

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



USO DE LA OXITOCINA COMO DILATADOR CERVICAL PARA INSEMINACIÓN
TRANSCERVICAL EN CABRAS JÓVENES DURANTE EL INICIO DE LA ÉPOCA
REPRODUCTIVA

TESIS

Presentada por

VALERIA ALVARADO GUTIÉRREZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de

MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

General. Escobedo, Nuevo León, México

AGOSTO 2021

USO DE LA OXITOCINA COMO DILATADOR CERVICAL PARA INSEMINACIÓN
TRANSCERVICAL EN CABRAS JÓVENES DURANTE EL INICIO DE LA ÉPOCA
REPRODUCTIVA

TESIS

Presentada
por
VALERIA ALVARADO GUTIÉRREZ

Como requisito parcial para obtener el
Grado de

MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

Comité de Tesis



Dr. Fernando Sánchez Dávila
Presidente



Dr. Rogelio Alejandro Ledezma Torres
Secretario



Dra. Estela Garza Brenner
Vocal

AGRADECIMIENTOS

A lo largo de estas líneas quiero expresar mi agradecimiento a las personas que con su soporte humano y científico me guiaron pacientemente para hacer posible la realización de este proyecto de investigación.

Al Dr. Fernando Sánchez Dávila que, con esmero y dedicación, aportó su conocimiento y me dirigió asertivamente para la realización y culminación de este proyecto, así mismo por la confianza depositada en mí.

De forma muy enfática al, MC. David Domínguez Díaz quien estuvo en todo momento apoyándome, guiando la investigación, brindándome conocimiento para el desarrollo de las técnicas y quien sin el indudablemente esto no habría sido posible.

De manera particular a los Dres. Estela Garza Brenner y Rogelio Alejandro Ledezma Torres, por el apoyo brindado durante la ejecución de todas y cada una de las tareas inherentes al proyecto de investigación, principalmente en la revisión de la presente investigación.

Al Dr. Víctor Aguirre Arzola por acrecentar en mí el interés por la biotecnología, por el tiempo y conocimiento compartido en el aula.

Al Dr. Uziel Castillo Velázquez, por ser mi tutor durante esta etapa académica, por darme siempre palabras de aliento, recordándome y motivándome con sus palabras mis capacidades y por confiar en mí, y porque indudablemente sin su apoyo este trabajo no hubiese sido posible, porque con sus sabios consejos alcancé dirección cuando la necesité.

A mis compañeras de maestría las MVZ. Argelia Holguín Salas y Gloria Itzel Nolasco Hernández, por su amistad y soporte emocional, por siempre estar allí.

A las Instituciones que hicieron posible la culminación de una etapa más en mi formación académica y profesional; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por facilitarme las instalaciones necesarias para el desarrollo de este proyecto, así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca y el apoyo para la realización del mismo.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo primeramente a mis padres Jesús Alvarado Espinosa y María Elena Gutiérrez Garduño por su invaluable apoyo, por la confianza y amor que me han brindado, a ustedes les debo lo que soy.

A mis hermanos Olivia, Ernesto y Maria de Jesús quienes siempre han estado para mí, que han sido un valioso soporte y en quienes puedo confiar.

A Karen Espinoza Delgado por su amor incondicional que ha sido mi abrigo, y soporte para concluir esta magnífica travesía. Gracias por ser mi refugio y el impulso para siempre seguir.

A mis sobrinos Alanna y Javier que son mi motor, a quienes amo profundamente.

Al MVZ. Esp. Genaro Aguilar porque sin importar el tiempo o la distancia siempre ha estado para ayudarme a resolver mis dudas y ser mi ejemplo para seguir como profesionista.

A mi mejor amiga Berenice Hernández, porque incontables veces me sacaste de un apuro, y siempre me tendiste la mano aun en la distancia, siempre estuviste cerca de mí.

A mi prima y amiga Clarissa por siempre darme un buen consejo cuando lo necesité, por estar al pendiente de mí y ser mi guardadora de secretos.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	8
I.1 ANTECEDENTES	10
I.2 HIPÓTESIS	10
I.3 OBJETIVOS	11
II. REVISIÓN DE LITERATURA	12
II.1 PRODUCCIÓN CAPRINA A NIVEL MUNDIAL Y NACIONAL	12
II.2 CICLO ESTRAL DE LA CABRA.....	13
II.3 TÉCNICAS REPRODUCTIVAS EN CABRAS	16
II.3.5. SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y LA OVULACIÓN	18
II.3.2 TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CABRAS.....	20
II.4 FACTORES QUE AFECTAN LAS TASAS DE GESTACIÓN EN CABRAS.....	21
II.5 USO DE FÁRMACOS PARA DILATAR EL CÉRVIX EN ANIMALES DOMÉSTICOS.....	21
II.6 ESTRUCTURA BIOQUÍMICA DE LA OXITOCINA	23
II.6.1 USOS VETERINARIOS DE LA OXITOCINA	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS	26
III.2 MANEJO DE LOS ANIMALES	26
III.3 MANEJO REPRODUCTIVO PREVIO Y DURANTE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO	27
III.4 TRATAMIENTOS.....	27
III.5 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	27
III.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	28
IV RESULTADOS.....	29
V. DISCUSIÓN.....	30
VI. CONCLUSIÓN.....	33

Lista de abreviaturas

IAT	Inseminación artificial transcervical
FSH	Hormona Folículo estimulante
LH	Hormona luteinizante
PG2alfa	Prostaglandina F2 alfa
eCG	Hormona coriónica equina
hCG	Hormona coriónica humana
OT	Oxitocina
IA	Inseminación artificial
TE	Transferencia embrionaria
MAP	Acetato de medroxiprogesterona
FGA	Acetato de fluorogestona
Cb	Carbetocina
E2	Estradiol
CL	Cuerpo Lúteo

Resumen

Con el fin de evaluar el efecto de la Oxitocina como dilatador del cuello uterino, el presente estudio se realizó en cabras nulíparas inseminadas transcervicalmente al inicio de la temporada reproductiva. Se utilizaron 116 cabras nulíparas con un peso vivo de 33.4 ± 0.68 kg y una edad de 13.7 ± 0.37 meses. Las cabras fueron expuestas a machos activos de fertilidad probada durante un período de 14 días para inducir el estro. Una semana después se aplicó el protocolo Ovsynch que consistió en la aplicación de 20 mg de Gonadorelina (día cero), 0.075 mg de Cloprostenol (día 7) y de una segunda dosis de 20 mg de Gonadorelina (día 9). La Inseminación artificial (IA) se realizó 16 h después. Se evaluaron tres dosis de Oxitocina: T1 = 50 UI de solución salina; lo equivalente a 2.5 ml, T2 = 25 UI de Oxitocina o 1.25 ml; T3 = 50 UI de Oxitocina o 2.5 ml, aplicada por vía intravenosa 10-15 minutos antes de la IA. El tiempo necesario para inseminar cada cabra tratada de los grupos T2 y T3 fue 49.56 y 56.25 s, frente a los 85.78 s necesarios para las cabras del grupo T1 ($P < 0.0001$). En el grupo de cabras T1, el catéter de inseminación se insertó 2.1 cm en el canal cervical, y en las cabras de los grupos T2 y T3 alcanzó 3.41 y 3.77 cm respectivamente ($P < 0.02$). Las tasas de preñez y prolificidad fueron más altas ($P < 0.02$) para los grupos T2 y T3. En conclusión, la administración intravenosa de Oxitocina condujo a una mayor dilatación y profundidad de penetración cervical, obteniendo mayores tasas de preñez y prolificidad.

Palabras clave: inseminación artificial, oxitocina, dilatación, cérvix, cabras.

Summary

In order to evaluate the effect of oxytocin as a cervix dilator, the present study was carried out on nulliparous goats inseminated transcervically (IA) at the beginning of the reproductive season. 116 nulliparous goats with a live weight of 33.4 ± 0.68 kg and an age of 13.7 ± 0.37 months were used. The goats were exposed to active bucks of proven fertility for a period of 14 d in order to induce heat. One week later, the Ovsynch protocol was applied which consisted of the application of 20 mg of Gonadorelin (Day Zero), 0.075 mg of Cloprostenol (Day 7) and of a second dose of 20 mg of Gonadorelin applied on Day 9. Artificial insemination (AI) was performed 16 h later. Three different treatment oxytocin doses were evaluated: T1 = 50 IU saline, T2 = 25 IU oxytocin; T3 = 50 IU of oxytocin, intravenously applied 10-15 minutes before IA. The time required to inseminate each treated goat from groups T2 and T3 was 49.56 and 56.25 s, vs 85.78 s needed for the goats from group T1 ($P < 0.0001$). In the T1 group of goats, the insemination catheter was inserted 2.1 cm into cervical canal, and in goats from groups T2 and T3 it reached 3.41 and 3.77 cm into the cervical canal, respectively ($P < 0.02$). Pregnancy rates and prolificacy were higher ($P < 0.02$) for groups T2 and T3. In conclusion, the intravenous administration of oxytocin led to greater dilation and depth of cervical penetration, obtaining higher pregnancy rates and prolificacy.

