

8

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

DETERMINACION DE LA PUBERTAD Y NIVELES PLASMATICOS DE  
PROGESTERONA, ESTRADIOL-17B, LH Y FSH DURANTE EL CICLO ESTRAL  
EN LA CERDA IBERICA Y SU CRUCE CON LA RAZA JIAXING-BLACK

PEDRO GARCIA CASADO

MADRID 1992

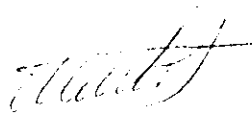
"DETERMINACION DE LA PUBERTAD Y NIVELES PLASMATICOS DE  
PROGESTERONA, ESTRADIOL-17 $\beta$ , LH Y FSH DURANTE EL CICLO ESTRAL  
EN LA CERDA IBERICA Y SU CRUCE CON LA RAZA JIAXING-BLACK"

Memoria presentada por el licenciado  
D. Pedro García Casado, para optar al  
grado de Doctor en Veterinaria.

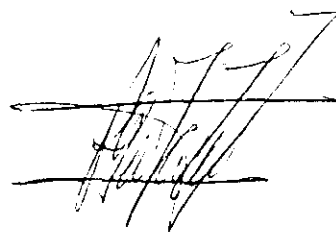
VºBº

El Director

Dr. D. Santiago Martin Rillo



El doctorando



Madrid, 1992

D. SANTIAGO MARTIN RILLO, JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION Y TECNOLOGIA AGRARIA Y ALIMENTARIA

Informo:

Que la tesis doctoral titulada "DETERMINACION DE LA PUBERTAD Y NIVELES PLASMATICOS DE PROGESTERONA, ESTRADIOL-17 $\beta$ , LH Y FSH DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA CERDA IBERICA Y SU CRUCE CON LA RAZA JIAXING-BLACK", de la que es autor D. Pedro García Casado, ha sido realizada bajo mi dirección y que cumple las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Madrid, 25 de Mayo de 1992.

*A Regoña*

## AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Santiago Martín Rillo, quien me introdujo en el campo de la investigación y gracias a su confianza y apoyo, ha sido posible la realización de esta tesis, sirviéndome de ejemplo en mi vida profesional.

- Al Dr. Raúl Sánchez Sánchez, por su constante ayuda y colaboración, compartiendo siempre los momentos buenos y malos dentro y fuera del INIA.

- A D. Eulogio Alías y Dña. Concepción Díaz Yubero, quienes siempre me ofrecieron su completa ayuda y comprensión.

- A la Dra. Belén Pintado, al Dr. Carlos García y a D. Fernando Saiz por su continua colaboración en la realización de esta tesis.

- A los doctores Bolt, Pursel y Guthrie, quienes me ofrecieron toda su experiencia, ayudándome en los momentos difíciles de nuestra estancia en Beltsville y me proporcionaron el material necesario para la realización de los radioinmunoanálisis.

- A todos los compañeros del Departamento, que de alguna u otra forma han contribuido en los trabajos de esta tesis.

- Y por último, sin que por ello sea en menor grado, quiero agradecer a Begonia, todo su apoyo y comprensión en los momentos difíciles que siempre se pasan.

## ABREVIATURAS

|                           |  |
|---------------------------|--|
| AMPc                      | Adenosin monofosfato cíclico             |
| Ci                        | Curio                                    |
| CL                        | Cuerpo lúteo                             |
| CPBM                      | Método de unión competitiva de proteínas |
| $\phi$                    | Diámetro                                 |
| DID                       | Doble isótopo derivado                   |
| E <sub>2</sub>            | Estradiol-17 $\beta$                     |
| FSH                       | Hormona Folículo Estimulante             |
| GLC                       | Cromatografía líquida de gas             |
| GnRH                      | Hormona liberadora de gonadotropinas     |
| HCG                       | Gonadotropina Coriónica Humana           |
| IB                        | Ibérica                                  |
| JH                        | Jinhua                                   |
| JX                        | Jiaxing-black                            |
| JX x IB                   | Jiaxing x Ibérica                        |
| LF                        | Landrace francés                         |
| LH                        | Hormona Luteinizante                     |
| LW                        | Large White                              |
| MAP                       | 6-metil-17-acetoxiprogesterona           |
| MS                        | Meishan                                  |
| $\mu$ Ci                  | microcurio                               |
| $\mu$ g                   | microgramo                               |
| mCi                       | milicurio                                |
| mmol                      | milimol                                  |
| ng                        | nanogramo                                |
| pg                        | picogramo                                |
| PG                        | Prostaglandina                           |
| PGE-2                     | Prostaglandina E-2                       |
| PGF <sub>2</sub> $\alpha$ | Prostaglandina F <sub>2</sub> $\alpha$   |
| pmol                      | picomol                                  |
| PMSG                      | Gonadotropina sérica de yegua gestante   |
| UI                        | Unidad Internacional                     |

INDICE

|   |          |
|---|----------|
| <b>1. INTRODUCCION</b>  | <b>1</b> |
| 1.1 Objetivos   | 4        |
| <b>2. REVISION BIBLIOGRAFICA</b>  | <b>5</b> |
| 2.1 Características reproductivas de las cerdas chinas y europeas                   | 5        |
| 2.1.1 Pubertad  | 5        |
| 2.1.2 Duración del celo y ciclo estral  | 8        |
| 2.1.3 Prolificidad y tasa de ovulación  | 9        |
| 2.1.4 Número de mamas   | 13       |
| 2.2 Niveles hormonales durante el ciclo estral de la cerda                          | 14       |
| 2.2.1 Progesterona  | 14       |
| 2.2.2 Estrógenos  | 19       |
| 2.2.3 Hormona Luteinizante (LH)   | 22       |
| 2.2.4 Hormona Folículo Estimulante (FSH)  | 26       |
| 2.3 Maduración folicular. Interacciones hormonales                                  | 29       |
| 2.3.1 Desarrollo folicular en el periodo prepúber                                   | 29       |
| 2.3.2 Elección y selección folicular  | 32       |
| 2.3.3 Esteroidogénesis  | 34       |
| 2.3.3.1 Receptores de gonadotropinas y prolactina durante la maduración folicular   | 37       |
| 2.3.3.2 Interacción de la células granulosa y teca en la esteroidogénesis folicular | 37       |
| 2.3.3.3 Acciones intrafoliculares de los esteroides                                 | 38       |
| 2.3.4 Prostaglandinas y ovulación   | 41       |
| 2.3.4.1 Síntesis folicular de prostaglandinas                                       | 41       |
| 2.3.4.2 Acciones intrafoliculares de las prostaglandinas                            | 42       |

## II

|   |           |
|---|-----------|
| 2.4 Regulación hormonal del ciclo estral                | 42        |
| 2.4.1 Control de la fase luteal                         | 43        |
| 2.4.2 Inducción folicular y superovulación              | 49        |
| <b>3. MATERIAL Y METODOS</b>                            | <b>54</b> |
| 3.1 Centro de trabajo                                   | 54        |
| 3.2 Animales  | 54        |
| 3.3 Identificación animal                               | 55        |
| 3.4 Material para sincronización de celos               | 55        |
| 3.5 Material para canulación de la vena yugular interna | 55        |
| 3.5.1 Preparación                                       | 56        |
| 3.6 Material utilizado en la toma de muestras de sangre | 57        |
| 3.7 Material utilizado en los radioinmunoanálisis       | 57        |
| 3.7.1 Hormonas esteroides                               | 57        |
| 3.7.1.1 Material de laboratorio                         | 57        |
| 3.7.1.2 Tampones y soluciones: Preparación              | 57        |
| 3.7.1.3 Reactivos                                       | 58        |
| 3.7.2 Hormonas proteicas                                | 59        |
| 3.7.2.1 Material de laboratorio                         | 59        |
| 3.7.2.2 Tampones y soluciones: Preparación              | 60        |
| 3.7.2.3 Reactivos                                       | 61        |
| 3.7.2.4 Reactivos para radioiodinación: Preparación     | 63        |
| 3.7.2.5 Material para radioiodinación: Preparación      | 64        |
| 3.8 Técnica para la regulación hormonal del ciclo       | 65        |
| 3.9 Técnica de canulación de la vena yugular interna    | 66        |



