norte y 97° 3' de longitud oeste, con un clima Af(w), con una precipitación promedio anual de 1980.7mm y temperatura media anual de 23.8° C (García, 1973).

El estudio se realizó en dos fases. La primera fase se llevó a cabo durante la época reproductiva (diciembre de 1998) utilizando 20 borregas pelibuey entre 2 y 7 años de edad, con un promedio de 35.5 kg. de peso y entre 1.75 a 2.25 puntos de condición corporal (Russel *et al.*, 1969). La segunda fase se realizó en Enero de 1999 utilizando 30 borregas primaras con 34 kg. de peso y con una condición corporal de 2.5 puntos. Durante el estudio, los animales permanecieron bajo un sistema de pastoreo rotacional en praderas con zacate insurgente (*Brachiaria*

III OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fué determinar el efecto de la administración de una solución de glicerol por vía oral durante un período de 6 días, sobre la tasa ovulatoria y las concentraciones séricas de glucosa y triglicéridos en borregas pelibuey.

IV MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el Municipio de Tlapacoyan, Veracruz, localizado a 151 msnm, a 20° 4' de latitud norte y 97° 3' de longitud oeste, con un clima Af(w), con una precipitación promedio anual de 1980.7mm y temperatura media anual de 23.8° C (García, 1973).

El estudio se realizó en dos fases. La primera fase se llevó a cabo durante la época reproductiva (diciembre de 1998) utilizando 20 borregas pelibuey entre 2 y 7 años de edad, con un promedio de 35.5 kg. de peso y entre 1.75 a 2.25 puntos de condición corporal (Russel *et al.*, 1969). La segunda fase se realizó en Enero de 1999 utilizando 30 borregas primaras con 34 kg. de peso y con una condición corporal de 2.5 puntos. Durante el estudio, los animales permanecieron bajo un sistema de pastoreo rotacional en praderas con zacate insurgente (*Brachiaria*

brizantha), estrella Santo Domingo (*Cynodon nlemfuensis*) o con gramas nativas (*Paspalum* y *Axonopus spp.*)

En ambas fases, las borregas fueron distribuidas equitativa y aleatoriamente en un grupo testigo y en un grupo tratado. En la primera fase del estudio (época reproductiva), el estro fue sincronizado mediante la aplicación intramuscular de 1ml de Luprostiol¹ en el día 8-9 del ciclo estral. En la segunda fase del ensayo, el estro fue sincronizado mediante la aplicación de esponjas intravaginales impregnadas con 40mg de acetato de fluorogestona² por un período de 12 días y la aplicación de Luprostiol al momento del retiro de las esponjas.

El tratamiento glucogénico se aplicó por vía oral durante 6 días, siguiendo el esquema mostrado en la Figura 1. Las borregas del grupo tratado recibieron una mezcla de glicerol y agua (90:10 v/v) mientras el grupo testigo recibió agua únicamente. El tratamiento oral comenzó 4 días antes de la aplicación de PGF2 α (día 5 del tratamiento; ver Figura 1). El calendario de tratamiento fue como sigue:

Día 1: 75 ml en una sola toma, Día 2: 150 ml dividido en 2 tomas (75 ml cada toma) con un intervalo de 12 horas, Día 3: 225 ml dividido en 3 tomas (75 ml por toma) con un intervalo de 8 horas (7am, 3pm y 11pm) y los días 4, 5 y 6 del tratamiento aumentó a 300 ml divididos en 3 tomas (100 ml por toma) y se administró con la misma frecuencia del día 3.

1 (Prosolvit, Intervet México)

2 (Chronogest, Intervet México)

A partir del inicio del tratamiento con glicerol (día -4) y hasta un día posterior a que los animales presentaran celo, se tomaron diariamente 10 ml de sangre de 10 borregas (5 por grupo) por medio de punción yugular con tubos vacutainer con 100 microgramos de citrato de sodio como anticoagulante. Las muestras fueron tomadas en la mañana antes de que los animales recibieran el tratamiento y se mantuvieron en refrigeración hasta que se centrifugaron a 3,000 rpm durante 10 minutos para obtener el plasma, el cuál se congeló para su posterior evaluación.

La detección de celos se realizó con la ayuda de un macho vasectomizado y con un macho entero provisto con mandil, desde 24 horas después de la aplicación de la prostaglandina hasta que todos los animales hubieran presentado celo.

Todas las borregas que presentaron celo entre 24 y 72 horas (30 animales; 16 del grupo tratado y 14 del grupo testigo) fueron sometidas a ultrasonografía por vía transrectal el día 6 del ciclo estral (considerando como día 0 el día del inicio del ciclo) (figura 1). El número de cuerpos lúteos presentes en ambos ovarios fueron contabilizados. Los exámenes ultrasonográficos se realizaron con un equipo de ultrasonido de imagen real ALOKA 500, con un transductor de 7.5 MHz.

4.1 Respuesta aguda al tratamiento con glicerol: concentraciones de glucosa y glicerina.

Con la finalidad de establecer las concentraciones de glucosa sanguínea en respuesta al tratamiento con glicerol, se aplicaron 100 ml de glicerol por vía oral a 6 borregas Pelibuey adultas, con un promedio de 35 kg. de peso y una condición corporal de 2 puntos. Las borregas se dividieron al azar en: Grupo tratado (n=3) y Grupo testigo (n=3). A los animales del grupo tratado se les administró por vía oral una sola toma de 100 ml de una mezcla del 90% de glicerol y del 10% de agua y a los animales del grupo testigo se les administró por vía oral 100 ml de agua. El primer muestreo se realizó 30 minutos antes de la administración del tratamiento (tiempo -30), la segunda muestra se tomó inmediatamente después de la administración del tratamiento (tiempo 0), y las siguientes muestras se tomaron a los 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480 minutos post-tratamiento.

Los muestreos se realizaron por medio de punción yugular con tubos vacutainer con 100 microgramos de citrato de sodio como anticoagulante, obteniendo aproximadamente 10ml de sangre. Las muestras se centrifugaron inmediatamente después del muestreo a 3,000 rpm durante 10 minutos para la obtención del plasma el cual se congeló para su posterior procesamiento.

Las concentraciones de glucosa se determinaron por el método GOD/POD en el cuál la glucosa es transformada, por la glucosa oxidasa

(GOD), en ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de peroxidasa (POD) oxida el cromógeno (4-aminofenazona/fenol) convirtiéndolo en un compuesto de color rojo³. Las concentraciones de glicerina se midieron mediante un método enzimático colorimétrico donde el glicerol liberado en la hidrólisis de los triglicéridos, catalizada por la lipoproteinlipasa, se convierte, mediante la glicerolquinaza, en glicero-3-fosfato, que se oxida a dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno en presencia de la glicerolfosfato oxidasa. Ante la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno oxida al cromógeno N-etil-N-(3-sulfopropil)-m-anasidina / 4-aminofenazona a un compuesto de color violeta⁴. Ambas reacciones fueron cuantificadas en un espectrofotometro.