Key words: transcervical artificial insemination, oxytocin, dilation, cervix, pregnancy rate, goats.

I. INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es fundamental para introducir características específicas de alto valor genético a una población (Parkinson y Morrell, 2019). En ovejas y cabras jóvenes su uso es limitado, en primer lugar por la anatomía del cérvix de las ovejas, una estructura larga, fibrosa y tubular con 5 anillos (Kershaw et al., 2005), y en cabras jóvenes por la estrechez de la vagina, que impide manipular el vaginoscopio y visualizar la entrada del cuello del útero para depositar el semen (Fonseca et al., 2017); en segundo lugar, en ambas especies, con IA por laparoscopia los porcentajes de gestación obtenidos con semen congelado (40-60 %) y con semen fresco (70 %) son variados (Gibbons et al., 2019; Luo et al., 2019); y en tercer lugar, por los altos costos, el tiempo consumido y el equipo especializado, además de las implicaciones al bienestar de cada animal al momento de realizar la IA intrauterina .

La IA transcervical se desarrolló con el fin contrarrestar las limitaciones de la IA intrauterina, con la cual se han reportado porcentajes de parición de 74 %, al depositar el semen en la entrada del útero, de 49 %, en el cérvix, y de 33 % en el área vaginal de las cabras (Viudes-de-Castro et al., 2009). A partir de las dificultades que se presentan para penetrar el cuello del útero, en los últimos 20 años se han utilizado hormonas dilatadoras para mejorar la eficiencia de la IA en ovejas y cabras adultas, así como para llevar a cabo protocolos de lavado de embriones de hembras donadoras por métodos no quirúrgicos (Fonseca et al., 2019). El uso de oxitocina (OT) (Viudes-de-Castro et al., 2009), en combinación con misoprostol (15-desoxi-16-hidroxi-16-metil PGE1), que es una forma sintética estable del análogo de prostaglandina E1 Dinoprostona (prostaglandina E2 (PGE2) se han utilizado para dilatar el cérvix y llevar a cabo la IA por medio de dispositivos vaginales (Bartlewski et al.,

2015). La combinación de OT y estradiol (E_2), se utilizan tanto en el proceso de IA como en el lavado de embriones, sin afectar la fase lútea (dos Santos et al., 2020), y por tanto modificar las tasas de pariciones (Robinson et al., 2011).

La OT ha mostrado su efecto como dilatador del cuello del útero en ovejas y cabras, para depositar el semen adelante del cérvix (Viudes-de-Castro et al., 2009). La OT provoca la liberación de prostaglandinas, como la PGE_2 , que actúa sobre el tejido conectivo adyacente del endometrio y las células del músculo liso, para inducir la dilatación del cérvix y facilitar el transporte de los espermatozoides durante el estro (Falchi y Scaramuzzi, 2015). Se han reportado resultados contradictorios sobre el uso de dilatadores del cérvix en la fertilidad de las hembras, al mismo tiempo que el uso y evaluación de dilatadores en animales jóvenes ha sido limitado, tal como el trabajo reportado por Leethongdee et al. (2020), quienes obtuvieron una tasa de gestación de 65 % y 55.5 %, con Hialuronidasa y Flunixin-Meglubine, respectivamente, al exponer el cérvix hacia el exterior y depositar el semen en la entrada del útero (Fonseca et al., 2017).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la oxitocina, como dilatador del cérvix, sobre la eficiencia reproductiva en cabras nulíparas, de 13-14 meses de edad, durante el inicio de la época reproductiva.

I.1 ANTECEDENTES

Por la anatomía que presenta el cérvix de la cabra se hace extremadamente difícil que el catéter de inseminación pueda atravesarlo, aun cuando la cabra presente celo, por ello que la profundidad a la que es depositado el semen condicione en gran medida los resultados de fertilidad.

A lo largo del tiempo se han presentado trabajos que demuestran que el uso de oxitocina en ovinos induce la dilatación del cérvix, lo que facilita el paso del catéter inseminador al interior del útero (Khalifa et al.,1992, Sayre y Lewis.,1997) sin provocar efectos negativos en la fertilidad de la inseminación (Stellflug et al., 2001).

La OT y la PG2 α se han empleado para dilatar el cérvix y poder hacer más permisible la canulación del mismo, ya se a que la administración se de en forma individual (Stellflug et al., 2001; King et al., 2004; Leethongdee et al., 2010) o en conjunto (Leethongdee et al., 2007; De Rossi et al., 2009; Falchi et al., 2012).

Gonnet y Larrossa (2017) realizaron la administración de oxitocina con PG2 α para inducir la dilatación del cérvix en ovejas, obteniendo resultados claramente superiores comparados con animales que no fueron tratados a la hora de realizar la inseminación.

I.2 HIPÓTESIS

La administración de oxitocina previa a la inseminación artificial transcervical en cabras nulíparas, de 13-14 meses de edad tendrá efectos positivos sobre la dilatación del cérvix en las hembras, lo que dará como resultado un incremento en la tasa de preñez de las cabras que reciban el tratamiento.

I.3 OBJETIVOS

El objetivo principal del estudio fue evaluar la oxitocina como dilatador del cérvix en cabras jóvenes de 13-14 meses de edad al inicio de la época reproductiva.

Determinar el efecto positivo de la oxitocina como dilatador cervical tras su administración en cabras jóvenes.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

II.1 Producción caprina a nivel mundial y nacional

El consumo per-cápita de carne caprina en países subdesarrollados se duplicó a partir del 1980, donde el consumo era de 14 kg , alcanzando 29 kg/año en el 2002, la producción total de carne se triplicó de 47 millones de toneladas a 139 millones de toneladas durante el mismo periodo de tiempo, en países con crecimientos económicos acelerados como lo es China y otros países de Asia del este el desarrollo ha sido mucho más dinámico, un ejemplo es China quien representa el 57% del incremento en el abastecimiento de carne para países en desarrollo, en el área de la producción de leche es un poco menos desatacada pero sigue avanzando, la producción láctea en países en vías de desarrollo se expandió en un 122% entre 1980 y el 2002 , el incremento las resaltable es en India ya que el 40 % de ese incremento se dio en dicho país, debido al aumento de la producción y una pequeña parte a importaciones. En todos los países en vías de desarrollo, las importaciones solamente representan el 0.5% y el 14.5% de la producción total de carne y leche, respectivamente (Aréchiga et al., 2008).

En México se concentra la producción de cabras principalmente en regiones áridas donde prevalecen la escasez de agua y la sequía, son los productores con escasos recursos los que predominan en este sistema de producción, debido a que son dependientes en gran manera al pastoreo en tierras comunales (Echavarría et al., 2006).

De acuerdo con las cifras proporcionadas por la secretaria de agricultura y desarrollo rural (SADER). La producción en México de carne de canal de caprino es de más de 77 mil toneladas, y la producción de leche de más de 160 mil litros.

II.2 Ciclo estral de la cabra.

El ciclo estral de la cabra dura en promedio 21 días (Abecia et al., 2011) y se encuentra dividido en 4 fases conocidas como: proestro, estro, metaestro y diestro. Durante el proestro y estro se lleva a cabo el desarrollo del folículo ovulatorio y la ovulación, es en el estro cuando las cabras presentan conductas que estimulan al macho y se muestran receptivas para la cópula (Billings y Katz, 1997). El estro tiene una duración aproximada de entre 24 a 36 horas y al final de esta etapa se presenta la ovulación. El metaestro involucra la fase inicial de formación del cuerpo lúteo y la producción de progesterona (P4), entre el día 2 y 3 el cuerpo lúteo es visible por medio de ultrasonido, lo que muestra el inicio del diestro, esta etapa tiene una duración de 16 días, al final de esta, se da la liberación de prostaglandina F2 alfa que ocasiona la destrucción del CL iniciándose de nuevo el ciclo estral (Rahman et al., 2008).

Fases del ciclo estral

El proestro, es el período que antecede al estro conductual, su principal característica es la caída en las concentraciones de P4 como consecuencia de la regresión luteal y la inmediatez y desarrollo del folículo ovulatorio que implica el incremento en la concentración de estrógenos (E2) (Senger, 2003; Davies, 2005).