### III

|   |           |
|---|-----------|
| 3.10 Planificación de la toma de muestras de sangre                   | 68        |
| 3.10.1 Pubertad   | 68        |
| 3.10.2 Ciclo estral   | 68        |
| 3.11 Radioinmunoanálisis  | 70        |
| 3.11.1 Hormonas esteroideas   | 70        |
| 3.11.1.1 Radioinmunoanálisis de progesterona                          | 70        |
| 3.11.1.2 Radioinmunoanálisis de estradiol-17 $\beta$                  | 73        |
| 3.11.2 Hormonas proteicas   | 74        |
| 3.11.2.1 Radioiodinación  | 74        |
| 3.11.2.1.1 Preparación  | 74        |
| 3.11.2.1.2 Procedimiento  | 75        |
| 3.11.2.1.3 Test del ácido tricloroacético                             | 77        |
| 3.11.2.2 Radioinmunoanálisis de la Hormona Luteinizante(LH)           | 77        |
| 3.11.2.3 Radioinmunoanálisis de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) | 79        |
| 3.12 Análisis estadístico   | 79        |
| <b>4. RESULTADOS</b>  | <b>81</b> |
| 4.1 Edad a la pubertad  | 81        |
| 4.1.1 Detección por verraco   | 81        |
| 4.1.2 Detección por niveles plasmáticos de progesterona               | 82        |
| 4.2 Regulación hormonal del ciclo estral                              | 83        |
| 4.3 Duración del ciclo sexual y celo                                  | 84        |
| 4.4 Niveles hormonales  | 84        |
| 4.4.1 Niveles plasmáticos de progesterona                             | 85        |
| 4.4.2 Niveles plasmáticos de estradiol-17 $\beta$                     | 97        |
| 4.4.3 Niveles plasmáticos de la Hormona Luteinizante (LH)             | 109       |
| 4.4.4 Niveles plasmáticos de la Hormona Folículo Estimulante (FSH)    | 122       |

|                 |     |
|-----------------|-----|
| 5. DISCUSION    | 133 |
| 6. CONCLUSIONES | 145 |
| 7. RESUMEN      | 146 |
| 8. BIBLIOGRAFIA | 153 |

# **INTRODUCCION**

## 1. INTRODUCCION

La producción porcina, ha alcanzado un nivel bastante elevado en los últimos años, destacando nuestro país, por ser el segundo de mayor censo en la Comunidad Económica Europea y en el que se ha producido mayor crecimiento de cerdas inseminadas, detrás tan solo de Alemania.

Para llegar a este nivel, ha sido necesario trabajar a fondo en diferentes aspectos del control de la reproducción, buscando los medios necesarios para lograr optimizar la producción por cerda, es decir, el máximo número de lechones viables, producidos por cerda y año. Esto es posible teniendo un buen conocimiento de la fisiología y del manejo reproductivo tanto del verraco como de la cerda y actuando de tal forma que obtengamos el máximo rendimiento de ambos, en periodos cortos de tiempo.

Uno de los procesos fisiológicos en todos los mamíferos placentarios, es la prolificidad. En la cerda, la prolificidad se ve afectada por el número de ovulaciones, número de ovocitos fecundados y el porcentaje de mortalidad embrionaria, la cual se considera fisiológicamente normal y en el caso de la cerda, llega a ser hasta de un 30%, produciéndose en los treinta primeros días de gestación. Habría que añadir también el número de fetos muertos a lo largo del resto de gestación, si bien normalmente, serían por causas no fisiológicas.

Existen razas porcinas con una mayor prolificidad que otras. Entre las razas mas prolíficas del mundo, se encuentran las pertenecientes al tipo Taihu de China.

La producción porcina en China pudo haber comenzado hace 7000 años, según los últimos descubrimientos arqueológicos hallados en Yuyao Hanmudo Sites en la provincia de Zhejiang, (Xia, 1976). Con esta experiencia, no es extraña la influencia que ha tenido a lo largo de la historia, en el desarrollo de las razas porcinas occidentales. Alrededor de 400 años a. de C. el Imperio Romano incorporó cerdas de raza china a su cabaña porcina, cruzándolas con las cerdas indígenas de la zona, desarrollando así nuevas razas.

En el siglo XV - XVI, Inglaterra importó cerdas chinas procedentes de la provincia de Guandong, para cruzarlas con sus razas nativas. A partir de estos cruces se desarrollarían las razas Berkshire y Yorkshire, las cuales tendrían una gran influencia posterior en el desarrollo de la raza Large White de Rusia.

Actualmente, China es el mayor productor porcino del mundo con 500 millones de cabezas al año, (Yun, 1988). En 1983, el número total de razas porcinas en China era de 66, subdivididas en más de 120 variedades, (Philips y Hsu, 1944; Epstein, 1969), geográficamente divididas en 6 grandes zonas (Zhilong, 1990):

1. Tipo del Norte de China
2. Tipo del bajo valle del río Changjiang
3. Tipo de China Central
4. Tipo del Sur de China
5. Tipo del Suroeste
6. Tipo Plateau

Es al tipo del bajo valle del río Changjiang, al que pertenecía la raza Taihu, dividida a su vez en 7 variedades, aunque hoy en día, se las consideran razas independientes: Erhualian, Fengjin, Meishan, Jiaxing black, Hengjin, Mi y Shawnton. Por considerarlas razas independientes, así las denominaremos en adelante, integrando todas ellas en el tipo Taihu.

Estas razas de cerdos del tipo Taihu, destacan sobre las demás por las siguientes características, (Legault y Caritez, 1982):

- Precocidad sexual excepcional, (pubertad entre 2 y 4 meses de edad).
- Alta prolificidad (14 - 16 lechones por parto).
- Aptitud maternal: lechera, docilidad, longevidad y rusticidad.
- Escasas exigencias alimentarias y en particular una predisposición a la ingestión de forrajes verdes.
- Poco crecimiento, con una composición corporal mediocre, pero con una carne estimada por su sabor.

Los estudios realizados por el INRA en Francia con las razas porcinas chinas a lo largo de 10 años, han confirmado que bajo condiciones intensivas de explotación, destacan las aptitudes reproductivas sobre todo de las razas Meishan y Jiaxing, teniendo en contra un desarrollo de carne magra potencialmente muy bajo, (Bidanel y col., 1990).

Teniendo en cuenta la excepcional prolificidad de estas cerdas nativas chinas del tipo Taihu, Legault, (1985), propuso

el cruzamiento con ellas como un método para aumentar la productividad numérica del ganado porcino. Este método parece tener un interés especial para la raza Ibérica, ya que podríamos disponer de hembras con una prolificidad superior; mientras que los aspectos mas problemáticos relativos al inferior crecimiento, engrasamiento y mala conformación de la canal (Cheng, 1983, 1984; Legault y col., 1985), constituyen a priori inconvenientes menores en la comparación con el cerdo Ibérico, que en buena medida comparte estos rasgos, (Dobao y col., 1987).

En España se obtuvo una cerda híbrida entre Jiaxing black e Ibérica, con una alta prolificidad (Dobao y col., 1988a y b), por lo que es posible realizar distintos estudios de las características y fisiología reproductivas de esta híbrida con alta prolificidad, comparativamente con la cerda Ibérica de baja prolificidad.

### 1.1 Objetivos

Para cualquier estudio que se lleve a cabo sobre la fisiología reproductiva, es fundamental el conocimiento previo de los parámetros hormonales durante el ciclo estral. Por este motivo, los objetivos de este trabajo son:

1. Determinar la edad al inicio de la pubertad, entre la cerda Ibérica y su cruce con la raza Jiaxing-black.

2. Determinar los niveles plasmáticos de progesterona, estradiol-17 $\beta$ , LH y FSH durante el ciclo estral en la cerda Ibérica y su cruce con la raza Jiaxing-black.

Con ello, buscamos causas que justifiquen la diferente productividad y sirvan de modelo para establecer pautas de investigación que permitan mejorar la prolificidad de las cerdas.

**REVISION  
BIBLIOGRAFICA**



## 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 Características reproductivas de las cerdas chinas y europeas

#### 2.1.1 Pubertad

Una de las principales características de las razas porcinas chinas del tipo Taihu, es la edad temprana a la que alcanzan la pubertad, en comparación con las razas europeas. Estas normalmente llegan a la madurez sexual a la edad de 180 - 230 días (Karlbon y col., 1982; Dalin y Einarsson, 1986), teniendo en cuenta los distintos factores que influyen sobre la aparición de ésta, como son los factores genéticos, de ambiente, nutrición y condiciones sociales, (Hughes y Cole, 1976; Hughes, 1982).