³ (SERA-PAK Glucosa, Bayer 1996)

⁴ (SERA-PAK Triglicéridos, Bayer 1996)

4.2 Análisis estadísticos

Para los análisis estadísticos, se tomaron en cuenta los animales que presentaron celo de las dos fases experimentales.

La proporción de ovejas con ovulaciones múltiples (dobles o triples) y sencillas se analizó por medio de χ^2 . La tasa ovulatoria se analizó por medio de la prueba de T de Student.

Las concentraciones de glucosa y glicerina del primer experimento y de la aplicación de 100 ml de glicerol o agua oral se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA), considerando como covariable la concentración de la glucosa o glicerina inicial previa al tratamiento. El modelo efectuado para glucosa fue: grupo + animal anidado dentro del grupo + tiempo de sangrado + la interacción del grupo * tiempo. Para el análisis de la respuesta aguda al tratamiento se utilizó: glucosa = grupo + animal anidado dentro del grupo (día de sangrado) + grupo * muestra.

4.3 Diseño experimental

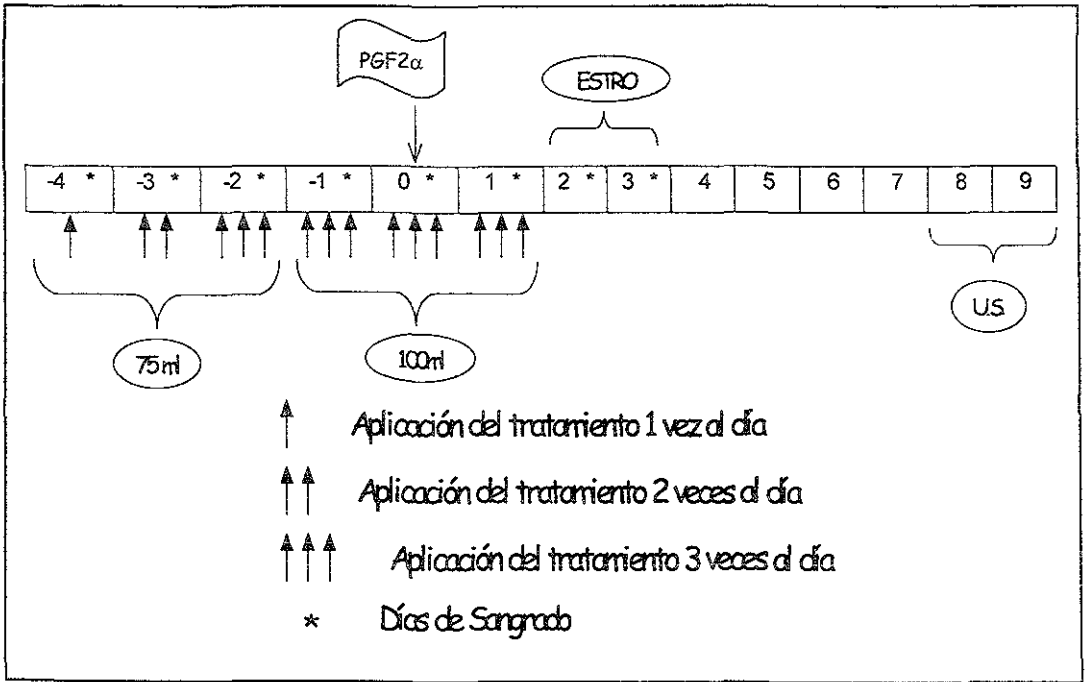


Fig. 1 Esquema de sincronización, suplementación, sangrado y ultrasonografía (U.S.) de borregas tratadas y no tratadas con glicerol por vía oral.

V RESULTADOS

En la figura 2 se muestra el número de ovulaciones sencillas y múltiples de las 30 borregas que presentaron celo entre las 24 y 72 horas después de aplicada la prostaglandina (10 borregas de la fase 1 y 20 borregas de la fase 2). De los animales del grupo tratado, 7 presentaron ovulaciones simples, 7 presentaron ovulaciones dobles y 2 presentaron ovulaciones triples. De los animales del grupo no tratado, 11 presentaron ovulaciones simples y 3 presentaron ovulaciones dobles (fig. 2), habiendo diferencia en la distribución de las ovulaciones múltiples (dobles y triples) a favor del grupo tratado ($\chi^2 = 3.77$; $P < 0.05$).

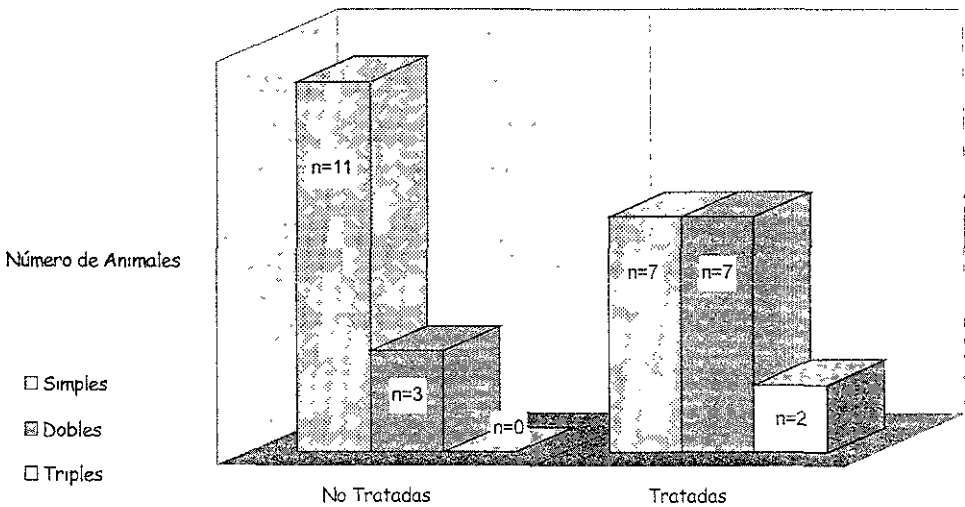


Fig. 2 Numero de borregas con ovulaciones simples, dobles o triples que fueron tratadas o no tratadas con glicerol por vía oral

En la figura 3 se muestra la tasa ovulatoria de las borregas tratadas y no tratadas con glicerol. El grupo tratado, (n=16) tuvo mayor ($P<0.05$) número de ovulaciones (1.81 ± 0.18 e.e) comparado con el grupo no tratado. (1.21 ± 0.11 e.e: n=14).