En el estro, periodo que procede al proestro que corresponde al periodo que prosigue al proestro (Senger, 2003; Davies, 2005), el E2 es la hormona que predomina y quien es responsable en mayor proporción de los cambios de comportamiento en las hembras, principalmente aquellos que conllevan la receptividad sexual y la cópula (Davies, 2005).

El metaestro es el período en el cual lo que queda del folículo va a adoptar la forma del cuerpo lúteo transformándose en este.

El diestro es la etapa del ciclo estral donde el cuerpo lúteo tiene una funcionalidad total y gran secreción de P4, el ciclo estral también se puede clasificar en fase lútea que va desde el día 2-3 (celo día cero) hasta el día 13 del ciclo, en donde coincide con el metaestro y diestro, por lo que la fase folicular va desde la luteólisis (regresión del CL) y se produce en el día 13-14 hasta el día 2 del ciclo lo que comprende al proestro y estro (Ungerfeld, 2020).

Fase folicular y ovulación

El desarrollo folicular se presenta en un patrón de oleadas durante el ciclo estral. Una oleada folicular se caracteriza por el crecimiento sincrónico de un grupo de folículos, sin embargo, solo uno de ellos va a crecer lo suficiente para ser denominado folículo dominante, mientras que el resto sufrirán una regresión por inhibición de su desarrollo y se les conoce como folículos subordinados. Algunos estudios determinan un número de ondas de entre 2 a 4, aunque se pueden llegar a presentar hasta 6 (Uribe-Velásquez et al., 2010). La primera etapa de crecimiento se presenta desde la fase del folículo primordial hasta la fase de folículo preantral, presentando proliferación celular en la granulosa y aparición de receptores para hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), en la granulosa y en la teca, respectivamente. Durante la segunda etapa es característica la intensa proliferación y diferenciación celular debida a la adquisición de capacidad esteroideogénica lo que da lugar a folículos que son dependientes del aporte gonatrófico, a esta fase se le conoce como reclutamiento folicular y en esta se permite el paso a la fase en la que se lleva a cabo la selección folicular, en donde evidentemente el folículo seleccionado será el folículo

dominante que por lo regular tiene un diámetro de entre 5-6 mm y el cual es el que será ovulado (Picazo y López, 1995).

La secreción de FSH durante el ciclo estral no se encuentra bien determinada, como lo está el mecanismo que explica la liberación de LH. El aumento de los niveles preovulatorios de FSH parece estar gobernado por los mismos mecanismos que determinan el pico de LH, es decir un estímulo de la secreción de la GnRH provocado por un retrocontrol positivo con los E2 ováricos; y aun así el aumento de los niveles de LH es posterior al de FSH (Ungerfeld, 2020). El folículo dominante, es el principal responsable de las mayores concentraciones circulantes de E2 durante la fase folicular del ciclo estral (Senger, 2003; Rajkovic et al., 2006; Kinder, 1996). Este aumento en la secreción de E2, es el resultado de un aumento en la liberación de LH y FSH (Hunzicker-Dunn et al., 2015) y por lo tanto esto refleja la madurez del folículo preovulatorio, lo cual se asocia a un incremento en el total de los receptores para LH en las células de la teca y granulosa. Altos niveles de E2, seguido de bajos niveles de P4, inducen visibles cambios de comportamiento en la hembra, lo que la hace sexualmente receptiva y la cópula tendrá lugar si existe un macho disponible (la duración aproximada del celo será de 22 horas) (Senger, 2003; Pedram et al., 2002). En ausencia de altas concentraciones de P4, ocurre una retroalimentación positiva entre la hormona liberadora de gonadotropinas GNRH y la LH por una parte y por otras ocurre de forma similar al E2, ante cada pulso de GnRH la hipófisis contesta con un pulso de LH, y el folículo responde a la LH mediante la secreción de E2, por lo que el E2 aumenta la sensibilidad que tiene la hipófisis a la GnRH (Reeves et al., 1971) de tal forma que se produce una descarga excesiva de LH, el pico de LH (este ocurre entre 5 y 12 horas después del inicio del estro).

El proceso ovulatorio se produce a partir del mismo, llevando a cabo el estallido del folículo preovulatorio y la liberación del ovocito. La ovulación es el proceso biológico por el cual un ovocito maduro y las células somáticas que lo rodean (el complejo cumulus-ovocito), son liberados de la superficie ovárica (debido a la ruptura de la pared folicular) hacia el oviducto para su posterior transporte y fertilización (Senger, 2003; Richards et al., 2008). La ovulación tiene lugar entre 24 a 30 horas luego del inicio del celo (Ungerfeld, 2020).

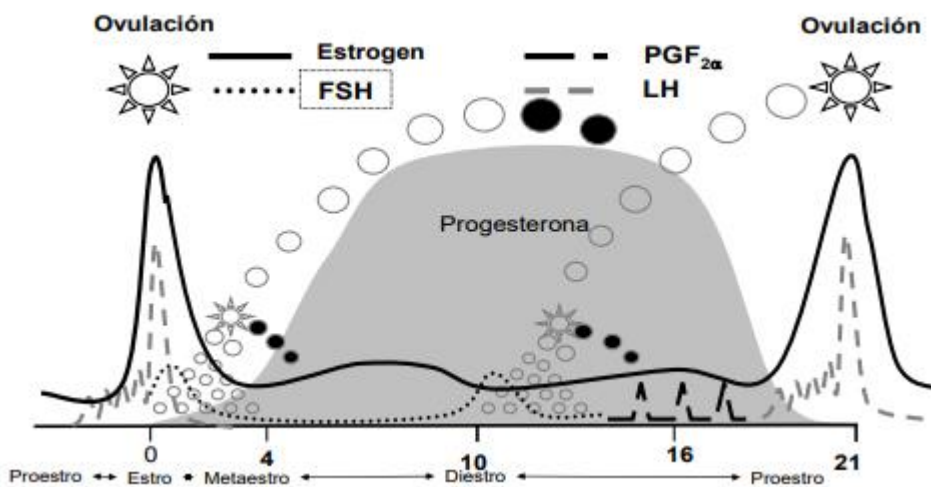


Figura 1. Representación del ciclo estral y sus hormonas involucradas (Rippe. 2018).

II.3 Técnicas reproductivas en cabras

II.3.1. Inseminación Artificial (IA)

La primera biotecnología de reproducción asistida, la más utilizada en el mundo y la que más contribución aporta al mejoramiento genético es la inseminación artificial (IA; Nicholas, 1996). El éxito de la IA se debe en gran medida a su practicidad, y su gran capacidad de lograr cambios considerables en la productividad de los hatos cuando son utilizados machos

bien seleccionados por medio de test de progenie (Evans y Maxwell, 1987; Chemineau y Cognie, 1991; Leboeuf et al., 2000).

Existen distintos tipos de inseminación artificial entre los que destacan la inseminación vaginal, cervical, transcervical e intrauterina con el uso de laparoscopios, dichas técnicas deben ser evaluadas de acuerdo al tipo de hato y a los objetivos de cada sistema de producción.

II.3.2. Superovulación y transferencia embrionaria

La transferencia embrionaria (TE) tiene por objetivo aumentar el número de crías de hembras que posean alto valor genético. Dicho método, permite lograr un mayor aprovechamiento de los ovocitos existentes en los ovarios de la hembra, para llevar a cabo la técnica es necesario realizar una estimulación de ovarios a través de la administración de tratamientos hormonales para producir una ovulación múltiple. Con la TE es posible acortar el intervalo generacional, y aumentar el avance genético (Gibbons y M. Cueto, 1995).

II.3.3. Producción de embriones *in vitro* colectados por laparoscopia y congelación para conservación.

La producción de embriones *in vitro* consiste en primer lugar de la obtención de ovocitos recolectados por laparoscopia, la cual es una técnica que permite la visión y la manipulación de la cavidad abdominopélvica mediante el laparoscopio, el cual se introduce por una pequeña incisión y que consta de una fuente de luz transmitida por una fibra óptica; por medio de la cual se proyecta a un monitor (Baldassarre, 2007). Para posteriormente ser lavados, rastreados, madurados, fertilizados e incubados hasta obtener el embrión en estado de mórula

o blastocisto, los cuales se pueden conservar para su utilización posterior, existen diferentes formas de conservación pero las más comunes y con mejores resultados son la congelación por curva lenta, y la vitrificación que básicamente es la congelación ultrarrápida de las células al exponer a estas a crioprotectores y nitrógeno para su congelación inmediata, evitando así la formación de cristales intracelulares.