Los primeros estudios comparativos de las razas chinas del tipo Taihu con las occidentales, fueron realizados en el INRA en Francia. Legault y Caritez, (1983), describen unas edades en el primer estro de 81, 91 y 109 días en las razas Meishan, Jiaxing y Jinhua respectivamente, siendo estos datos confirmados posteriormente por varios autores (Bolet y col., 1986; Bazer y col., 1988a). Mas recientemente, Prunier y Chopineau, (1990), encuentran una edad en la pubertad en cerdas Meishan de  $102 \pm 3$  días de edad (n=16).

En 1987, el Reino Unido importó de China 11 machos y 21 hembras de la raza Meishan. A partir de estos animales, Haley y col., (1990) han realizado estudios comparativos entre esta raza china y cerdas Large White X Landrace. La edad de

aparición del primer estro, fue determinada por la observación diaria en presencia de un verraco, comenzando a los 69 días de edad para las cerdas Meishan y a los 138 días de edad para las cerdas Large White X Landrace.

Los resultados que obtuvieron fueron de una edad a la pubertad de 114'7 ± 17'5 días para la raza china y de 179'2 ± 12'5 días para la cerda híbrida europea, habiendo una diferencia significativa entre ambas ( $p < 0'001$ ).

La edad en la pubertad obtenida en estos estudios es mas alta que la encontrada por Bolet y col., (1986) (88 ± 8 días) o por Bazer y col., (1988a) (91 ± 2 días), aunque hay que tener en cuenta los factores ambientales, nutricionales y sociales que afectan en la aparición de la pubertad en las cerdas, (Hughes, 1982).

Parámetros estadísticos de la edad a la pubertad en hembras:  
Número (N), media (x), desviación estándar (DS).

| Tipo genético  | Edad a la pubertad |       |    |
|----------------|--------------------|-------|----|
|                | N                  | x     | ds |
| Meishan (MS)   | 36                 | 81 a  | 9  |
| Jiaying (JX)   | 22                 | 91 ab | 10 |
| Jinhua (JH)    | 17                 | 109 b | 15 |
| MS x (LW o LF) | 38                 | 87 a  | 11 |
| JX x (LW o LF) | 40                 | 93 ab | 13 |
| JH x (LW o LF) | 36                 | 96 b  | 14 |

Legault y Caritez, (1983)

En China, se han llevado a cabo estudios de las razas porcinas mas importantes del tipo Taihu: Meishan, Jinhua,

Jiaxing black y Erhualian, estando en su propio hábitat, obteniéndose unos valores similares en cuanto a la aparición de la pubertad, que los descritos para estas mismas razas en Francia, por los investigadores franceses del INRA, (Legault y Caritez, 1982; Bolet y col., 1986; Bidanel y col., 1990).

Cheng, (1983), observa unas edades entre 64 días en la raza Erhualian y 120 días en la Jiaxing black, coincidiendo con Shiging y col., (1983), que observaron una edad de  $120'57 \pm 3'72$  días a la pubertad, para la raza Jiaxing black, alrededor de 3 meses antes que las razas europeas. Ruixiang, (1990), describen una edad a la pubertad en las razas Taihu entre 73 y 121 días con un peso corporal de 13'8 - 25'9 kg.

Las cerdas híbridas obtenidas de los cruces de razas chinas con razas occidentales, alcanzan la pubertad a una edad similar que las cerdas chinas, (Legault y Caritez, 1982; Sellier y Legault, 1986).

Canope y col., (1990), realizaron un estudio en Guadalupe (Antillas), comparando la edad a la pubertad de la raza Large White y la raza Creolé, (raza nativa de origen Ibérico, introducida desde España en el siglo XVII), con los cruces de éstas con las cerdas Taihu (Meishan, Jiaxing y Jinhua), resultando en una edad mas temprana en las híbridas, 136 - 151 días, que en las puras, 171'4 días (Creolé) y 275 días (LW).

Dobao y col., (1988b) trabajando con un grupo de 19 hembras híbridas Jiaxing x Ibérico (JX x IB) y un grupo control de 18 cerdas ibéricas de la estirpe Torbiscal, encontraron diferencias significativas en la edad a la pubertad (detectada

por medio de 5 verracos), siendo las medias respectivas de  $130 \pm 7$  días en las hembras JX x IB y de  $207 \pm 9$  días en las Ibéricas.

Comparadas con cerdas Large White (LW), las cerdas Meishan (MS), se caracterizan por un crecimiento mas temprano de los tractos reproductivos femeninos, glándulas accesorias en machos y gónadas en ambos sexos (Prunier y col., 1987). Según estos mismos autores, esta edad a la pubertad podría resultar de un comienzo mas temprano en el desarrollo sexual debido a un incremento en las secreciones hipotalámicas y de la pituitaria.

#### 2.1.2 Duración del celo y ciclo estral

En cuanto al tiempo en que la cerda se encuentra receptiva frente al verraco, los distintos estudios realizados en cerdas chinas, dan como resultado, un periodo mas largo para estas, en comparación con las europeas. Así, se han descrito tiempos desde 60 - 75h. de duración de celo en 778 cerdas chinas criadas en Francia, (Rombauts y col., 1982; Bazer y col., 1988a y Ellendorff y col., 1988), hasta los  $4'35 \pm 0'2$  días en primíparas y  $4'9 \pm 0'25$  días en multíparas, descritos por Cheng, (1983), resultados obtenidos con cerdas criadas en China en su hábitat natural y con alimentación y manejo habituales. Estas cifras reflejan una duración mas larga para las cerdas chinas al compararlas con las 44 - 49h. de las razas europeas descritas por los mismos autores.

Respecto a la duración del ciclo estral, para la mayoría de los autores, no parece haber diferencias significativas entre las razas chinas, europeas y sus cruces, (Rombauts y

col., 1982; Cheng, 1983 y Biggs y col., 1990), si bien estos ciclos tienden a ser algo mas cortos en las razas chinas (Bazer y col., 1988a).

### 2.1.3 Prolificidad y tasa de ovulación

Para mejorar la productividad del ganado porcino hay que incidir sobre el aumento del tamaño de la camada y la disminución de la tasa de mortalidad de los lechones, (Legault, 1978). La alta prolificidad de las cerdas chinas del tipo Taihu, es una de sus principales ventajas, frente a las europeas. El tamaño medio de la camada es de 14 lechones nacidos vivos y 12 destetados después de una lactación media de 60 días, (Zhang y col., 1983; Zhen-Ying, 1985; Runsheng, 1987 y Yun, 1988), manteniendo esta producción hasta el 10º parto.

Legault y Caritez, 1982; Terqui y col., 1990; demuestran una mayor prolificidad en la raza Meishan, alcanzando los mismos niveles que los obtenidos en China, con una superioridad de tres lechones nacidos por camada sobre Large White o Landrace francés, al igual que ocurrió en los estudios realizados en los Estados Unidos, al comparar las cerdas chinas con la raza Yorkshire, (McLaren, 1990); sin embargo, las razas Jiaxing black y Jinhua en Francia no se manifiestan superiores a las europeas, en las tres primeras parideras. A partir de la cuarta, las cerdas Jiaxing parieron unas camadas mas numerosas, pero permanecieron a un nivel mas bajo que las cerdas Meishan, (Legault y Caritez, 1983).

Zhang y col., (1983), describen para las razas chinas del tipo Taihu, una media de lechones nacidos totales, nacidos vivos y destetados en los dos primeros partos de 13'35, 12'3 y 10'8 respectivamente, y de 16'55, 14'4 y 12'15 en cerdas con tres o mas partos.

Cheng, (1984) estudiando desde la 2ª a la 8ª paridera, da unos datos para las mismas razas de 15'7 lechones nacidos totales, 13'8 nacidos vivos y 11'3 lechones destetados. Valores similares a los descritos por Bidanel y Legault, (1986) en los cinco primeros partos de las cerdas Meishan y Jiaxing, con una media de 13'75 lechones nacidos totales, 12'9 lechones nacidos vivos y 11'6 destetados.

Los resultados obtenidos en cruces de las razas chinas con las europeas, demuestran una mejora de prolificidad sobre las cerdas europeas puras del 30%, pudiendo conseguirse un aumento de la productividad del orden de 5 a 7 lechones destetados/cerda/año, (Legault y Caritez, 1982; Bidanel y Legault, 1986; Sellier y Legault, 1986). Dobao y col., (1988b), en estudios realizados con hembras híbridas Jiaxing x Ibérico (JX x IB) y cerdas Ibéricas (IB) puras, encontraron unas medias de prolificidad en los tres primeros partos de  $11'4 \pm 0'4$  y  $8'5 \pm 0'3$  lechones nacidos y  $10'9 \pm 0'4$  y  $8'1 \pm 0'4$  nacidos vivos, en las hembras JX x IB e IB respectivamente, siendo estas diferencias estadísticamente significativas al 1 p. 100.