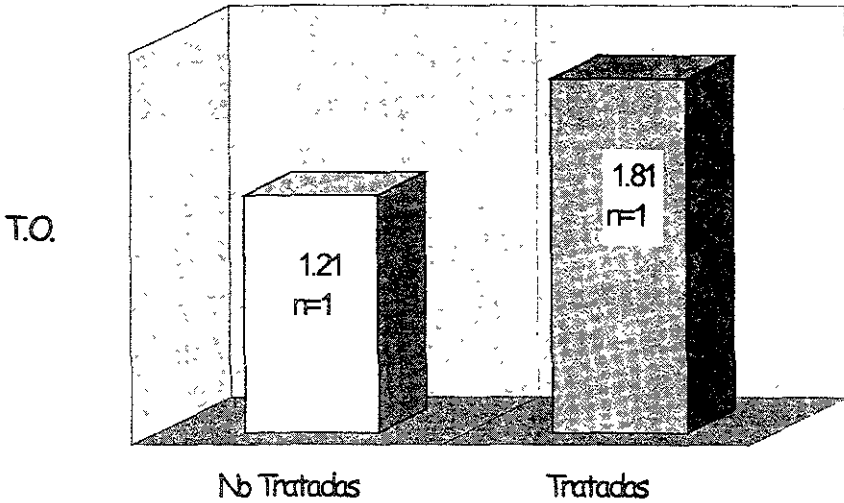


Fig. 3 Tasa ovulatoria en borregas tratadas y no tratadas con glicerol por vía oral.

En la figura 4 se muestran las concentraciones diarias de glucosa de las borregas tratadas y las no tratadas con glicerol. No existieron diferencias significativas ($P>0.05$) entre el promedio general del grupo testigo (64.43 ± 1.37 e.e.) y el del grupo tratado (70.99 ± 1.29 e.e). Sin

embargo, las concentraciones de glucosa al día 6 (día 1 del tratamiento) difirieron significativamente resultando ser superiores en el grupo tratado ($P < 0.05$).

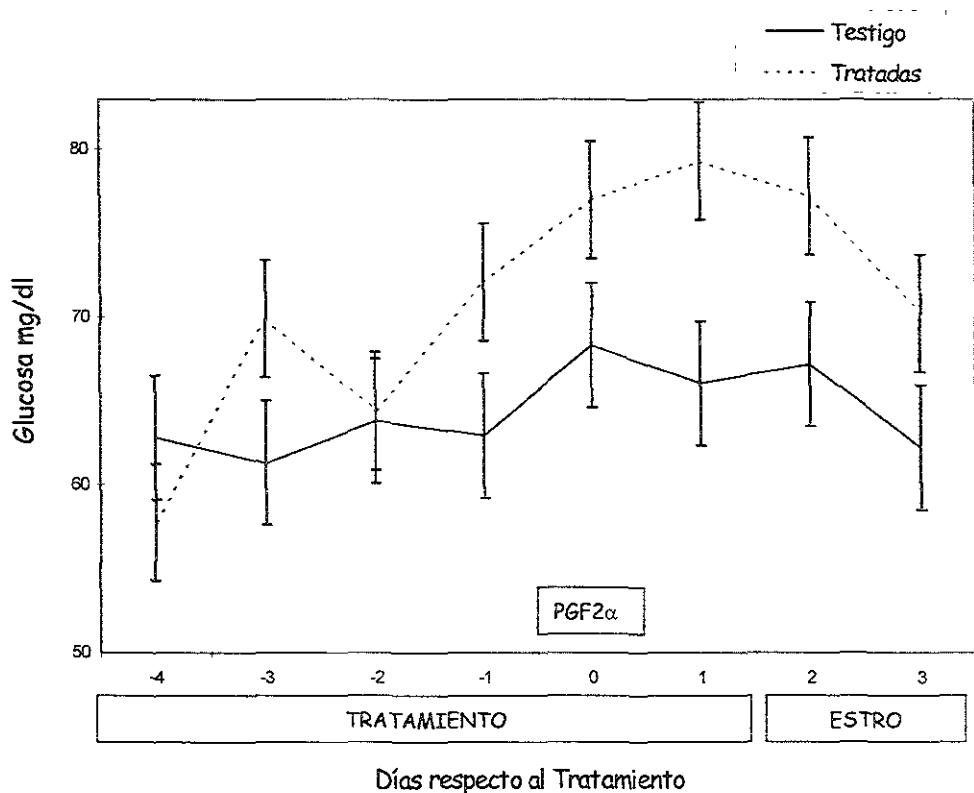


Figura 4. Efecto del tratamiento con glicerol oral sobre las concentraciones sanguíneas diarias de glucosa en ovejas pelibuey.

En la figura 5 se observan las concentraciones diarias de glicerina de los animales tratados y no tratados con glicerol. No encontrándose diferencias significativas entre el promedio general por grupo (tratado = 50.18 ± 7.13 e.e. mg/dl vs testigo = 39.88 ± 7.62 e.e. mg/dl) ni interacción del grupo con día de tratamiento ($p > 0.05$).