II.3.4. Clonación

El uso de la clonación caprina es casi nula si se tiene en mente realizarse con fines reproductivos, la clonación se ve dirigida principalmente a animales transgénicos de alto valor, esto se debe principalmente al alto costo y que la tecnología disponible actualmente aun lo hace una práctica ineficiente, esto también se presenta ya que el valor de los caprinos suele ser inferior al de otras especies como bovinos y equinos, donde esta tecnología se encuentra más desarrollada (Baldassarre 2007).

II.3.5. Sincronización del estro y la ovulación

La sincronización de celos se emplea en los sistemas de producción de cabras debido a que son de gran utilidad al concentrar los servicios y por consiguiente los partos, las hormonas de mayor utilización son la progesterona o los progestágenos sintéticos acompañados de gonadotropinas como eCG o Hcg (Whitley y Jackson, 2004; contreras- Villareal et al., 2016; Alvarado -Espino et al., 2016).

Existen diferentes variantes de dispositivos liberadores de hormonas, como lo son las esponjas de poliuretano de alta densidad, usualmente impregnadas con progestágenos sintéticos como el acetato de medroxiprogesterona (MAP) o el acetato de fluorogesterona

(FGA) (Wildeus, 2000). Los progestágenos poseen actividad más potente que la progesterona natural, por lo que su utilización es dosificada en pequeñas cantidades, así mismo existen dispositivos intravaginales a base de silicona impregnados con progesterona y que pueden ser reutilizados (Manes y Ungerfield, 2015).

Las esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos se utilizan en ovinos y caprinos con la finalidad de tener un control sobre el estro y la ovulación durante la cría y en épocas no reproductivas (Romano, 2004). Los métodos de sincronización del estro y de la ovulación que utilizan P4 o sus análogos (progestágenos), manifiestan efectos basados sobre la fase luteal del ciclo, recreando la actividad de la progesterona natural que se produce en el CL posterior a la ovulación, quien se encarga de inhibir la GnRH y por consecuencia también la LH y la FSH (Wildeus, 2000). Cuando las cabras se encuentran en anestro estacional, estas necesitan de la acción de la progesterona para poder manifestar el celo (Billings y Katz, 1997). La progesterona tiene efectos sobre el crecimiento de una nueva oleada folicular lo que conlleva a un mejor desarrollo folicular (González-Bulnes et al., 2006). La Gonadotropina coriónica humana (hCG), es una hormona que se produce durante la gestación de la mujer (Cole, 2010), y es sintetizada por el embrión y posteriormente por el trofoblasto placentario (De Rensis et al., 2010). Su estructura es similar a la LH y tanto que utilizan el mismo receptor, esta hormona es esencial para mantener la gestación en mujeres ya que estimula la producción de la P4 (Pakarainen et al., 2007). Se tiene evidencia de sus efectos sobre la estimulación del desarrollo folicular y la ovulación (Filicori et al., 2002). En caprinos uno de sus principales usos ha sido para llevar a cabo la inducción del estro (Fonseca et al., 2005). Así como para disminuir la incidencia de ciclos cortos en cabras superovuladas

(Saharrea et al., 1998) y para aumentar la secreción de progesterona (Fonseca y Torres, 2005).

II.3.2 Técnicas de inseminación artificial en cabras

Inseminación vaginal: Este método se basa en el depósito del semen fresco diluido en el interior de la vagina de la cabra sin realizar la localización del cérvix, (Speedy, 1992).

Inseminación cervical: Es la técnica más utilizada, la cual involucra la deposición del semen en la entrada del cérvix guiándose con un espéculo y una fuente de luz. Se caracteriza por ser un método económico y fácil de realizar en el cual se usa semen fresco o congelado con o sin diluyente (Speedy, 1992).

Inseminación transcervical: Este método se realiza sujetando y retrayendo el cérvix hacia la vagina usando un par de fórceps para permitir la introducción de un instrumento inseminador en el canal cervical. Esta técnica provoca por la manipulación, un sangrado vaginal accidental lo que ocasiona adhesiones en la pared vaginal y compromete la posibilidad de preñarse naturalmente en posteriores ocasiones, por ello debe de ser realizada por un técnico con experiencia (Speedy, 1992).

Inseminación laparoscópica intrauterina: durante este método el semen es depositado de manera directa en el lumen uterino, evitando el cérvix, lo que mejora el porcentaje de fertilización en ovejas y cabras. Las hembras deben de mantenerse sin comida y agua por 12 a 16 horas y se posicionan sobre una mesa, se debe llevar a cabo en un ángulo de 40 grados. Se realiza tricotomía en el área anterior a la ubre se desinfecta. Se administra anestésico local subcutáneamente 5-7 cm anterior a la ubre, 3-4 cm a cada lado de la línea media ventral. Y

se procede a realizar dos pequeñas incisiones usando un trocar y una cánula para permitir la entrada del laparoscopio de 5 mm de diámetro, conectada por un cable de fibra óptica con una fuente de luz, posteriormente la cavidad peritoneal se infla con CO₂ y el útero es localizado, para después introducir la pipeta inseminadora por una segunda cánula y picando la pared uterina hasta llegar al lumen, por lo regular ambos cuernos son inseminados (Speedy, 1992).

II.4 Factores que afectan las tasas de gestación en cabras

Uno de los factores principales que afecta de manera negativa la tasa de gestación se debe a la mala alimentación de las cabras, sobre todo en las zonas áridas y con lluvia escasa. Esto como resultado de la poca disponibilidad de forraje (Mellado et al., 1996)

La desparasitación de los machos cabríos tendrá que hacerse al menos un mes previo al periodo de fecundación, debido a que ciertos desparasitantes tienen efectos negativos sobre la calidad seminal que en consecuencia puede provocar bajas tasas de gestación (Trejo et al., 2000).

El estrés por el calor provoca que la fisiología de las cabras reduzca sus posibilidades de quedar gestantes. Debido a que se generan cambios en el comportamiento de las hembras, suelen mantenerse más tiempo en postración (López-Gatius et al., 2005.) y es común que exista una reducción de las concentraciones circulantes de estradiol-17 β (Gilad et al., 1993).

II.5 Uso de fármacos para dilatar el cérvix en animales domésticos

Como se mencionó anteriormente se tienen registros de trabajos realizados con el uso de oxitocina más prostaglandinas como dilatadores del cérvix, los más comunes son;

Carbetocina (Cb), análogo sintético de la Oxitocina (OT) y Dinoprost trometamina, ya se a que la administración se da en forma individual (Stellflug et al., 2001; King et al., 2004; Leethongdee et al., 2010) o en conjunto (Leethongdee et al., 2007; De Rossi et al., 2009; Falchiet al., 2012).

Se sabe que la aplicación vaginal de esponjas de misoprostol y sulfato de terbutalina y retiradas 36 y 56 horas antes de la inseminación ha demostrado efectos positivos sobre la dilatación del cérvix, resultando en inseminaciones más sencillas donde la dificultad de la penetrabilidad con la pistola inseminadora se ven reducidas significativamente de acuerdo con los descrito por Barbas., et al. 2003.

La OT induce la síntesis de la PGE₂, y ambas, actuando a través de sus receptores específicos estimularían la acción estrogénica sobre las enzimas mencionadas, aumentando su expresión o induciendo su activación. Así, se induce a la relajación del músculo liso y a la remodelación del colágeno cervical permitiendo la apertura del canal cervical al estro (Rodriguez Piñón, 2015).

Por lo anterior se han realizado pruebas en las que se aplica una preparación intravaginal de liberación controlada de PGE₂ sintética (Dinoprost), que libera concentraciones constantes de hormona por 12 horas (0.3 mg/h), a ovejas en anestro, para aumentar la penetrabilidad cervical y mejorar la utilización de la IA (Candappa et al., 2009) se reconoce que los animales tratados con oxitocina y prostaglandinas resultan ser un método efectivo para lograr la dilatación del cérvix y facilitar la inseminación transcervical.

II.6 Estructura bioquímica de la oxitocina

La oxitocina se constituye por nueve aminoácidos (cisteína, tirosina, isoleucina, glicina, asparagina, cisteína, prolina, leucina y glicina), un grupo amino terminal y un puente de azufre entre las dos cisteínas.