Los experimentos de cruzamientos han revelado que los genes que controlan la prolificidad, están expresados en la madre (Zhihua y col., 1988; Haley y Lee, 1990). Una de las razones para explicar la prolificidad mayor en las cerdas chinas, es

la menor mortalidad embrionaria que sucede en los primeros estadios de gestación (Bidanel y Legault, 1986; Bazer y col., 1988b; Haley y col., 1990), debido bien a un ambiente uterino capaz de soportar el crecimiento y desarrollo de muchos embriones, o a una mejor calidad y viabilidad de los embriones producidos.

Rombauts y col., (1982) describen un número de ovulaciones durante los cinco primeros ciclos de 15'9 en la raza Jiaxing y 14'7 en la raza Meishan, siendo del mismo orden que en las razas francesas Large White con 15'4 y Landrace con 13'7 según Legault y Gruand, (1981). El número de ovulaciones aumenta poco en el curso de los ciclos sucesivos en cerdas  $F_1$  (Anderson y Einarsson, 1980; Rombauts y col., 1982), hasta aproximadamente el 5º ó 6º ciclo siguientes a la pubertad, produciéndose posteriormente un aumento mas lento.

Los estudios realizados en China con las razas del tipo Taihu, encuentran una tasa de ovulación de 15 - 16 para las cerdas nulíparas y 21 -29 puntos de ovulación para las multíparas (Fang y col., 1980; Shiging y col., 1983; Yun, 1988), lo cual representa una tasa mayor que en el caso de las cerdas europeas (Ashworth y col., 1990b). Sin embargo en Francia no encuentran diferencia significativa en la tasa de ovulación entre las razas chinas y las europeas (Legault y Gruand, 1981; Martinat-Botté y col., 1989; Terqui y col., 1990), e incluso se ha encontrado una tasa menor en las razas chinas (Bolet y col., 1986; Bazer y col., 1988a,b) aunque posteriormente ha sido mayor la prolificidad de las razas orientales.

En las cerdas híbridas con cerdas chinas, se ha encontrado igualmente una tasa mayor de ovulación que en las puras occidentales, siendo notable en  $F_1$  mas que en  $F_2$  (Yun, 1988; Dobao y col., 1990; Bazer y col., 1988b). En todos los cruces efectuados de las tres razas chinas existentes en Francia, con distintas razas europeas, el número medio de fetos vivos a los 30 días de gestación es de 12'5, siendo la media en las cerdas europeas e híbridas europeas, de 9'4, (Rombauts y col., 1982).

Esta prolificidad mayor con un número similar de ovulaciones, parece evidente que es debido a una mortalidad embrionaria menor en las razas chinas. En este sentido, Wu y col., (1987), propusieron que la longitud uterina es el factor determinante de la mortalidad prenatal en los cerdos, y que las diferencias en la capacidad uterina influye sobre la prolificidad. Bazer y col., (1987, 1988a,b), sin embargo, encontraron una tasa de ovulación mas baja (14'9 vs 16'2) y un útero mas corto (199 vs 281 cm.) para las cerdas Meishan que para las cerdas Large White. Habiendo una supervivencia embrionaria mayor en las cerdas Meishan, se asoció con un desarrollo mas rápido y uniforme, entre los días 8 y 20 de gestación, sugiriendo que los factores que regulan el desarrollo embrionario pueden determinar la prolificidad (Bazer y col., 1989; Simmen y col., 1989).

Haley y col., (1990), indican que el tiempo transcurrido desde el principio del estro al momento de la ovulación, es más largo en las razas chinas, habiendo una diferencia de 14 h. con respecto a las razas europeas, lo que coincide con Martinat-Botté y col., (1989), Wilmut y col., (1990) y Terqui y col., (1990), teniendo el proceso de la ovulación una duración menor.



Parece por tanto, un factor importante el hecho de ovular todos los folículos maduros en un corto espacio de tiempo, lo que facilita la uniformidad en el desarrollo embrionario. Terqui y col., (1990), indican un porcentaje de embriones vivos mayor a los 30 días de gestación en las cerdas chinas, lo cual puede influir evidentemente en la mayor prolificidad, pero no parece que el útero sea el único responsable ya que morfológicamente es menor que en las cerdas europeas. Sin embargo, hay una interacción mayor entre los embriones y el útero de la cerda, habiendo mas productos secretados por ambos. Según Ashworth y col., (1990a), ambos factores, fetales y maternos, influyen sobre el crecimiento y desarrollo de la unidad feto-placentar.

#### 2.1.4 Número de mamas

Este es un criterio apreciado en las razas de alta prolificidad cuya heredabilidad aditiva bien conocida en las razas convencionales parece igualmente establecida en las razas chinas (Anonyme, 1975). Para este carácter, en los estudios realizados en Francia, la superioridad en la muestra de la raza Jiaxing, se vuelve a encontrar en sus cruces. Así, Bazer y col., (1988b) y Legault y Caritez, (1982), dan unas cifras medias de 16'3 a 19'9 mamas en las cerdas chinas, destacando las razas Meishan y Jiaxing, teniendo sus cruces de 14'7 a 16'7 mientras que las razas europeas tienen una media de 12 a 14 mamas/cerda.

En China, las cerdas Taihu, tienen igualmente de 16 a 18 pezones, volviéndose a encontrar estas cifras en las F<sub>1</sub>

mientras que otras razas chinas y foráneas poseen de 12 a 14 pezones, (Zhang y col., 1983; Cheng, 1983; Zhen-Ying, 1985).

Dobao y col., (1990), observaron un aumento del número de mamas en el cruce JX x IB con respecto a la Ibérica pura, siendo de 10'2 para la cerda pura, 12'5 para 1/4 de Jiaxing y 14'5 para 1/2 de Jiaxing.

## 2.2 Niveles hormonales durante el ciclo estral de la cerda

### 2.2.1 Progesterona

Masuda y col., (1967), determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona de la vena ovárica, obteniendo un aumento del nivel desde  $0'36 \pm 0'15 \mu\text{g/ml}$  el día 1 del ciclo estral, hasta  $3'04 \pm 0'27 \mu\text{g/ml}$  el día 8 del ciclo, descendiendo posteriormente hasta alcanzar los  $0'23 \pm 0'11 \mu\text{g/ml}$  el día 16 del ciclo.

Stabenfeldt y col., (1969), estudiaron los niveles plasmáticos de progesterona a lo largo del ciclo estral de la cerda, utilizando en la medición hormonal, un derivado del cloroacetato por medio de cromatografía líquida de gas (GLC). En general, observaron una elevación inicial en los niveles de progesterona, de 3 a 5 ng/ml los días 3-4 del ciclo, seguidos por un incremento muy rápido hasta el día 7-8, a 15 ng/ml y continuó aumentando mas lentamente hasta el día 14 al 15, que alcanzaron unos niveles de 29 ng/ml en un ciclo de 20 días. El máximo nivel de progesterona luteal fue alrededor de 35 ng/ml de plasma. El descenso de los niveles de progesterona después del día 15 fue de forma precipitada, disminuyendo unas 30

veces, ocurriendo en la mayoría de los casos en 48 horas. Estos niveles permanecieron bajos (alrededor de 0,5 ng/ml) durante unos 7 días en la fase de crecimiento folicular y ovulación.

Tillson y col., (1970), analizaron los niveles de progesterona plasmática a lo largo del ciclo estral, comparando dos métodos, Doble isótopo derivado (DID) y el Método de unión competitiva de proteínas (Competitive Protein Binding Method, CPBM), sin encontrar diferencias cuantitativas entre ambos, si bien este último es mas rápido. Los niveles medios de progesterona los 4 días anteriores al estro y durante el estro fueron aproximadamente de 3 ng/ml. Los niveles máximos (alrededor de 26 ng/ml) se alcanzan hacia los días 10 a 12 del ciclo, reflejando la función luteal del contenido de progesterona en los cuerpos lúteos (Masuda y col., 1967) y los niveles de progesterona en la vena ovárica son también máximos durante este periodo del ciclo estral. En cerdas no gestantes, los niveles de progesterona descienden hasta alcanzar los valores mínimos los días 18 al 20 del ciclo estral.