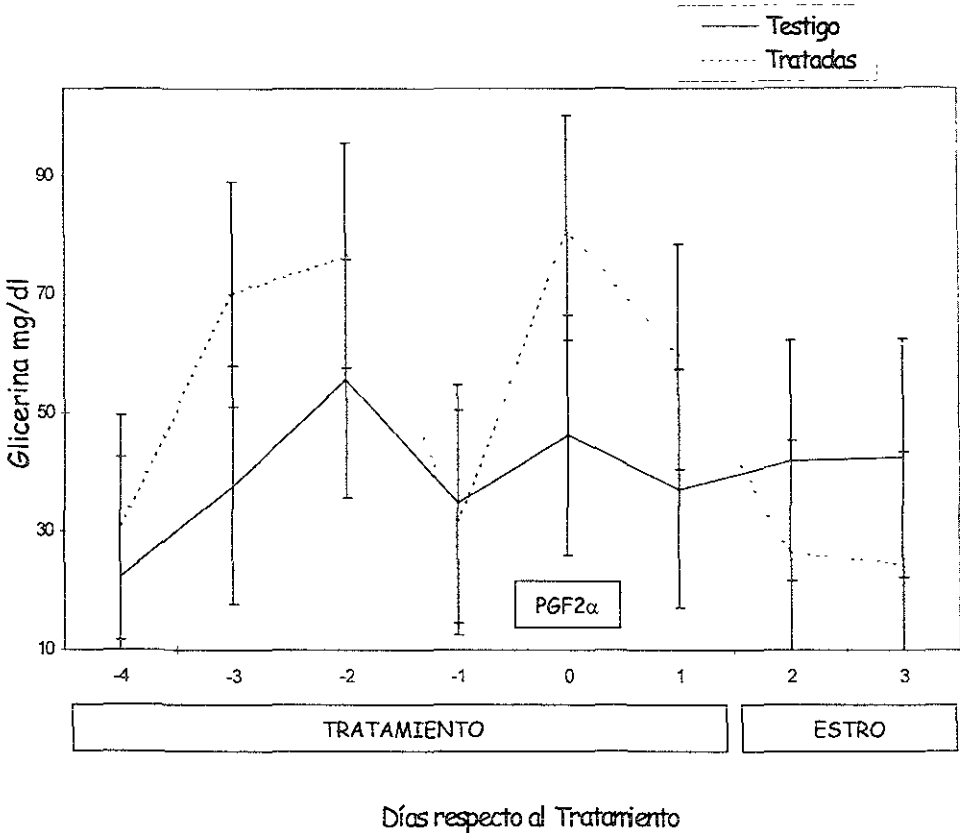


Figura 5. Efecto del tratamiento con glicerol oral sobre las concentraciones sanguíneas diarias de glicerina en ovejas pelibuey.

En la figura 6 se muestran las concentraciones séricas de glucosa después de la administración de 100 ml de glicerol (ovejas tratadas) o de agua (no tratadas) por vía oral como dosis única. Se observó que el grupo tratado tuvo mayores ($P<0.05$) concentraciones de glucosa que el grupo testigo (63.66 ± 3.24 e.e mg/dl vs 55.30 ± 3.16 e.e mg/dl), incrementándose significativamente desde 30 minutos después del tratamiento y manteniéndose elevadas hasta los 240 minutos post-tratamiento ($P<0.05$).

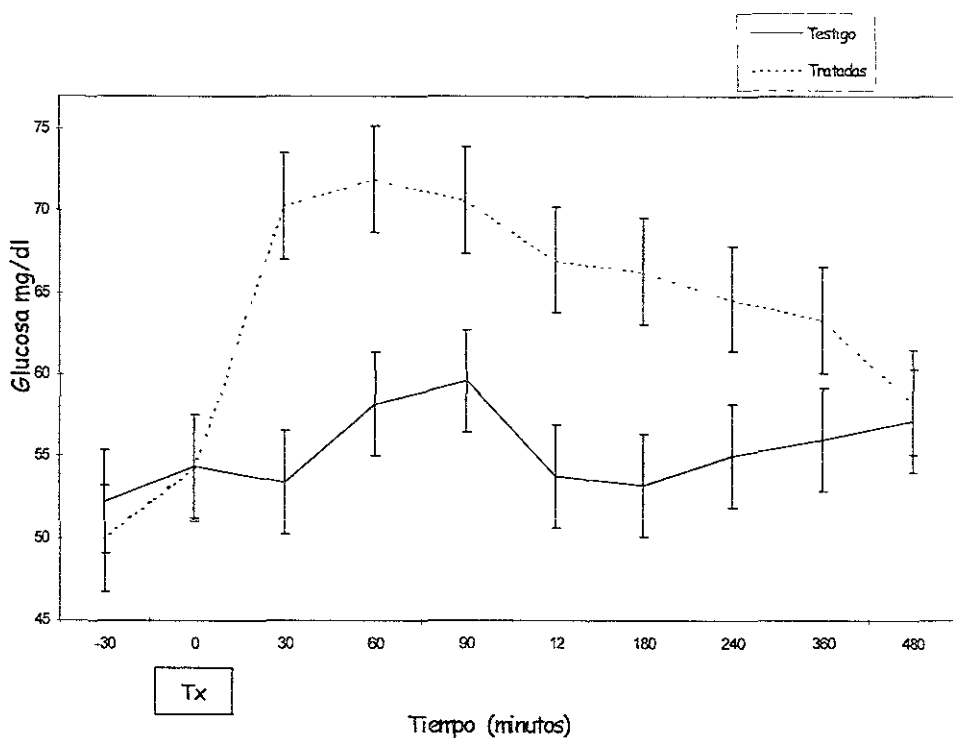


Figura 6. Cambios en las concentraciones séricas de glucosa después de la administración de 100ml de glicerol por vía oral en borregas pelibuey

En la figura 7 se presentan las concentraciones séricas de glicerina de los animales tratados y no tratados con 100 ml de glicerol como dosis única entre los minutos -30 hasta 480 minutos. Se observó que en el grupo tratado la concentración de glicerina fue mayor ($p < 0.05$) que el grupo testigo (162.96 ± 15.83 e.e mg/dl vs 28.14 ± 12.26 e.e mg/dl), incrementándose a partir de los 30 minutos hasta los 360 minutos post-tratamiento antes de descender a niveles que no difirieron de los del grupo testigo.

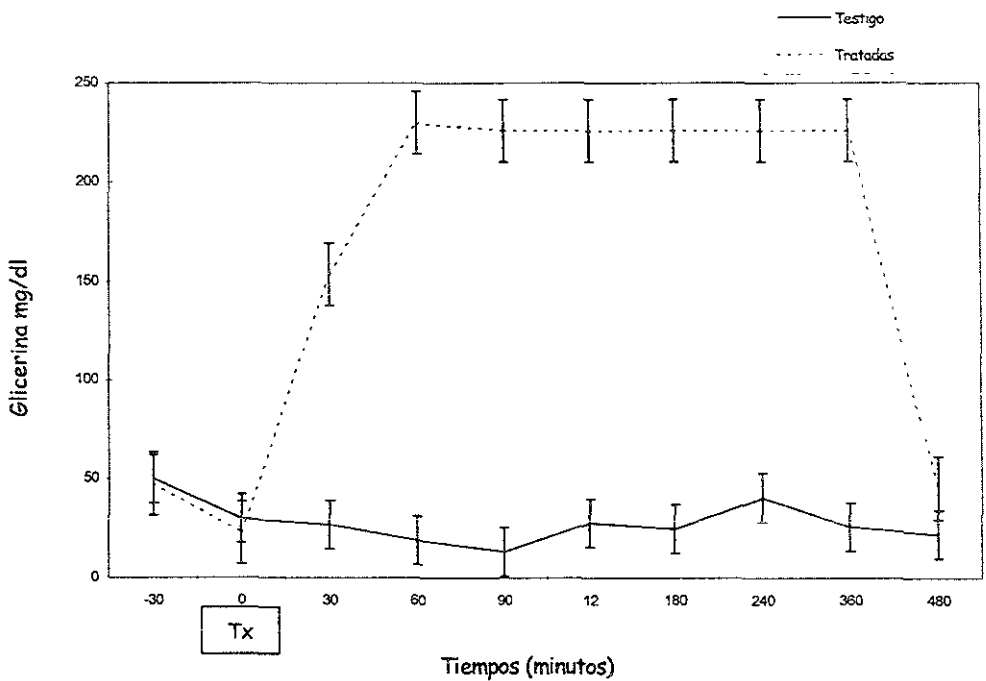


Figura 7. Cambios en las concentraciones séricas de glicerina después de la administración de 100 ml de glicerol por vía oral en borregas pelibuey.