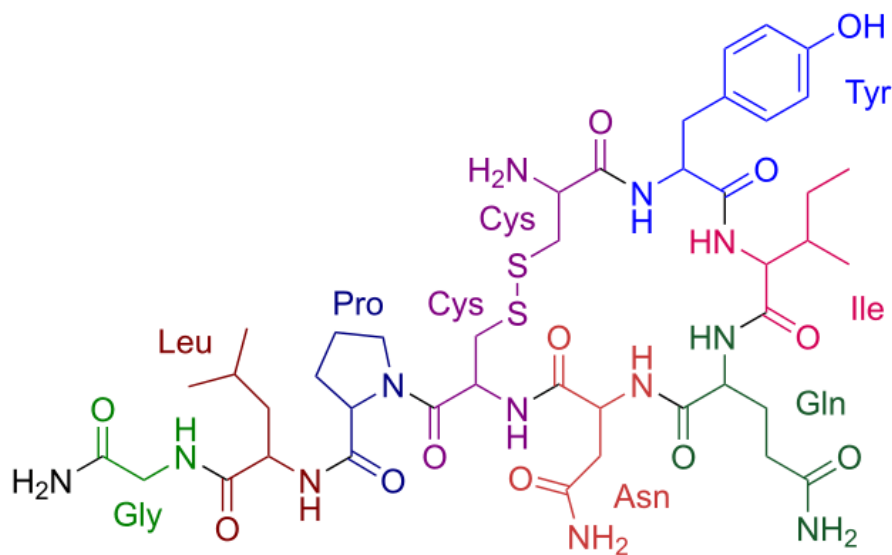


Figura 2. Representación de la estructura química de la oxitocina

II.6.1 Usos veterinarios de la oxitocina

Oxitocina exógena para producir el descenso de leche en rumiantes:

La oxitocina tiene gran importancia como hormona galactoquinética ya que en ella radica en la eliminación eficiente de la leche acumulada en el alvéolo (Akers, 2016; Buhimschi, 2004).

Al inicio del ordeño o amamantamiento, la leche se encuentra almacenada en los conductos galactóforos (leche cisternal) y puede ser removida por presión simple del pezón, sin

embargo, la otra fracción de la leche se encuentra en los alvéolos y pequeños conductos (leche alveolar; Angulo, 2007). La oxitocina viaja hasta la glándula mamaria a través del torrente sanguíneo, donde produce contracción de las células mioepiteliales por unión con su receptor. Este proceso tiene como consecuencia el desplazamiento de la leche desde el alvéolo hasta el espacio cisternal (Bruckmaier, 2005; Buhimschi, 2004). Como estimulador de contracciones en el parto:

Se ha reportado que la oxitocina estimula la contractilidad cervical en la oveja al estro (Ayad y Leung 2004) e induce la dilatación cervical en la gestación a término en la mujer (MacKenzie 2006).

Facilita que el canal de parto se dilate a la vez que provoca contracciones permitiendo el paso del feto, sobre todo en animales distócicos tal y como refiere González et al., (2009) en sus estudio sobre el uso de oxitocina a (0.083 UI/kg equivalente a 1 UI/12 kg) en cerdas con distocia materno-fetal administrada al inicio de la segunda mitad del parto disminuye en casi 50% el número de muertes intraparto en cerdas con distocia y lechones nacidos con asfixia, en comparación con las cerdas no tratadas.

Reduce el sangrado postparto

Durante una Hemorragia post parto, es de vital importancia detener el sangrado las causas son diversas pero la causa más habitual es la atonía uterina. Para corregirla, el primer paso es realizar un masaje manual del útero con evacuación de los coágulos del segmento uterino inferior. Simultáneamente se administran de forma secuencial fármacos uterotónicos vía intravenosa siendo el más común la administración de oxitocina (Weeks, A. 2010).

Y estudios recientes refieren que la administración de oxitocina ayuda a prevenir la mortalidad embrionaria, así como sus efectos positivos sobre la dilatación del cérvix previo a la inseminación en pequeños rumiantes.

En cérvix bovino, se ha reportado *in vivo* e *in vitro* que la OT causa una estimulación selectiva de la liberación de PGE2 cervical, postulándose que los componentes del sistema OT/PGE2 estaría involucrado en algunas funciones cervicales como la dilatación cervical, la capacitación espermática e incluso como soporte luteotrófico (Fuchs et al., 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1 Lugar del estudio

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Reproducción Animal, Unidad Académica Marín, de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Se encuentra ubicado a 25° 23' de latitud y 100° 02' de longitud. La temperatura media anual es de 22 °C, con temperatura máxima de 40 °C y mínima de 4 °C. El presente estudio se realizó bajo los criterios oficiales de salud animal del gobierno de México (NOM-059-ZOO-1997 sobre la salud animal, uso de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y hormonales y NOM-062-ZOO-1999 concerniente a las especificaciones técnicas para el cuidado y uso de los animales de laboratorio).

III.2 Manejo de los animales

El experimento se realizó durante el inicio de la época reproductiva (junio). Se utilizaron 116 cabras con un peso vivo de 33.4 ± 0.68 kg y una edad de 13.7 ± 0.37 meses, de las razas Alpina (n= 50) y Nubia (n= 64). A las cabras se les aplicaron IM vitaminas A, D y E, 500,000, 75,000 y 50 UI/ml, respectivamente (Internacional Prode, México) (2 ml/animal). El control de parásitos internos se realizó mediante la administración oral de 10 ml/kg PV de Closantel al 5 % (Chinoín, México).

III.3 Manejo reproductivo previo y durante la sincronización del estro

Las cabras fueron expuestas a un grupo de sementales (4 machos adultos receladores) por un periodo de 14 d, para estimular la presentación del estro; después de una semana de retirarlos, se inició el protocolo Ovsynch descrito por Holtz (2005), que consistió en aplicar 20 mg de Gonadorelina (Laboratorios Grimaan, Toluca, México) en el día cero, en el día 7 se aplicó 0.075 mg de Cloprostenol (Internacional Prode, Jalisco, México) y en el día 9 se aplicó una segunda dosis de 20 mg de Gonadorelina.

III.4 Tratamientos

Las cabras fueron divididas en tres tratamientos, donde al tratamiento I (TI; n= 36) consistió en la aplicación de 50 UI (2.5 ml) de suero salino; tratamientos T2; n= 41 y T3; n= 39 se aplicaron 25 (1.25 ml) y 50 UI (2.5ml) de Oxitocina, respectivamente (Provena, Laboratorio Internacional Prode, Jalisco, México). Los tres tratamientos se aplicaron por vía intravenosa, entre 10 y 15 minutos antes de realizar la IA transcervical a cada cabra.

III.5 Inseminación artificial

Para realizar la IA transcervical se utilizó semen fresco, refrigerado a 5 °C, de dos sementales adultos de raza Alpina y Nubia. La extracción de semen se realizó por medio de vagina artificial, por medio de dos eyaculados/seminal a intervalos de 1 h del mismo día. Los eyaculados se colocaron en baño de temperatura constante a 37 °C, los cuales fueron evaluados en movilidad masal, movilidad progresiva y concentración total. Posteriormente se utilizó el diluyente Andromed (Minitube, Mexico), para poder

obtener de cada macho un total de 60 pajillas de 0.25 ml, con una concentración de 100 millones de espermatozoides/pajilla. El semen se dejó estabilizar a 5 °C, por un periodo mínimo de 2 horas, y posteriormente se inició la IA, a razón de 4 hembras de cada tratamiento, y evitar el desfase en tiempo para el siguiente lote de hembras, hasta completar la IA del total de cabras. La IA fue transcervical, de acuerdo con la técnica reportada por Holtz (2005), sujetando el tercio posterior de la cabra y la posterior introducción de un vaginoscopio, con fuente de luz lubricado, para visualizar la entrada del cuello del útero, para posteriormente introducir la pistola con la dosis de semen fresco, y registrar el tiempo que requirió el técnico para inseminar cada cabra. La inseminación artificial se realizó 16 h después de la segunda aplicación de la Gonadorelina (Holtz, 2008).

III.6 Análisis estadístico

Las variables edad, peso y prolificidad se analizaron bajo un modelo completamente al azar, con los efectos de tratamiento, raza y su interacción, usando el PROC GLM de SAS. Los porcentajes de estro, gestación y partos se analizaron bajo una tabla de contingencia 3x2, a través de pruebas de Chi cuadrada, mediante el PROC TEST de SAS.

IV. RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los efectos principales de la aplicación de oxitocina en cabras jóvenes. Se presentaron diferencias para el porcentaje de estros (P=0.08), porcentaje de gestación (P=0.02) y de cabras paridas (P=0.08). Para el tiempo requerido para inseminar cada cabra (TIA), se presentaron diferencias (P<0.0001), donde las cabras que se les aplico 25 y 50 UIO se requirió menos tiempo (49.56 y 56.25 s respectivamente) en comparación a las cabras que no se les aplico (85.78 s). Asimismo, se presentaron diferencias para la penetración del canal cervical (P=0.02) al momento de inseminar cada cabra, siendo que las cabras que no se les aplico oxitocina penetraron solamente 2.1 cm comparado con las cabras que se les aplico 25UIO (3.41 cm) y 50 UIO (3.77 cm) respectivamente. Asimismo, para la tasa de prolificidad, se encontraron los valores más elevados para las cabras que se les aplico 25 (1.12 ±0.16) y 50 UIO (1.21 ± 0.17) respectivamente.