Edqvist y Lamm, (1971), analizan los niveles de progesterona por medio de una técnica rápida de competición de unión proteica, (rapid competitive protein binding technique), adaptación de la descrita por Johansson, (1969). Estos autores describen una elevación inicial, los días 3 y 4 del ciclo. Hay un pico máximo de los niveles de progesterona luteal (28 a 37 ng/ml) los días 13 y 14, observando los valores mínimos durante las fases folicular y ovulatoria (2'5 ng/ml) de aproximadamente 6 días. Según estos autores, los altos valores publicados por otros investigadores, durante la fase folicular, son debidos probablemente a un exceso de productos tritiados no asociados

con la progesterona, lo cual dará una sobrestimación de esta. Las principales ventajas de la técnica utilizada por Edqvist y Lamm, (1971), son la necesidad de una cantidad muy pequeña de plasma x (0'1 ml) en primer lugar, y el ser un método rápido y sencillo en segundo lugar.

Henricks y col., (1972), utilizando la misma técnica de la Unión Proteica Competitiva (Competitive Protein Binding, CPB), obtuvieron resultados similares a los obtenidos por Edqvist y Lamm, (1971), a lo largo del ciclo estral con una duración de 19 a 21 días. Los niveles de progesterona empezaron a aumentar rápidamente en los dos días posteriores al estro. Hacía el día 6 del ciclo, el nivel medio era de 28 a 48 ng/ml el día 12. Después de permanecer así 2-3 días el nivel descendió rápidamente en todas las cerdas, a menos de 3 ng/ml en 48 horas. Estos autores encontraron un periodo de 4-6 días previo al estro, durante el cual el nivel fue menor de 1 ng/ml. Aunque el nivel medio de progesterona no alcanzó un pico hasta el día 12, el nivel fue aproximadamente de 2/3 del máximo, en los días 6-8 del ciclo estral.

Guthrie y col., (1972), estudiaron los niveles de progesterona por medio de la técnica de Competitive Protein Binding Assay (CPBA), a lo largo del ciclo estral y principio de la gestación. La concentración media de progesterona descendió de 16 ng/ml el día -6, hasta 1,2 ng/ml el día -4 antes del estro. El nivel fue igual o menor a 1 ng/ml los cuatro días siguientes (-3 al 0), siendo el día 0, el primer día de estro. Después del estro y el cruzamiento, la progesterona aumentó rápidamente hasta el día 12 de igual forma en las cerdas gestantes como en las vacías. La concentración

el día 6 del ciclo fue de 25 ng/ml (70% del valor de 35 ng/ml del día 12). Después de alcanzar el máximo nivel el día 12, la concentración descendió lentamente a 17'2 ng/ml el día 24 en las hembras gestantes, a diferencia de las vacías.

Parvizi y col., (1976), utilizando la técnica de radioinmunoanálisis, realizaron un estudio de los niveles de progesterona plasmática junto con la hormona luteinizante. La progesterona descendió a menos del 50% de su valor máximo a los 8 días antes del pico preovulatorio de LH. Desde 5 días antes del estro se detectó un descenso mayor, ocurriendo un ligero incremento 48 horas después del pico preovulatorio de LH. Los niveles máximos de progesterona se observaron entre los días 9 y 12 del ciclo.

Eiler y Nalbandov, (1977), describen valores altos de progesterona, durante la fase luteal, descendiendo drásticamente el día 17 del ciclo y permaneciendo bajos el resto del mismo.

Guthrie y Rexroad, (1980), en un estudio "in vitro", describen un aumento de la progesterona plasmática los días 8 al 12 del ciclo estral (25'1 a 42'8 ng/ml;  $p < 0'05$ ), descendiendo los días 14 al 16 (36'3 a 5'9 ng/ml,  $p < 0'05$ ).

Niwa y col., (1981), describen unos niveles de progesterona que empiezan a elevarse 1 a 2 días después que los niveles de LH alcanzaran el pico y en el último día o un día después del final del estro. Al tiempo, la LH plasmática comienza a descender. Posteriormente, la progesterona se mantiene en unos niveles altos entre los días 7 y 14 del ciclo, siendo el máximo

de 13 a 29 ng/ml. Cuando los niveles de progesterona descienden hasta el nivel basal, los niveles de estrógenos comienzan a subir.

Van de Wiel y col., (1981), describen unas concentraciones plasmáticas de progesterona elevadas, durante aproximadamente 14 días, empezando el día 2 después del pico de LH, con valores máximos de 28'3 - 32 ng/ml, los días -9 a -7, (aproximadamente los días 12 al 14 del ciclo estral). Sin embargo, los días 5 al 7 se observó un pico intermitente con unas concentraciones máximas de 13'1 - 23'8 ng/ml.

Henderson y col., (1985), describen unos valores mínimos de progesterona durante el estro (3'55 ng/ml o menos) y los máximos niveles de 35'4 - 58'2 ng/ml entre los días -12 y -5.

Martínez García y col., (1985a), realizaron un estudio comparativo entre cerdas Ibéricas y Large White, describiendo un aumento de las concentraciones de progesterona desde el día 2 del ciclo (día 0 = primer día de estro) hasta el día 12 en que se alcanzó un máximo nivel de  $10'78 \pm 2'6$  ng/ml. Alrededor del día 16 (d15 - d18), las concentraciones se situaron en los niveles basales. Hacia el día 6 del ciclo, se observó un establecimiento de los valores, que duró aproximadamente 24 horas. En las cerdas Large White, también comenzó a aumentar hacia el día 2 del ciclo. A partir de este día se produjo un rápido aumento que se prolongó hasta el día 6 donde hubo una ligera disminución hasta el día 7, volviendo a incrementarse los niveles hasta el día 14, ocurriendo entonces un brusco descenso para alcanzar los niveles basales sobre el día 17 (d16 - d17). El máximo nivel fue de  $18'7 \pm 3'7$  ng/ml.

Ritzhaupt y col., (1986), describen unos valores para progesterona los días 3, 8, 13 y 18 del ciclo estral, de  $3'8 \pm 1'6$ ;  $35'5 \pm 7'2$ ;  $15'0 \pm 6'5$  y  $1'7 \pm 0'5$  ng/ml, respectivamente.

### 2.2.2 Estrógenos

En 1962, Lunaas, determinó los niveles de estrógenos excretados por la orina, a lo largo del ciclo estral de la cerda. Durante este periodo, los parámetros de los niveles de estrona urinaria, se caracterizaron por una elevación e los niveles asociada con el estro, en un pico bien definido, seguido por un súbito descenso, normalmente a los niveles mas bajos que se observaron.

Henricks y col., (1972), por medio del radioinmunoanálisis, determinaron los niveles de estrógenos plasmáticos durante el ciclo estral y el primer día del estro (día 0). El nivel medio de estrógenos plasmáticos, alcanzó un rango de 10 - 30 pg/ml a lo largo del ciclo excepto el día previo al estro en el que aumentó la concentración a 60 - 70 pg/ml. Los días 4 - 5 del ciclo hubo un cambio en el nivel con un pequeño incremento de 20 - 30 pg/ml. El nivel entonces descendió, pero de forma muy variable, alcanzando de 12 a 86 pg/ml. La concentración de estrógenos llegó a un nivel máximo 48 horas previas al momento de máxima concentración de LH el primer día del estro.

Para Guthrie y col., (1972), los estrógenos totales comenzaron a aumentar el día -3 (días -5 y -4, el estradiol-17 $\beta$  fue < 20 pg/ml), coincidiendo con el momento de niveles de progesterona mas bajos en la mayoría de los animales del

experimento, y alcanzó valores máximos de aproximadamente 38 pg/ml los días -2 y -1 antes del estro. Los niveles de estrógenos fluctuaron entre 10 y 28 pg/ml previo al pico de estrógenos en el proestro. La concentración máxima del estradiol se alcanzó como mínimo un día antes del pico de LH, el cual sucedió el día del estro.

Eiler y Nalbandov, (1977), describen unos niveles de estrógenos uniformes a lo largo del ciclo, decreciendo en el día de celo y descendiendo aun más el día 2, pocas horas antes de la ovulación, pero mientras las hembras eran todavía receptivas sexualmente.

Niwa y col., (1981), describen una concentración de estradiol-17 $\beta$  que se eleva al máximo, entre uno y tres días antes de que se produzca el pico preovulatorio de LH. Este máximo de E<sub>2</sub>, fue de 40 a 60 pg/ml.