VI DISCUSION

En este estudio se logró aumentar exitosamente la tasa ovulatoria con un tratamiento glucogénico oral de corta duración (6 días). Este tratamiento presenta ventajas sobre los protocolos de flushing utilizados anteriormente: Rodríguez *et al.*, (1996); Venter *et al.*, (1994); Teleni *et al.*, (1989); Downing *et al.*, (1991); Molle *et al.*, (1996); González *et al.*, (1992); Dufour *et al.*, (1977); Nottle *et al.*, (1997), etc., ya que acorta el tiempo de tratamiento a un periodo de tan solo 6 días, lo que facilita su implementación a nivel de campo.

La tasa ovulatoria obtenida en el grupo testigo; de este estudio (1.21 ± 0.11 e.e.), es similar a lo reportado para razas poco prolíficas como la pelibuey (1.21; *et al.*, 1991); Merino (1.25; Teleni *et al.*, 1989); Sarda (1.29; Molle *et al.*, 1996). Esto indica que aún en razas poco prolíficas, como la utilizada en este trabajo, se pueden implementar programas de sobrealimentación o flushing, logrando un considerable incremento en la tasa de ovulación.

El tiempo en que se administra el flushing también afecta la respuesta a éste. En el presente trabajo, 6 días de tratamiento fueron suficientes para aumentar la tasa de ovulación. La tasa ovulatoria obtenida en el grupo tratado con glicerol en el presente trabajo (1.81 ± 0.18 e.e), fue superior a la del grupo testigo. Con este tratamiento se logró un 56% de ovejas con ovulaciones múltiples en los animales tratados contra el 21% en los testigo y esto es superior a lo reportado por

Rodríguez *et al.*, (1996) quienes lograron aumentar la tasa ovulatoria al administrar por vía oral una mezcla de glicerol 70%, propilen glicol 20% y agua destilada 10% v/v en una sola dosis; inmediatamente después de la exposición al macho en borregas de la raza Corriedale en época anovulatoria (1.30 ± 0.05 e.e).

Molle *et al.*, (1996) al suplementar borregas de la raza Sarda con 270 g de semillas de soya con 48% de proteína cruda, durante diferentes períodos de tiempo obtuvieron una tasa ovulatoria igual a la obtenida en el presente experimento cuando la suplementación se dio por un período de 16 días (1.80) y resultó ser inferior al administrar dicho suplemento durante 7 y 35 días respectivamente (1.71 y 1.51). Así mismo (Venter y Geyling, 1994) obtuvieron una tasa ovulatoria inferior (1.33) al suplementar con maíz chocolate (maíz alcali-ionoforizado) 93%, lima 2.1%, melaza 2.7% y urea 1.3% durante 1 semana. Cuando se suplementó con esta misma fórmula durante 2 y 4 semanas se obtuvo una tasa ovulatoria baja (0.29 y 0.66) respectivamente, considerando que el grupo testigo del experimento realizado por Venter *et al.*,(1994) obtuvo una tasa ovulatoria de (0.56).

Teleni *et al.*, (1989) suplementaron con 750 gr de grano lupin al día y administraron una infusión de glucosa (525.1mmol/día) y acetato (1122.2mmol/día) durante 9 días obteniendo como resultado una tasa ovulatoria inferior a lo que se reporta en este estudio (1.57 vs 1.81) y de 1.64 cuando suplementaron a las borregas con grano lupin exclusivamente.

Por lo tanto, parece ser que el tratamiento de flushing puede ser muy efectivo al administrarse por períodos cortos siempre y cuando se mantengan los niveles nutricionales adecuados para la raza y estos se mejoren o incrementen durante todo el programa de flushing, manteniendo así los niveles energéticos altos durante el desarrollo folicular.

Las borregas pelibuey a diferencia de otras razas, exhiben ciclos estrales de Mayo a Diciembre, y la frecuencia de estos disminuye significativamente de Febrero a Abril, debido tal vez a factores como la temperatura y la humedad (González *et al.*, 1992). Siempre que se quiera implementar un programa de flushing se debe tomar en cuenta las particularidades de la raza con la que se esta trabajando y la época reproductiva, (Galina, 1995). En el presente ensayo se obtuvieron resultados óptimos ya que el flushing se realizó en uno de los trimestres donde esta raza presenta buena actividad estrual, González *et al.*, (1992).

Las concentraciones de glucosa de los animales tratados se incrementaron significativamente en comparación con el grupo testigo a los 30 minutos después de la administración del glicerol y se mantuvieron elevadas hasta 6 horas post-tratamiento, sin embargo las concentraciones de glucosa se mantuvieron dentro del rango fisiológico (44-81.2 mg/dl) (Boyd, 1984) durante todo el estudio. Resultados similares observaron Rodríguez *et al.*, (1996) quienes administraron glicerol y propilen glicol por vía oral y los niveles de glucosa en plasma

comenzaron a elevarse a las 3 horas posteriores al tratamiento, manteniéndose así hasta las 9 horas.

Así mismo, Venter *et al.*, (1994) llevaron a cabo un experimento en el que se realizó un flushing por 3 semanas con base en maíz chocolate (maíz alcali-ionoforizado) 93%, lima 2.1%, melaza 2.7% y urea 1.3% (11.7% PC y 11.86 MJ/kg.) en borregas Merino y encontraron que la glucosa plasmática aumentó significativamente ($P < 0.01$).

El glicerol comercial se utiliza como un tratamiento contra la toxemia de la preñez en borregas, ya que incrementa los niveles de glucosa plasmática durante 6 a 8 horas y se utiliza para reducir la mortalidad en borregas con cetosis (Rodríguez 1996). Una de sus desventajas puede ser el costo, ya que es más barato sobrealimentar a las borregas con productos que estén consumiendo en ese momento como concentrados de alta calidad y con alto contenido energético, pero el tiempo de tratamiento es más largo y no siempre se obtienen los resultados esperados. Basado en los resultados de este estudio se propone que el glicerol utilizado en el presente ensayo es comparativamente mejor que otros suplementos alimenticios por su facilidad de adquisición y manejo sencillo, además de que se logran resultados con tiempo de tratamientos cortos (6 días).