Tabla 1. Efecto de la aplicación de Oxitocina vía intravenosa en cabras jóvenes (13-14 meses) sobre el porcentaje de gestación y paridas, tiempo requerido para inseminar cada hembra (TIA) y el promedio de penetración del canal cervical (PEN), así como la tasa de prolificidad (Media ±EE).

Tratamiento	Edad (meses)	Peso vivo(kg)	Hembras en estro, %	Hembras gestantes, %	Hembras paridas(%)	TIA(s)	PEN(cm)	Prolificidad
Testigo (Suero salino)	13.28±0.30	32.88±0.57	94.44 (34/36)	52.78 ^b (19/36)	61.11(22/36)	85.78±4.02 ^a	2.10±0.38 ^b	0.69±0.12 ^b
25 UI Oxitocina	13.77±0.40	33.65±0.77	95.12 (39/41)	78.05 ^a (32/41)	82.93(34/41)	49.56±5.38 ^b	3.41±0.52 ^a	1.12±0.16 ^a
50 UI Oxitocina	14.07±0.41	33.71 ±0.79	82.05 (32/39)	76.92 ^a (30/39)	76.92(30/39)	56.25±5.55 ^b	3.77±0.53 ^a	1.21±0.17 ^a
P-Value	0.27	0.60	0.08	0.02	0.08	<0.0001	0.02	0.02

Valores en columnas con diferente subíndice de letra difieren (P <0.05)

V. DISCUSIÓN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la Oxitocina como dilatador del cérvix en cabras jóvenes de 13-14 meses de edad al inicio de la época reproductiva. Se logró cumplir el objetivo de que, aunado a tener mayor penetración del canal cervical, se obtuvieron parámetros reproductivos superiores en comparación a lo reportado en la literatura. En primer lugar, al llevar a cabo la sincronización del estro con un protocolo Ovsynch después de haber estado en contacto con los machos, hace suponer que el siguiente estro después del efecto macho fue más fértil, ya que este protocolo lleva un régimen de aplicación de una primera inyección de GnRH en las hembras que están ciclando y presenta un folículo grande que desencadena la ovulación y la formación de un cuerpo lúteo y al mismo tiempo reprograma el desarrollo de un folículo, iniciando la presencia de una nueva onda folicular, para posteriormente aplicar en el día 7 prostaglandinas sintéticas para la regresión del cuerpo lúteo natural y el formado por este protocolo, para que finalmente la segunda inyección de GnRH logre uniformizar la ovulación (Holtz et al., 2008). Por lo tanto, se logró que arriba del 80 % de las cabras presentaran estros, siendo superiores para las cabras del tratamiento testigo y las que se les aplicó 25UIO. En segundo lugar, el técnico inseminador pudo visualizar mejor la entrada del anillo cervical, debido a la ausencia o baja descarga vaginal, la cual es menor que cuando la sincronización del estro se realiza utilizando progestágenos naturales (CIDR) o sintéticos (esponjas vaginales), lo cual dificulta esto último la visualización (cita); en nuestro estudio lo anterior impactó en el tiempo promedio de inseminación que fue de 51 seg para las hembras que se les aplicó Oxitocina. El tercer punto es el moco cristalino que se presentó durante la inseminación artificial, que, aunque no se evaluó, se presentó en un 80 % de las cabras al momento de inseminarlas, lo cual garantiza que todavía no ovulaban (Fonseca

et al., 2017), siendo imprescindible para el transporte del espermatozoide este tipo de moco cristalino, debido a una mayor descarga de estradiol por el efecto de la aplicación de la Oxitocina a las hembras tratadas (Ivanka et al., 2011).

Por otra parte, con la OT, se logró dilatar el cérvix con una diferencia en la profundidad de penetración de 1.3 hasta 1.7 cm para las cabras que se les aplicó 25UIO y 50UIO, respectivamente, en comparación al tratamiento testigo. En nuestro estudio, se logró penetrar más allá del canal cervical en un tiempo corto (53 seg) comparado a lo reportado por (Fonseca et al., 2017) pero superior a lo reportado por Houdeau et al., 2008, en ambos estudios inseminando cabras primerizas. En nuestro estudio, la inseminación se realizó por un solo técnico inseminador experto, el objetivo fue de no lastimar y causar laceraciones en la entrada del cervix, ya que tanto en ovejas como en cabras tienen efecto negativo sobre la tasa de preñez (Houdeau et al., 2008). Asimismo, los resultados elevados de gestación y pariciones por la aplicación de Oxitocina, pudiera deberse primeramente a que se logró mayor penetración del canal cervical (Masoudi et al., 2012), contrario a lo reportado por (Viudes-de Castro et al., 2009), lo cual utilizaron dosis más elevadas (100 UIO y 200 UIO) en cabras adultas; así como en ovejas, pero aplicando la Oxitocina intramuscular previo a la inseminación artificial transcervicalmente (King et al., 2004).

En nuestro estudio, al evaluar dosis más bajas y aplicarlo en forma intravenosa, el impulso fue corto lo cual pudiera afectar positivamente en los parámetros reproductivos anteriormente señalados, ya que al menos en ovejas, se reporta que la aplicación de oxitocina intramuscular se alcanzan los niveles más altos de oxitocina entre los 15 a 45 minutos después de aplicación (King et al., 2004). Este impulso corto de Oxitocina que se logra al aplicarlo vía intravenosa, simularía el efecto de estímulo clitoral por parte del macho al momento de la monta directa

para contraer el musculo liso del tracto genital y mejorar el transporte de los espermatozoides al lugar de la fecundación donde contrariamente a la especie porcina, el impulso de oxitocina debe ser más continuo para poder simular la monta directa (Claus y Schams, 1990).

Asimismo, se logró un mayor porcentaje de prolificidad para las cabras que se les aplico Oxitocina, esto se puede deber a que la OT tiene un efecto directo en la tasa de ovulación la cual se presenta al menos en ovejas (King et al., 1996); sin embargo, en cabras primerizas no se tuvo el mismo efecto. Pero también por otra parte, la OT parece mejorar la transferencia de espermatozoides desde el cuello uterino, aumentando el número de espermatozoides en el sitio de fertilización e incrementando la posibilidad de mayor numero de fusiones de espermatozoides y ovocitos (Wulster-Radcliffe y Lewis, 2002).

VI. CONCLUSIÓN

La administración de oxitocina posee efectos positivos sobre la dilación del cérvix lo que beneficia durante el proceso de inseminación artificial transcervical.

De acuerdo con los resultados obtenidos las tasas de preñez se ven incrementadas debido a que al obtener dilataciones más prolongadas del cérvix en las cabras esto facilita la inseminación transcervical lo que promueve que más animales sean inseminados de manera correcta y a su vez la tasa de preñez se vea aumentada.

VII. REFERENCIAS

- Akers, R. M. (2016). Endocrine, growth factor, and neural regulation of mammary development. *Lactation and the mammary gland*, 129-164.
- Alvarado-Espino, A. S., Meza-Herrera, C. A., Carrillo, E., González-Álvarez, V. H., Guillen-Muñoz, J. M., Ángel-García, O., Véliz-Deras, F. G. (2016). Reproductive outcomes of Alpine goats primed with progesterone and treated with human chorionic gonadotropin during the anestrus-to-estrus transition season. *Animal Reproduction Science*, 167, 133-138.
- Angulo, J. O. M. (2007). Fisiología de la reproducción láctea. En *Buenas prácticas de producción primaria de leche (I) Biogenesis*. Colombia
- Aréchiga, C. F., Aguilera, J. I., Rincón, R. M., De Lara, S. M., Bañuelos, V. R., & Meza-Herrera, C. A. (2008). Situación actual y perspectivas de la producción caprina ante el reto de la globalización. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 9(1), 1-14.
- Ayad, V. J., Leung, S. T., Parkinson, T. J., Wathes, D. C. (2004). Coincident increases in oxytocin receptor expression and EMG responsiveness to oxytocin in the ovine cervix at oestrus. *Animal Reproduction Science*, 80(3-4), 237-250.
- Baldassare, H. (2007). Aplicaciones prácticas de la producción de embriones in vitro en la especie caprina. *Revista Brasileña Reproducción Animal*, 31(2), 261-267.
- Barbas, J. P., Cavaco Gonçalves, S., Baptista, M. C., Marques, C. C., Vasques, M. I., Horta, A. E. (2003). Efeito da aplicação vaginal de agentes dilatadores do cérvix (misoprostol