Van de Wiel y col., (1981), encontraron unas concentraciones de estradiol-17 $\beta$ , máximas en un periodo de 8-15 horas antes del momento de máxima concentración de LH, variando entre 32'1 y 56'4 pg/ml. Durante este periodo de máxima concentración de estradiol, los niveles basales de LH permanecieron relativamente constantes y la liberación episódica o pulsátil de LH, estuvo largamente suprimida comparado con la fase luteal del ciclo estral. El estradiol-17 $\beta$  junto con la progesterona mostraron una serie de picos episódicos, los cuales parecían seguir a los picos episódicos precedentes de las hormonas gonadotrópicas. Los picos de estradiol seguían cercanamente a los picos de LH después de un periodo de aproximadamente 1 hora.



Henderson y col., (1985), realizaron un estudio comparando los niveles séricos de estradiol-17 $\beta$  con la conducta del celo en cerdas. Obtuvieron unos picos de estradiol entre 22 y 49 pg/ml entre los días -1 y +1 (siendo el día 0 el primer día de conducta estática). El resto del ciclo obtuvieron niveles menores a 5 pg/ml.

Lee y col., (1985) determinaron los cambios de los niveles de estradiol-17 $\beta$  a lo largo del ciclo estral, obteniendo 27'2 pg/ml el día del estro y siendo inferiores a estos niveles el resto del ciclo estral.

Rojanasthien y col., (1988) en un estudio comparativo de los niveles de estradiol-17 $\beta$  durante las fases folicular y luteal en la vena utero-ovárica y la vena yugular, obtuvieron un nivel mas elevado en la primera, en todos los animales analizados. La concentración máxima se alcanzó el día -1 del ciclo siendo de 200-260 pmol/l en la vena utero-ovárica y de 80-120 pmol/l en la vena yugular. Igualmente, partiendo de niveles de 20 pmol/l en las dos venas, el nivel comenzó a subir aproximadamente el día -6 del ciclo en la vena útero-ovárica, mientras que en la vena yugular no se detectó el aumento hasta el día -4 del ciclo.

Kelly y col., (1988), describen niveles medios de estradiol plasmático, similares en cerdas seleccionadas con alta tasa de ovulación y cerdas control elegidas al azar, llegando a un nivel máximo alrededor de 35 pg/ml el día -1, correspondiendo el día 0, al máximo nivel del pico preovulatorio de LH.

### 2.2.3 Hormona Luteinizante (LH)

Tillson y col., (1970), observaron una concentración máxima de los niveles de LH medidos a lo largo del ciclo estral, en el día del estro.

Henricks y col., (1972), describen un nivel medio de LH, de 2'5 ng/ml el día 0 (primer día de estro), descendiendo posteriormente a menos de 1 ng/ml/animal hasta el siguiente estro. Hay que tener en cuenta, que a lo largo del ciclo, solo se realizó una toma de sangre por día. Durante el estro se realizaron dos tomas de sangre diarias, aumentando los niveles de LH por encima de los 5 ng/ml, mientras que el nivel de estrógenos estaba alto (>20 pg/ml) y la progesterona permanecía por debajo de 1 ng/ml.

Según Guthrie y col., (1972), el pico de LH, ocurre el día del estro como mínimo un día después que los estrógenos alcancen su máxima concentración. La concentración media aumenta el día -1 a unos valores de 1'8 ng/ml y el día 0 a 3'8 ng/ml. Los niveles medios de LH los días 3-24 de gestación son de  $1'6 \pm 0'038$  ng/ml, mientras que los días -6 a -2 antes del estro son de  $1'02 \pm 0'011$  ng/ml por lo que al ser mas altos durante la gestación que durante la fase folicular, es muy posible que la secreción de LH sea necesaria para el mantenimiento de los cuerpos lúteos de gestación.

Wilfinger, (1974), describe la máxima concentración preovulatoria de LH plasmática ( $7'06 \pm 2'4$  ng/ml) entre las 24 horas del día 0 y las 6 horas del día 1. La duración media de los picos preovulatorios de LH fue de  $28'75 \pm 4'76$  horas desde

la elevación inicial, hasta la vuelta a la concentración basal de  $1'19 \pm 0'25$  ng/ml, observándose de este modo, una media de 8'75 picos en la fase luteal. Aproximadamente el 69'5% tenían una duración media de  $12'65 \pm 1'79$  horas con una concentración media máxima de  $2'29 \pm 0'55$  ng/ml en los días 2 al 17. El resto de los picos de la fase luteal alcanzaron una concentración media máxima de  $2'86 \pm 1'04$  ng/ml los días 2 al 13. La duración media de estos picos de la fase luteal fue de  $18'61 \pm 3'49$  horas.

Parvizi y col., (1976), observaron que el pico preovulatorio de LH, se producía en la mayoría de los animales de sus experimentos, el primer día de estro. El límite más bajo del análisis (3 ng/ml), se produjo en las muestras diarias tomadas entre los días 9 y 12 del ciclo. Comparando los niveles de LH y progesterona, se apreció que cada elevación de progesterona era precedida por un pico de LH.

Niwa y col., (1981), determinan los niveles plasmáticos del pico preovulatorio de LH, en tres ciclos consecutivos, describiendo unos niveles desde 2'5 ng/ml a 17'1 ng/ml. La duración de estos picos alcanzó de 1 a 5 días, siendo la media de  $2'6 \pm 0'36$  días. En 5 de 9 animales el pico se produjo el día del estro.

Según Van de Wiel y col., (1981), la primera elevación rápida de LH comenzando el pico preovulatorio, precedió el momento de las máximas concentraciones de estradiol-17 $\beta$  en 1 a 3 horas. El nivel máximo alcanzado por la LH fue de 4'2 - 5'9 ng/ml obtenido 12 horas después de iniciarse la descarga preovulatoria. El descenso de las concentraciones plasmáticas

de LH, fue de una forma mas lenta que el aumento de las mismas, resultando en una curva asimétrica.

Durante la fase luteal, se observaron grandes picos episódicos de LH con valores de hasta 3'5 ng/ml. La duración de cada pico fue de 2 - 4 horas y la frecuencia varió entre 6 y 8 picos por cada 24 horas.

Ziecik y col., (1982), estudiaron los niveles de LH durante el ciclo estral, gestación, parto y el principio de la lactación. Estos autores describen descargas preovulatorias de LH desde 8 a 32 horas antes del comienzo del estro en 4 de 7 cerdas, durante el primer estro y en 3 de 7 durante el segundo estro postdestete. La concentración media durante el pico preovulatorio de LH del primer estro postdestete ( $3'00 \pm 0'46$  ng/ml) fue mas baja que durante el segundo estro ( $4'24 \pm 0'6$  ng/ml). A lo largo de los primeros doce días de gestación, las concentraciones de LH, fueron relativamente altas y variables, alcanzando de 1'2 a 2 ng/ml. Entonces descendieron a un rango de 0'42 a 0'62 ng/ml después del día 24.

Kirsch y col., (1985), describieron unos valores plasmáticos de LH por debajo de los niveles basales ( $0'75 \pm 0'38$  ng/ml), 20 horas antes de la reacción de inmovilidad. Las máximas concentraciones de LH fueron de 9 - 11 ng/ml (alrededor de 12 horas). En cerdas no cruzadas fue de 12'5 ng/ml dentro de las 3 horas siguientes al principio del estro y empezó a descender 6 horas después. Las concentraciones individuales de LH, alcanzaron desde 9'5 a 27 ng/ml. Estos valores se observaron en todos los grupos dentro de las  $13'7 \pm 5'4$  horas después del principio del pico de LH.

Martinez y col., (1985b), compararon los niveles de LH plasmática entre cerdas de raza Ibérica y Large White a lo largo del ciclo estral. El nivel plasmático de LH en cerdas Ibéricas comenzó a aumentar 23 horas antes de la presentación del celo, produciéndose el pico preovulatorio de LH, 12 horas antes.

En las cerdas Large White, el nivel plasmático de LH comenzó a elevarse 20'3 horas antes del inicio del celo, ocurriendo el pico preovulatorio de LH en el 62'5% de las hembras antes del estro.

El nivel máximo de LH fue de  $5'9 \pm 0'644$  ng/ml y  $5'7 \pm 0'325$  ng/ml en cerdas Ibéricas y LW respectivamente. Los valores medios de LH en el día del pico preovulatorio, se situaron a un nivel de  $2'73 \pm 0'639$  ng/ml en cerdas Ibéricas y  $3'42 \pm 0'352$  ng/ml en cerdas Large White. La duración del pico fue de  $22'5 \pm 8'668$  horas en las Ibéricas y  $28'75 \pm 1'830$  horas en Large White, y los niveles basales preovulatorios, post-ovulatorios y durante el resto del ciclo fueron de  $1'32 \pm 0'336$ ;  $1'55 \pm 0'373$  y  $1'20 \pm 0'051$  ng/ml en las cerdas Ibéricas, y de  $1'02 \pm 0'162$ ;  $1'33 \pm 0'297$  y  $1'14 \pm 0'175$  ng/ml en las cerdas Large White.