Aunque el manejo que se realizó con las borregas durante el período de flushing y el sangrado, fue muy sencillo, no se puede asegurar que las borregas no estuvieron sometidas a períodos de estrés cortos.

Los cambios en la tasa ovulatoria logrados con base en la nutrición no siempre van acompañados por cambios en las concentraciones de FSH y LH. En efecto, Rhodes *et al.*, (1995) y Enright *et al.*, (1994) no encontraron diferencias en los niveles de las gonadotropinas LH y FSH. Gutiérrez *et al.*, (1997) no encontraron cambios en FSH en un tratamiento nutrimental que aumentó el número de folículos reclutados en bovinos. El efecto flushing puede alterar los mecanismos de retroalimentación de las hormonas ováricas que influyen en la duración de la exposición de los folículos gonadotropinodependientes a FSH o reduciendo la acción de nutrientes específicos como la glucosa o los aminoácidos y metabolitos, insulina, hormona del crecimiento y proteínas de la dieta en la cantidad de FSH necesaria para soportar los folículos gonadotropinodependientes (Robinson, 1996).

Los requerimientos de energía metabolizable normales en una borrega son de 3.4 Mcal/día, (Nutrient Requirement of Sheeps, 1985) y en el presente experimento se les administró en promedio 11.25 Mcal/día por vía oral adicionalmente a lo que consumían durante el pastoreo. Tal como (Beitz, 1995) demostró que el consumo de dietas altas en energía y proteína producen la modificación en las concentraciones de algunas hormonas metabólicas, aumentando así la tasa ovulatoria, y que el aumento de energía disponible es benéfico para la reproducción en borregas, (Venter, 1994).

Se puede concluir que la administración por vía oral durante 6 días en la oveja pelibuey aumenta la tasa de ovulación

VII LITERATURA CITADA

- Hafez ESE. Reproducción e inseminación en animales domésticos. 5ta. ed. México:Mc Graw-Hill,1987
- Salamon S. Inseminación artificial de ovejas y cabras. México: Acribia, 1990.
- Wallace LR. Influence of liveweight and condition on ewe fertility. Proceedings of the Ruakura Farmers Conference Week 1961; 14.25 (ABA 30:2633).
- Coop IE. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. J. of Agric. Sci. 1966; UK 67:305-323 ABA 35:2649.
- Forcada MF, Abecia MJA, Zaragaza GC, Lozano CJM. Effects of planes of nutrition on reproductive traits in ewes with low ovulation rates. Arch. Zootec. 1992, 41:113-120.
- Smith JF, Stewart RD. Effect of nutrition on the ovulation rate of ewes. In: Oldham Cm, Martin GB, IW, editors. Reproductive Physiology of Merino Sheep. University of Western Australia, Peth, Australia, 1990:85-101.
- Fletcher IC. Effects of energy and protein intake on ovulation rate associated with the feeding of lupin grain to Merino ewes. Australian Journal of Agricultural Research. 1981, 32:79-87.
- Davis IF, Brien FD, Findlay JK, Cumming IA. Interactions between dietary protein, ovulation rate and follicle stimulating hormone in the ewe. Anim. Reprod. Sci. 1981, 19-28.
- Knight TW. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production. 1980, 40:38-42.
- Gunn RG, Doney JM, Smith WF. The effect of different durations and times of high-level feeding prior to mating on the reproductive performance of Scottish Blackface ewes. Anim. Prod. 1984b, 39:99-105.
- Dufour JJ, Matton P. Identification of ovarian follicles at estrus and development of their ensuing corpora lutea in single and multiple ovulating ewes on two feeding regimes. Can J. Anim. Sci. 1977, 57:647-652.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

- Lindsay DR. Proceedings of the Australian Society of Animal Production. 1976, 11:217-224.
- Landau S, Bor A, Leibovich H, Zoref Z, Nitsan Z, Madar Z. The effect of ruminal starch degradability in the diet of Booroola crossbreed ewes on induced ovulation rate and prolificacy. *Anim. Reprod. Sci.* 1995, 38:97-108.
- Gunn RG, Doney JM, Russel AJF. Embryo mortality in Scottish Blackface ewes as influenced by body condition at mating and post-mating nutrition. *J. Agric. Sci. Cambr.* 1972, 79:19-25.
- Downing JA, Scaramuzzi RJ. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1991, 43:209-227.
- Gunn RG, Doney JM, Smith WF. The effect of level of pre-mating nutrition on ovulation rate in Scottish Blackface ewes in different body conditions at mating. *Anim. Prod.* 1984a, 39:235-239.
- Oldham CM, Lindsay DR. The minimum period of intake of lupin grain required by ewe to increase their ovulation when grazing dry summer pasture. In: Lindsay DR, Pearce DT, editors. *Reproduction in Sheep*. Canberra: Cambridge University Press, Cambridge, 1984:274-275.
- Beitz DC. Physiological and metabolic systems important to animal growth. An overview. *J. Anim. Sci.*, 1985,61:1-20.
- Teleni E, Rowe JB, Croker KP, Murray PJ, King WR. Lupins and energy-yielding nutrient in ewes. II Response in ovulation rate in ewes to increase availability of glucose, acetate and aminoacids. *Reprod. Fert. Dev.*, 1989, 1:117-125.
- Hinch GN, Roelofs JHW. Lupin feeding and insulin infusion during late luteal phase can increase ovulation rate in sheep. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.*, 1986, 18:43.
- Gutiérrez CG, Campbell BK, Webb R. Development of a long term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to FSH and morphological characteristics. *Biol.---- Reprd*, 1997, 56: 608-616.
- Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 1996, 1:3418-3423.