- e sulfato de terbutalina) sobre os resultados da IA em raças ovinas locais. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 98(548), 185-188.
- Bartlewski, P. M., and Candappa, I. B. (2015). Assessing the usefulness of prostaglandin E2 (Cervidil) for transcervical artificial insemination in ewes. *Theriogenology*, 84(9), 1594-1602.
- Billings, H. J., and Katz, L. S. (1997). Progesterone facilitation and inhibition of estradiol-induced sexual behavior in the female goat. *Hormones and Behavior*, 31(1), 47-53.
- Bruckmaier, R. M. (2005). Normal and disturbed milk ejection in dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(2), 268-273.
- Buhimschi, C. S. (2004). Endocrinology of lactation. *Obstetrics and Gynecology Clinics*, 31(4), 963-979.
- Candappa BR, I., M. Bartlewski, P. (2011). A review of advances in artificial insemination (AI) and embryo transfer (ET) in sheep, with the special reference to hormonal induction of cervical dilation and its implications for controlled animal reproduction and surgical techniques. *The Open Reproductive Science Journal*, 3(1).
- Candappa, I. B., Bainbridge, H. C., Price, N. T., Hourigan, K. R., Bartlewski, P. M. (2009). A preliminary study on the suitability of Cervidil® to induce cervical dilation for artificial insemination in ewes. *Research in Veterinary Science*, 87(2), 204-206.
- Carneiro, R. P., Macedo, G. G., DeRossi, R., Costa-e-Silva, E. V., Souza, M. I. L. (2019). Welfare and pregnancy rate of ewes undergoing transcervical artificial insemination with ketamine subarachnoid anesthesia. *Tropical Animal Health and Production*. 51(5): 1179-1186.

- Claus, R., Schams, D. (1990). Influence of mating and intra-uterine oestradiol infusion on peripheral oxytocin concentrations in the sow. *Journal of Endocrinology*, 126(3), 361-365.
- Chemineau, P., Cagnie, Y., Guerin, Y., Orgeur, P., Vallet, J. C. (1991). Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins Training manual on artificial insemination in sheep and goats (No. FAO APHP-83). FAO, Roma (Italia).
- Cole, L. A. (2010). Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8(1), 1-14.
- Contreras-Villarreal, V., Meza-Herrera, C. A., Rivas-Muñoz, R., Angel-Garcia, O., Luna-Orozco, J. R., Carrillo, E., y Véliz-Deras, F. G. (2016). Reproductive performance of seasonally anovular mixed-bred dairy goats induced to ovulate with a combination of progesterone and eCG or estradiol. *Animal Science Journal*, 87(6), 750-755.
- Davies, K. (2005). Ovarian antral follicular dynamics and regulation in sheep (Doctoral dissertation, University of Saskatchewan).
- DeRossi, R., Carneiro, R. P., Ossuna, M. R., Zanenga, N. F., Alves, O. D., Jorge, T. P., Vasconcelos, J. (2009). Sub-arachnoid ketamine administration combined with or without misoprostol/oxytocin to facilitate cervical dilation in ewes: A case study. *Small Ruminant Research*, 83(1-3), 74-78.
- De Rensis, F., López-Gatius, F., García-Ispierto, I., Techakumpu, M. (2010). Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. *Theriogenology*, 73(8), 1001-1008.

- Dias, J. H., Pupin, M. A., Duarte, G. S., Brair, V. L., de Paula, C. J. C., de Sousa, M. A. P., Fonseca, J. F. (2020). Successful transcervical uterine flushing can be performed without or reduced dose of oestradiol benzoate in cervical relaxation protocol in Dorper ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(7), 844-850.
- Dos Santos, V. M., P. H. N. Pinto, M. F. A. Balaro, J. D. Santos, A. R. Taira, C. G. do Espirito Santo, F. Z. Brandão. (2020). Use of oxytocin to attain cervical dilation for transcervical embryo transfer in sheep. *Reproduction in Domestic Animals* 55(10):1446-1454.
- Echavarría Chairez, F. G., Gutiérrez Luna, R., Ledesma Rivera, R. I., Bañuelos Valenzuela, R., Aguilera Soto, J. I., & Serna Pérez, A. (2006). Influence of small ruminant grazing systems in a semiarid range in the State of Zacatecas Mexico. I Native vegetation. *Técnica Pecuaria en México*, 44(2).
- Elati, A., Weeks, A. D. (2009). The use of misoprostol in obstetrics and gynaecology. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 116, 61-69.
- Evans, G., and Maxwell, W. C. (1987). *Salamons' artificial insemination of sheep and goats* (No. Ed. 2). Butterworths.
- Falchi, L., Taema, M., La Clanche, S., Scaramuzzi, R. J. (2012). The pattern of cervical penetration and the effect of topical treatment with prostaglandin and/or FSH and oxytocin on the depth of cervical penetration in the ewe during the peri-ovulatory period. *Theriogenology*, 78(2), 376-384.
- Falchi, L., and Scaramuzzi, R. J. (2015). An in vitro investigation of the actions of reproductive hormones on the cervix of the ewe in the follicular stage: the effects of

17 β -estradiol, oxytocin, FSH, and arachidonic acid on the cervical pathway for the synthesis of prostaglandin E2. *Theriogenology*, 83(6), 1007-1014.

Faraz, A., Waheed, A., Nazir, M. M., Hameed, A., Tauqir, N. A., Mirza, R. H., Bilal, R. M. (2020). Impact of Oxytocin Administration on Milk Quality, Reproductive Performance and Residual Effects in Dairy Animals—A Review. *Punjab University Journal of Zoology*, 35(1), 61-67.

Filicori, M., Cognigni, G. E., Tabarelli, C. E., Pocognoli, P., Taraborrelli, S., Spettoli, D., Ciampaglia, W. (2002). Stimulation and growth of antral ovarian follicles by selective LH activity administration in women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(3), 1156-1161.

Fonseca, J. F., Alvim, G. P., Souza-Fabjan, J. M. G., Oliveira, M. E. F., Brair, V. L., Brandão, F. Z., Facó, O. (2017). Reproductive features and use of an anti-inflammatory drug in estrus-induced dairy goats artificially inseminated in a standing position with cervix immobilization. *Reproductive Biology*, 17(3), 268-273.

Fonseca, J. F., & Torres, C. A. A. (2005). Administration of hCG 5 days after breeding and reproductive performance in nulliparous dairy goats. *Reproduction in Domestic Animals*, 40(6), 495-499.

Fonseca, J. F., Souza-Fabjan, J. M., Oliveira, M. E. F., Cruz, R. C., Esteves, L. V., de Paiva, M. P. S. M., ...Mancio, A. B. (2017). Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. *Reproductive Biology*, 17(4), 363-369.

- Fonseca, J. F., Oliveira, M. E. F., Brandão, F. Z., Batista, R. I., Garcia, A. R., Bartlewski, P. M., Souza-Fabjan, J. M. (2019). Non-surgical embryo transfer in goats and sheep: the Brazilian experience. *Reproduction, Fertility and Development*, 31(1), 17-26.
- Fuchs, A. R., Graddy, L. G., Kowalski, A. A., Fields, M. J. (2002). Oxytocin induces PGE2 release from bovine cervical mucosa in vivo. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 70, 119–129.
- Gibbons, A. E., Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M. M., Spinelli, M. V., & Cueto, M. I. (2019). Technical recommendations for artificial insemination in sheep. *Animal reproduction*, 16, 803-809.
- Gilad, E., Meidan, R., Berman, A., Graber, Y., & Wolfenson, D. (1993). Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *Reproduction*, 99(2), 315-321.
- Ginther, O. J., and Kot, K. (1994). Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, 42(6), 987-1001.
- Gonzalez-Bulnes, A., Carrizosa, J. A., Urrutia, B., & Lopez-Sebastian, A. (2006). Oestrous behaviour and development of preovulatory follicles in goats induced to ovulate using the male effect with and without progesterone priming. *Reproduction, Fertility and Development*, 18(7), 745-750.
- Halbert, G. W., Dobson, H., Walton, J. S., Buckrell, B. C. (1990). The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology*, 33, 977–992.