Kelly y col., (1988), comparando los niveles plasmáticos de las hormonas gonadotrópicas y esteroides durante el periodo periovulatorio entre cerdas seleccionadas con una tasa de ovulación alta y cerdas control, describen un incremento rápido durante 12 a 48 horas y después del pico de LH descienden durante 18 a 24 horas volviendo al nivel basal.

El valor medio de LH (2'48 vs 1'95 ng/ml) y el pico de LH durante el periodo preovulatorio (4'79 vs 3'83 ng/ml) fueron más altos en las cerdas selectas que en las controles, pero estas diferencias no fueron significativas.

Ogata, (1979), tampoco encontró diferencias en el pico preovulatorio de LH, entre una línea genética seleccionada con alta ovulación ( $4'2 \pm 0'8$  ng/ml) y cerdas control elegidas al azar ( $3'4 \pm 0'2$  ng/ml).

Por el contrario, Ellendorff y col., (1988), describen un nivel medio máximo del pico preovulatorio de LH de 27'4 ng/ml en cerdas Meishan, frente a 11'16 ng/ml en cerdas Large White, siendo un 245'6% más alto en las primeras. Sin embargo, la tasa de ovulación fue muy similar para ambas razas, 13'5 (MS) y 14'5 (LW).

#### **2.2.4 Hormona Folículo Estimulante (FSH)**

Los estudios de la hormona folículo estimulante (FSH) en cerdos, hasta el año 1974, habían estado sujetos a las determinaciones de FSH en la glándula pituitaria por bioanálisis. Parlow y col., (1964) publicaron unas concentraciones elevadas de FSH hipofisaria en neonatos y en cerdas próximas a la pubertad. En cerdas cíclicas, la FSH hipofisaria era baja en el estro, permaneciendo baja hasta el día 4 y aumentaba los días 10 y 18, descendiendo desde el día 18 hasta el siguiente estro. El bioanálisis empleado no era bastante sensible para medir la cantidad de FSH en el suero.

En 1974, Rayford y col., desarrollaron un radioinmunoanálisis (RIA) específico para FSH porcina. Utilizando este método, determinaron unos niveles de FSH sérica de 7 ng/ml en el día del estro, aumentando hasta 9 ng/ml el día 2 y 3 del ciclo, para descender otra vez entre 6 y 7 ng/ml el día 4 del ciclo y mantenerse así el resto del ciclo estral.

Van de Wiel y col., (1981), realizaron un estudio sobre los niveles plasmáticos de diferentes hormonas en el periodo del estro. Respecto a las concentraciones de FSH, encontraron continuas fluctuaciones con valores máximos produciéndose en la mayoría de los casos, una hora después o coincidiendo con las máximas concentraciones de LH.

En este estudio, solo observaron un pequeño pico, al tiempo que el pico preovulatorio de LH y no en todos los animales. Este pequeño aumento de FSH, comenzó de 1-9 horas después del inicio de la descarga preovulatoria de LH, teniendo una duración media de 19 horas. Los máximos niveles fueron de 11'3 a 18'5 ng/ml, alcanzados 1-5 horas después de la máxima concentración de LH, coincidiendo prácticamente con el descenso de estradiol, el cual se produjo desde 8 horas antes hasta 8 horas después de la concentración máxima de LH.

Pasado este periodo, las concentraciones plasmáticas de FSH fluctuaron durante 19 horas alrededor de 11 ng/ml y entonces se elevó otra vez a una concentración máxima de aproximadamente 20 ng/ml el día 3 después del pico de LH. Esta segunda elevación comenzó 27-30 horas después de la máxima concentración de LH.

Durante el periodo final de la fase folicular, los niveles de FSH fueron disminuyendo, coincidiendo con un periodo de incremento de las concentraciones de estradiol-17 $\beta$ . Las concentraciones de FSH llegaron a ser mínimas, con unos niveles entre 5,8 y 11,8 ng/ml al mismo tiempo que las concentraciones de estradiol llegan a ser máximas.

Durante el principio de la fase luteal, las concentraciones de FSH se elevaron uniformemente hasta el día 3 después del pico de LH. Posteriormente los niveles descendieron lentamente hasta el día 7. Durante el resto de la fase luteal del ciclo, las concentraciones plasmáticas de FSH, permanecieron en un nivel intermedio.

Durante la fase folicular se observó un descenso de FSH comenzando 3-5 días antes del pico de LH. Sin embargo, todos los cambios en las concentraciones de FSH, basadas en las muestras diarias durante el ciclo estral, no fueron significativas ( $p > 0,05$ ) debido a las grandes variaciones individuales.

Kelly y col., (1988), describen dos picos distintos durante el periodo periovulatorio. El nivel basal fluctúa alrededor de 0,13 ng/ml, aumentando el día -1 (día 0 = máximo nivel del pico preovulatorio de LH), desde 2 hasta 5 veces sobre el nivel basal, alcanzando niveles que tendían a ser más altos en las cerdas selectas.

El segundo pico de FSH, empezó aproximadamente 24 horas después del pico preovulatorio de LH (día 1), aumentando durante aproximadamente 42 horas, hasta alcanzar valores



máximos 2 a 3 veces mayores que las concentraciones del pico preovulatorio (1'46 ng/ml en control frente 1'74 ng/ml en selectas). A continuación, sobre el día 2, las concentraciones de FSH comenzaron a descender, sin haber llegado al nivel basal, al final de su experiencia, el día 4 posterior al pico preovulatorio de gonadotropinas.

Knox y col., (1991), describen valores medios de FSH plasmática de  $0'57 \pm 0'03$  ng/ml durante los días 0 y 5 del ciclo (día 0 = primer día de estro) y de  $0'56 \pm 0'05$  ng/ml durante los días 5'5 al 9. En su trabajo, encontraron los niveles de FSH mas bajos el día 6'5 y se volvieron a incrementar gradualmente hasta el día 9.

### **2.3 Maduración folicular. Interacciones hormonales**

La cerda ha sido un animal muy utilizado para estudiar el control de la foliculogénesis en las especies polítoicas y particularmente para examinar las interrelaciones entre los folículos de los ovarios. Todos los procesos producidos en los ovarios, como la elección y posterior selección de los folículos; el desarrollo de las células granulosas y teca y las interacciones que se producen entre las hormonas gonadotropas y esteroides, llevan al crecimiento folicular, culminando en la ovulación, siendo el número de ovulaciones, un parámetro fundamental en la prolificidad de la cerda.

#### **2.3.1 Desarrollo folicular en el periodo prepúber**

El proceso de desarrollo folicular y la pubertad, están estrechamente relacionados y ambos están asociados con la

maduración del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Desde el nacimiento, ya están presentes los folículos y oocitos necesarios para toda la vida de la cerda y la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), junto con la liberación desde la pituitaria de FSH y LH, ya están establecidas (Christenson y col., 1985).

Después del nacimiento, los patrones de secreción de LH y FSH se comportan de manera diferente (Colenbrander y col., 1977; Elsaesser y col., 1976, 1978). Las elevadas concentraciones de LH antes del nacimiento disminuyen gradualmente durante los primeros 30 días de vida y permanecen relativamente constantes hasta la pubertad. En cambio, las concentraciones séricas de FSH que están elevadas en el nacimiento, permanecen relativamente constantes hacia los 75 días de edad y entonces descienden antes de la pubertad (Colenbrander y col., 1982; Wise, 1982; Guthrie y col., 1984).

El desarrollo de folículos primordiales y el inicio de un pequeño crecimiento de folículos primarios, es independiente de las gonadotropinas de la pituitaria y está sujeto solo a controles intraováricos (Peters y col., 1975). En el momento que estos folículos primarios en desarrollo adquieren las células de la teca interna, la continuación del crecimiento y maduración del folículo, llega a ser completamente dependiente de las gonadotropinas de la pituitaria y el desarrollo depende de la regulación, por parte de hormonas proteicas y esteroides, de la proliferación, diferenciación y función de las células granulosas.

El momento exacto y el mecanismo por el cual las gonadotropinas de la pituitaria empiezan a influir sobre el desarrollo folicular de los ovarios, permanecen desconocidos. El desarrollo de folículos terciarios, comienza alrededor de los 60 días de edad (Oxender y col., 1979) y puede representar el estado en que los folículos llegan a ser sensibles a las gonadotropinas.