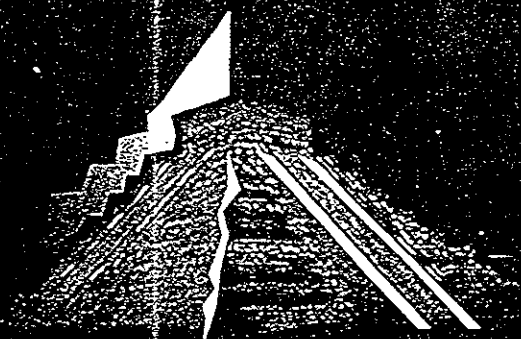
- Carson RS, Findlay JK, Burger HG, Trounson AO. Gonadotropin receptors of the ovine ovarian follicle during follicular growth and atresia. *Biol. Reprod*, 1979, 21:75-87.
- Armstrong DG, Baxter G, Gutiérrez CG, Hogg Co, Glazyrin AL, Campbell BK, Bramley TA and Webb R. Insulin-like growth factor binding protein -2 and -4 mRNA expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotrophins and development status. *Endocrinology*. 1998, 139:2146-2154.
- England BG, Webb R, Dahmer MK. Follicular steroidogenesis and gonadotrophin binding to ovine follicles during the estrous cycle. *Endocrinology*, 1981, 109:881-887.
- Webb R, Gauld IK, Land RB. Seasonal independence of follicle development in the ewe. *Proc 10th Int. Congr. Anim. Reprod. And A. I., Urbana-Campaign*, 1984, 10:498-499.
- Webb R, Gauld IK. Folliculogenesis in sheep: control of ovulation rate. In: Land and Robinson B, editors. *Genetics of Reproduction in Sheep*. London, 1985:261-274.
- Garcia E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. 1973.
- Russel JF, Doney JM, Gunn RG. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.*, 1969, 72:451-454.
- Rodriguez IRM, 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,
- Venter JL, Greyling JPC. Effect of different periods of flushing and synchronized mating on body weight, blood glucose and reproductive performance in spring-mated ewes. *Small Ruminant Res*, 1994, 13:257-261.
- Molle G, Landau S, Branca A, Sitzia M, Fors N, Ligios S, Casu S. Flushing with soybean meal can improve reproductive performances in lactating Sarda ewes on a matura pasture *Small Rum. Res*, 1996, 24:157-165.

- Gonzalez A, Murphy BD, Foote WC, Ortega E. Circannual estrous variations and ovulation rate in pelibuey ewes. *Small Rum. Res*, 1992, 8:225-232.
- Nottle MB, Kleemann DO, Seamark RF. Effect of previous undernutrition on the ovulation rate of Merino ewes supplemented with lupin grain. *Anim. Reprod. Sci*, 1997, 49:29-36.
- Galina CH, Saltiel CA, Valencia MJ. *Reproducción de animales domésticos*. México: Editorial Limusa, 1995.
- Boyd JW. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals. *Veterinary Clinical Pathology*. Veterinary Practice Publishing Co., 1984, 13:2.
- Rhodes FM, Fitzpatrick LA, Entwistle KW, De'ath G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J. Reprod Fertil*, 1995, 104:41-49.
- Enright WJ, Spicer LJ, Prendiville DJ, Murphy MG, Campbell RM. Interaction between dietary intake and ovariectomy on concentrations of insulin-like growth factor-I, GH and LH in plasma -----of heifers. *Theriogenology*, 1994, 41:1231-1240.
- Robinson JJ. Nutrition and reproduction. *Anim. Reprod. Sci.*, 1996, 42:25-34.
- Nutrient Requirements of Sheeps. Sixth Revised Edition, 1985.

XXXV

Reunión Nacional de Investigación Pecuaria

Y U C A T A N 1 9 9 9



MEMORIA

REUNION CIENTIFICA

CENTRO DE CONVENCIONES Y EXPOSICIONES
YUCATAN SIGLO XXI

DEL 19 AL 22
OCTUBRE



**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE GLICEROL ORAL SOBRE LA
CONCENTRACION SANGUINEA DE GLUCOSA Y LA TASA OVULATORIA EN
BORREGAS PELIBUEY**

Saharrea MA*, Gutiérrez CG, Golzarri PT, Alvarez IJ, Aguilera I y López N.
Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
U.N.A.M.

Un periodo de sobrealimentación previo al estró incrementa la tasa ovulatoria en ovejas. El objetivo de este estudio fue probar un tratamiento oral con glicerol sobre la tasa ovulatoria en ovinos. Se utilizaron un total de 50 ovejas pelibuey, 33.1 ± 0.85 kgs de peso y 2.3 ± 0.07 de condición corporal (CC) divididas en dos grupos mantenidos bajo pastoreo rotacional. Las ovejas del grupo tratado recibieron una mezcla de glicerol y agua (90:10 v/v) por vía oral en forma ascendente durante 6 días (día 1= 1×75 ml, día 2= 2×75 ml, día 3= 3×75 ml, día 4, 5 y 6= 3×100 ml) y el grupo testigo recibió agua al mismo tiempo. Al quinto día de tratamiento el estró fue sincronizado mediante la aplicación de PGF_{2a}. Los niveles séricos de glucosa y glicerol se determinaron en muestras sanguíneas obtenidas de 10 ovejas (5 por grupo) desde el inicio del tratamiento hasta un día posterior a la presentación de estros. Las ovejas que presentaron celo fueron sometidas a ultrasonografía transrectal el día 6 del ciclo estral (estró= día 0) para determinar el número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios. Las concentraciones de glucosa y glicerol se analizaron por ANCOVA tomando la concentración previa al tratamiento como covariable. El número de ovulaciones se analizó por medio de una prueba de T. El efecto de la glicerina sobre el cambio agudo en las concentraciones sanguíneas de glucosa y glicerina fue determinado en 6 animales mediante el muestreo continuo después de la administración única de 100 ml de glicerina ó agua por vía oral. Los muestreos se realizaron a los -30, 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 y 480 minutos.

Únicamente 30 ovejas presentaron celo, se encontró que el tratamiento con glicerina causó un incremento ($P < 0.05$) en el número de ovulaciones (1.81 ± 0.18 ; $n=16$), comparado con el grupo testigo (1.21 ± 0.11 ; $n=14$). No existieron diferencias en las concentraciones de glicerol entre grupos ($P > 0.05$) en las ovejas que se sangraron diariamente. Sin embargo, la concentración de glucosa en el grupo tratado fue mayor ($P < 0.05$) que en el testigo. En la respuesta aguda a la administración de glicerol se encontró que la glucosa y el glicerol aumentaron 30 minutos después del tratamiento manteniéndose elevados hasta por 6 hrs ($P < 0.05$). Se concluye que el tratamiento de glicerol aumenta las concentraciones de glucosa y glicerol y tiene un efecto benéfico sobre la tasa ovulatoria.

ABSTRACT SERIES NUMBER 25

JULY 2000

Journal of
REPRODUCTION
and fertility



Society for the Study of Fertility
British Fertility Society
British Andrology Society
JOINT MEETING

ISSN: 0954-0725



vel before slaughter was 2.98 ± 0.32 ng/ml in controls and 4.20 ± 0.44 ng/ml in treated heifers ($P < 0.05$), however the rate of progesterone synthesis by luteal cells *in vitro* was similar between both groups. In the sum, this study confirmed the down-regulation of GnRH receptors after continuously elevated oestrogen levels with clear effects on gonadotropin release and oestrogen effects on follicle development, corpus luteum function and oocyte maturation.

This work was supported by DFG (Schn 513/1-2).

2. Effects of extending the transient FSH rise during the first follicle wave in heifers on follicular gonadotrophin receptor and steroid enzyme messenger RNA (mRNA) expression.