- Holtz, W. 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Ruminant Research*, 60(1-2), 95-110.
- Holtz, W., Sohnrey, B., Gerland, M., Driancourt, M. A. (2008). Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. *Theriogenology*, 69(7), 785-792.
- Houdeau, E., Furstoss, V., Forgerit, Y., Bonné, J. L., Leboeuf, B. (2008). Short-duration insemination with frozen semen increases fertility rate in nulliparous dairy goats. *Animal*, 2(10), 1496-1500.
- Hunzicker-Dunn, M., & Mayo, K. (2015). Gonadotropin signaling in the ovary. *Knobil and Neill's physiology of reproduction*, 1, 547-592.
- Ivanka K. B.R. Candappa., Pawel M. & Bartlewski P. (2011) A review of advances in artificial insemination (AI) and embryo transfer (ET) in Sheep, with the special reference to hormonal induction of cervical dilation and its Implications for controlled animal reproduction and surgical techniques. *The Open Reproductive Science Journal* 3 (3)162-175.
- Ijaz, A., Aleem, M. (2006). Exogenous administration of oxytocin and its residual effects. *Pakistan Veterinary Journal*, 26(2), 99-100.
- Kinder, J. E., Kojima, F. N., Bergfeld, E. G. M., Wehrman, M. E., Fike, K. E. (1996). Progesterin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science*, 74(6), 1424-1440.
- King, M. E., McKelvey, W. A. C., Dingwall, W. S., Matthews, K. P., Gebbie, F. E., Mylne, M. J. A., Robinson, J. J. (2004). Lambing rates and litter sizes following intrauterine

or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology*, 62(7), 1236-1244.

Kershaw, C. M., M. Khalid, M. R. McGowan, K. Ingram, S. Leethongdee, G. Wax, R. J. Scaramuzzi. 2005. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology* 64(5):1225-1235.

Leboeuf, B., Restall, B., Salamon, S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3), 113-141.

Leethongdee, S., Thuangsanthia, A., Khalid, M. (2020). Topical application of cervix with hyaluronan improves fertility in goats inseminated with frozen-thawed semen. *Animal Bioscience*, 34(6), 985-992.

López-Gatius, F., Santolaria, P., Mundet, I., Yániz, J. L. (2005). Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 63(5), 1419-1429.

López-Sebastian, A., González-Bulnes, A., Carrizosa, J. A., Urrutia, B., Díaz-Delfa, C., Santiago-Moreno, J., Gómez-Brunet, A. (2007). New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. *Theriogenology*, 68(8), 1081-1087.

Lopez-Sebastián, A., Coloma, M. A., Toledano, A., Santiago-Moreno, J. (2014). Hormone-free Protocols for the Control of Reproduction and Artificial Insemination in Goats. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 22-29.

Luo, J., W. Wang, S. Sun. 2019. Research advances in reproduction for dairy goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 32(8):1284-1295.

- Mackenzie, I. Z. (2006). Induction of labour at the start of the new millennium. *Reproduction*, 131(6), 989-998.
- Manes, J., & Ungerfeld, R. (2015). Sincronización de celos en ovejas y cabras con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos: alteraciones en ambiente vaginal y su relación con la fertilidad. *Revista Brasileña Reproducción Animal*, 104-108.
- Masoudi, R., Kohram, H., Shahne, A. Z., & Davoud, S. D. M. A. (2012). Effect of estradiol and oxytocin on ovine cervical relaxation. *African Journal of Biotechnology*, 11(11), 2803-2806.
- Nicholas, F. W. (1996). Genetic improvement through reproductive technology. *Animal Reproduction Science*, 42(1-4), 205-214.
- Nunes, J. F., Salgueiro, C. C. M. (2011). Strategies to improve the reproductive efficiency of goats in Brazil. *Small Ruminant Research*, 98(1-3), 176-184.
- Nur, Z., Nak, Y., Nak, D., Üstüner, B., Tuna, B., Simşek, G., Sağirkaya, H. (2013). The use of progesterone-supplemented Co-synch and Ovsynch for estrus synchronization and fixed-time insemination in nulliparous Saanen goat. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37(2), 183-188.
- Padilha-Nakaghi, L. C., Uscategui, R. A., Oliveira, M. E. F., Nociti, R. P., Macente, B. I., Coutinho, L. N., Vicente, W. R. (2020). Local α 1-adrenergic blockers: An alternative for sheep cervix dilation?. *Animal Reproduction Science*, 222, 106609.
- Parkinson, T. J., J. M. Morrell. (2019). Artificial insemination. In: *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Elsevier.

- Pakarainen, T., Ahtiainen, P., Zhang, F. P., Rulli, S., Poutanen, M., & Huhtaniemi, I. (2007). Extragonadal LH/hCG action—not yet time to rewrite textbooks. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 269(1-2), 9-16.
- Pedram, A., Razandi, M., Aitkenhead, M., Hughes, C. C., Levin, E. R. (2002). Integration of the non-genomic and genomic actions of estrogen: membrane-initiated signaling by steroid to transcription and cell biology. *Journal of Biological Chemistry*, 277(52), 50768-50775.
- Picazo, R. A., Lopez Sebastian, A. (1995). Desarrollo folicular en el ovario de la especie ovina. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid (España). 10:77-93. 95
- Prellwitz, L., Zambrini, F. N., Guimarães, J. D., de Sousa, M. A. P., Oliveira, M. E. F., Garcia, A. R., Fonseca, J. F. (2019). Comparison of the intravenous and intravaginal route of oxytocin administration for cervical dilation protocol and non-surgical embryo recovery in oestrous-induced Santa Inês ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(9), 1230-1235.
- Rajkovic, A., Pangas, S. A., y Matzuk, M. M. (2006). Follicular development: mouse, sheep, and human models. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 1, 383-424.
- Reeves, J. J., Arimura, A., y Schally, A. V. (1971). Changes in pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in anestrus ewes pretreated with estradiol benzoate. *Biology of reproduction*, 4(1), 88-92.
- Richards, J. S., Liu, Z., & Shimada, M. (2008). Immune-like mechanisms in ovulation. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 19(6), 191-196.

- Robinson, J. J., McKelvey, W. A. C., King, M. E., Mitchell, S. E., Mylne, M. J. A., McEvoy, T. G., ... & Williams, L. M. (2011). Traversing the ovine cervix—a challenge for cryopreserved semen and creative science. *Animal*, 5(11), 1791-1804.
- Romano, J. E. (2004). Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research*, 55(1-3), 15-19.
- Saharrea, A., Valencia, J., Balcazar, A., Mejia, O., Cerbón, J. L., Caballero, V., y Zarco, L. (1998). Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology*, 50(7), 1039-1052.
- Sayre, B. L., Lewis, G. S. (1996). Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. *Theriogenology*, 45(8), 1523-1533.
- Sayre, B. L., Lewis, G. S. (1997). Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. *Theriogenology*, 48(2), 267-275.
- Sohnrey, B., Holtz, W. (2005). Transcervical deep cornual insemination of goats. *Journal of Animal Science*, 83(7), 1543-1548.
- Senger PL. (2003). Pathways to pregnancy and parturition. (2da ed.) Pullman Current Conceptions.
- Speedy, A. W. (1992). Progress in sheep and goat research. CAB International.

- Stellflug, J. N., Wulster-Radcliffe, M. C., Hensley, E. L., Cowardin, E. A., Seals, R. C., Lewis, G. S. (2001). Oxytocin-induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep: effects on laparoscopic artificial insemination. *Journal of Animal Science*, 79(3), 568-573.
- Tekin, K. (2019). Cervical Insemination with Frozen Thawed Semen in Goats at Different Breeding Age. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 12(3), 357-362.
- Ungerfeld, R. (2020). *Reproducción de los animales domésticos*. Edizioni LSWR.
- Uribe-Velásquez, L. F., Oba, E., Lenz Souza, M. I., Vélez-Marín, M., & Correa-Oroz, A. (2010). Desarrollo folicular en ovejas durante el ciclo estral natural e inducido con prostaglandinas. *Revista Científica*, 20(4), 417-421.
- Viudes-de-Castro, M. P., I. Salvador, F. Marco-Jiménez, E. A. Gómez, M. A. Silvestre. 2009. Effect of oxytocin treatment on artificial insemination with frozen–thawed semen in Murciano–Granadina goats. *Reproduction in Domestic Animals* 44(4):576-579.
- Wildeus, S. (2000). Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal of Animal Science* 77, 1-14.
- Whitley, N. C., and Jackson, D. J. (2004). An update on estrus synchronization in goats: A minor species. *Journal of Animals Science*. (82), 270-276.
- Weeks, A. D. (2010). Postpartum haemorrhage. Maternal and Infant Deaths. *Chasing Millennium Development Goals*, 4, 85-98.
- Wulster-Radcliffe, M. C., and Lewis, G. S. (2002). Development of a new transcervical artificial insemination method for sheep: effects of a new transcervical artificial

insemination catheter and traversing the cervix on semen quality and fertility. *Theriogenology*, 58(7), 1361-1371.