Mihm¹, HA Garverick², B Bao², JF Roche¹ & MA Crowe¹. ¹University College Dublin, Ireland and ²University of Missouri, USA.

To determine the mechanisms by which extending the first transient FSH rise of the oestrous cycle prevents cohort atresia it also overrides dominant follicle (DF) selection, heifers were assigned into three treatments (n=21): i) control ovariectomised (OVX) on day 1.5 after oestrus (CON d1.5); ii) control OVX on day 4 after oestrus (CON d4), iii) FSH (1 mg Follitropin 4x / day) from day 1.5 after oestrus for 2 days and OVX on day 4 (FSH d4). Messenger RNA expression in granulosa (GC) and theca (TC) cells of healthy small (≤ 4.5 mm; SF), medium (5–8.5 mm; MF) and large (≥ 9 mm; LF) follicles was detected by in-situ hybridisation and quantified using image analysis. As shown previously, extending the first transient FSH rise overrode DF selection and maintained cohort follicles (number of LF: 9.3 ± 1.4 vs 1.7 ± 0.4 , $P < 0.05$; MF 8.9 ± 2.8 vs 6.3 ± 1.1 , $P > 0.05$ for FSH d4 and CON d4 heifers). Expression of LH receptor (55.1 ± 4.9 vs 3.9 ± 6.4 units), 17α hydroxylase (17α ; 47.9 ± 6.3 vs 71.3 ± 7.9 units) and steroid acute regulatory protein (StAR; 19.9 ± 3.5 vs 3.8 ± 5.1 units) mRNA in TC of LF was lower ($P < 0.05$), and expression of side chain cleavage (SCC; 56.4 ± 13.1 vs 20.8 ± 3.4 units) mRNA in TC of MF was higher ($P = 0.07$) in FSH d4 compared with CON d4 heifers. Expression of aromatase (AROM; 62.2 ± 5.7 vs 82.9 ± 9.35 units) mRNA in GC of LF was increased ($P = 0.07$), while expression of FSH receptor (43.8 ± 21 vs 19.1 ± 8.82 units) mRNA in GC of MF was increased ($P < 0.05$) in FSH d4 compared with CON d4 heifers. Thus, extending the first transient FSH rise increased expression of LH receptor and SCC mRNA in MF; while expression of LH receptor, 17α and StAR in LF was decreased. In conclusion, higher LH receptor, aromatase, 17α and StAR mRNA expression control LF on day 4 are related to the FSH decline and may be associated with differentiation of the first DF of the oestrous cycle in heifers.

Supported by Fulbright and OECDF.

3. The effect of short-term administration of a glycoegenic lution on plasma glucose concentrations and ovulation rate Pelibuey sheep.

J Gutiérrez, A Saharrea, T Palacios, J Alvarez, I Aguilera & N Lopez. Facultad de Medicina Veterinaria, UNAM. México, DF. 510

Food supplementation enhances ovulation rate in sheep. However, in most cases the flushing period should be at least a

couple of weeks long to be effective. The objective of this work was to test the effect of a glycoegenic solution, given orally, on the ovulation rate of sheep Fifty Pelibuey sheep (33.1 ± 0.85 kg; 2.3 ± 0.07 body condition score) were kept in pasture and allocated to two groups. Group 1 (G1) were given increasing amounts of a glycerol-water (90:10 v/v) solution, whilst group 2 (G2) received only water for 6 days (Day1=1x75ml, D2=2x75ml, D3=3x75ml, D4=6=3x100ml) starting on day 8 of the cycle. On the fifth day of treatment, oestrus was synchronised with PGF2 α . Ovulation rate was assessed by transrectal ultrasonography on day 6 of the oestrous cycle. Glucose and glycerol concentrations were determined in 5 sheep per group, from the start of treatment until one day after oestrus. In addition, acute changes in glucose and glycerol concentrations were measured in 6 sheep after a single dose of glycerol or water (100ml) at -30, 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 and 480 min. Thirty sheep showed oestrus two days after PGF2 α injection. Ovulation rate was higher ($P < 0.05$) for G1 (1.81 ± 0.18 ; n=16) compared to G2 (1.21 ± 0.11 ; n=14). Glycerol concentrations did not differ between groups ($P > 0.05$). However, glucose concentrations were higher ($P < 0.05$) in G1. Both glucose and glycerol plasma concentrations increased ($P < 0.05$) after 30 min glycerol administration and remained high for 6h. In conclusion, short-time glycerol treatment increases ovulation rate in sheep which is associated with higher glycerol and glucose concentrations.

(This work was supported by CONACYT J27756-B)

144. Evidence for direct suppressive effects of prolactin (Prl) on gonadotrophin-induced follicular differentiation, both *in vitro* and *in vivo*, in sheep.

BK Campbell* & DT Baird. Dept. Obstetrics and Gynaecology, University of Edinburgh, UK. *Present address: School of Human Development, University of Nottingham, QMC NG7 2UH UK.

Hyperprolactinaemia is associated with anovulatory infertility but evidence for a direct effect of Prl on ovarian function is equivocal. The aim of these studies was to determine if Prl effects gonadotrophin (Gn)-stimulated follicular differentiation. In Exp. 1 granulosa (GC; Campbell *et al* 1996 JRF 106) and theca (TC; Campbell *et al* 1998 JRF 112) cells from small follicles were cultured for 6-8 days under optimum conditions to induce cellular differentiation with FSH (GC, 0-10 ng/ml) or LH (TC, 0-1 ng/ml) and 0, 0.1-1000 ng NIH-oPrl-21/ml. In Exp. 2, 12 ewes with ovarian autotransplants were suppressed with GnRH-antagonist and ovulatory follicle development stimulated using a physiological Gn-regime (Campbell *et al* 1999 JRF 117). Over this period some animals also received oPrl-21 (250 μ g/2h; n=4) or Thyrotrophin releasing hormone (20 μ g/h; TRH; n=4). In Exp. 1 Prl induced a marked depression ($P < 0.001$) in oestradiol production by GC and there was a strong interaction between dose of FSH and Prl ($P < 0.001$) with an ED50 of 3-200 ng/ml. In contrast, Prl had no effect on androstenedione (A4) production by TC in the presence of LH but stimulated ($P < 0.01$) A4, in the absence of LH, at high doses. This effect, could be blocked by oLH antiserum (NIAMDD 1:5000) and was attributed to LH contamination in the Prl preparation. In Exp.2, Prl concentrations were elevated ($P < 0.05$) over controls (C; 12.1 ± 1.7 ng/ml) in Prl (20.6 ± 2.1 ng/ml) and TRH treated animals (58.5 ± 17.1 ng/ml) and the ability of the Gn-regime to induce ovulatory follicle development was negatively related to circulating prolactin