Las gonadotropinas exógenas son ineficaces para estimular el desarrollo folicular ovárico en cerdas de 30 días de edad (Casida, 1935) y en algunas cerdas de 60 días de edad (Oxender y col., 1979). Estos últimos autores, publicaron que 2 de 4 cerdas, ovularon en respuesta a PMSG (30 U.I./kg. peso corporal) tratando el día 62 y 65, seguido por HCG (30 U.I./kg. peso corporal) el día 70 de edad. El tratamiento a los 100 días de edad y mayores, con PMSG y HCG, induce el crecimiento folicular y ovulación en un alto porcentaje de cerdas (Paterson, 1982). Todos estos estudios, apoyan la idea que el desarrollo folicular depende de las gonadotropinas.

Alrededor de los 100 días de edad, las concentraciones de FSH y LH disminuyen en cerdas enteras, en comparación con cerdas ovariectomizadas. Esto indica la maduración del sistema de regulación de retroalimentación negativa de las gonadotropinas hipofisarias, por parte de los esteroides ováricos (Christenson y col., 1985). Parece probable, que durante este periodo de maduración, el ovario de la cerda, desarrolle receptores a las gonadotropinas, como se ha demostrado en estudios realizados en rata (Siebers y col., 1977) y el eje hipotálamo-hipófisis responda a la presencia de los ovarios.

En el periodo previo a la pubertad y primera ovulación, los estudios de Camous y col., (1985) no encontraron cambios en los perfiles séricos de LH. Sin embargo, Pelletier y col., (1981) y Lutz y col., (1984) han encontrado aumentada la secreción de LH (aumento de la frecuencia y baja amplitud). Lutz y col., (1984), describen un aumento significativo en las concentraciones de LH séricas, caracterizadas por una frecuencia acelerada (aproximadamente 1 pico/hora) de pulsos de LH, de amplitud muy baja, comparado con edades previas.

Las concentraciones de estradiol disminuyen rápidamente después del nacimiento (Elsaesser y Foxcroft, 1978; Elsaesser y Parvizi, 1979). En la pubertad, o inmediatamente antes de la primera ovulación, el estradiol empieza a elevarse (Karlbon y col., 1982; Esbenshade y col., 1982). Camous y col., (1985), observaron que los estrógenos excretados en la orina aumentaban 4 veces desde los 40 a los 200 días de edad en las cerdas prepúberes.

Las concentraciones de progesterona plasmática son bajas desde el nacimiento a la primera ovulación (Elsaesser y col., 1976, 1978; Karlbon y col., 1982). Parece que la iniciación del crecimiento folicular y del primer estro, no son una consecuencia de la secreción de progesterona (Esbenshade y col., 1982).

### **2.3.2 Elección y selección folicular**

Existen numerosos estudios de la cerda prepúber (Christenson y col., 1985), en la cerda cíclica (Clark y col., 1973; Dailey y col., 1972) y en la cerda lactante y destetada

(Britt y col., 1985), en los que sugieren que excepto en la fase folicular, hay un desarrollo y subsiguiente atresia de forma continua, manteniendo un grupo de folículos proliferativos de 1-6 mm. de diámetro.

El número de folículos que se mantienen dentro de un tamaño determinado, es mayor en razas con una tasa de ovulación alta (Clark y col., 1973) y podría ser un dato determinante de la tasa de ovulación y tamaño de camada, como se ha sugerido para algunas razas de ovejas (Lahlou y col., 1984).

Dando un estímulo apropiado, se produce la elección de folículos desde un grupo proliferativo de folículos antrales de 1 a 6 mm. El momento en que se produce la selección, ha sido estudiado ampliamente en la cerda nulípara cíclica. Los resultados de experimentos con tratamientos de hormonas gonadotropas exógenas (Hunter y col., 1976), electrocauterizando folículos (Clark y col., 1979) y realizando la ovariectomía unilateral (Coleman y Dailey, 1979), sugieren que la selección se produce entre los días 14 y 16 del ciclo estral.

Parece que hay un proceso continuo de crecimiento y atresia dentro del grupo de folículos proliferativos y que la tasa de atresia es mas alta en los folículos de menor tamaño (Clark y col., 1982). Si la selección no se produce, entonces los folículos mayores también serán atrésicos inevitablemente y serán reemplazados con folículos mas pequeños, no atrésicos del grupo proliferativo. Clark y col., (1973), sugirieron que la composición del grupo de folículos proliferativos, podría estar

determinada genéticamente y puede ser un factor importante para controlar la tasa de ovulación potencial.

Una vez se ha producido la selección de los folículos, los mas pequeños o bien crecen o llegan a ser atrésicos y al final de la fase folicular, todos los folículos están en las categorías de tamaño mayores (Clark y col., 1982). Por lo tanto, hacia el día 21, solo permanece la población ovulatoria. El número de folículos de tamaño mas pequeño presentes en el momento de la selección que escapan a la atresia y son suficientemente maduros para responder al pico preovulatorio de LH, llegan a ser los determinantes de la tasa de ovulación.

### **2.3.3 Esteroidogénesis**

La esteroidogénesis durante la maduración de los folículos de Graaf, es un proceso complejo involucrando la interacción de dos compartimientos foliculares, la membrana granulosa y la teca interna, coordinados por una secuencia de acciones de las gonadotropinas de la pituitaria y reguladores intragonadales (Ireland, 1987).

Estudios realizados sobre la esteroidogénesis en folículos ováricos de cerda, apoyan la teoría de "dos células", como fue propuesta originalmente para la rata (Falck, 1959) y posteriormente confirmada en la cerda (Haney y Schomberg, 1981; Evans y col., 1981). Las células de la granulosa son el principal lugar de síntesis de progesterona y son sensibles a LH, FSH (Evans y col., 1981; Stoklosowa y col., 1982) y prolactina (Veldhuis y col., 1980).

El tejido tecal sintetiza andrógenos (Stoklosowa y col., 1982), siendo la androstenediona el más producido por las células de la teca (Evans y col., 1981), el cual, después de ser transferido a la granulosa, es convertido a testosterona y posteriormente aromatizado a estradiol. En la cerda, las células de la teca interna producen estradiol en cantidades similares a las producidas por las células granulosas (Evans y col., 1981; Stoklosowa y col., 1982).

En la rata (Falk, 1959), la aromatasa actúa a nivel de las células granulosas y en los folículos inmaduros su actividad depende de la unión de FSH a las células de granulosa (Erickson y Hsueh, 1978). Como el tejido tecal del folículo de la cerda también tiene un sistema de enzima aromatasa (Evans y col., 1981; Stoklosowa y col., 1982), existe la posibilidad que la FSH, como la LH, puedan activar la aromatasa en este tejido. El tejido tecal es sensible a LH (pero no a FSH) para producir andrógenos y esta producción aumenta con el desarrollo del folículo (Evans y col., 1981).

Las células de la granulosa y de la teca interna sufren diferenciación caracterizada por la adquisición de varios receptores de membrana, cambios en las respuestas a las hormonas de la pituitaria y el desarrollo de alteraciones en la capacidad esteroidogénica (Hsueh y col., 1984; Erickson y col., 1985).

### 2.3.3.1 Receptores de gonadotropinas y prolactina durante la maduración folicular

La FSH parece ligarse solo a las células granulosas y el número de receptores de FSH y la actividad del adenilato ciclasa sensible a FSH de las células granulosas, disminuye según aumenta el folículo (Nakano y col., 1977). En contraste, los tejidos de granulosa y teca de folículos grandes, contienen mas receptores de LH/HCG que los folículos pequeños (Nakano y col., 1977; Foxcroft y Hunter, 1985). El aumento de la unión de LH/HCG por las células granulosas está asociado con un aumento en la producción de AMPc (Lee, 1978).

May y Schomberg (1984), han demostrado que el aumento de uniones entre LH/HCG a los receptores de las células granulosas, está acompañado por un descenso en la producción de AMPc estimulado por FSH. Presumiblemente, las respuestas decrecientes reflejan una pérdida de receptores de FSH, puesto que ha sido demostrado que una reducida unión de FSH, está asociada con la luteinización en la rata (Lee y Takahashi, 1977).

En los últimos años, se ha demostrado la inducción de receptores LH/HCG dependientes de FSH para las células granulosas del cerdo *in vitro* (Loeken y Channing, 1985). También se han encontrado receptores específicos para prolactina en las células granulosas, siendo mayor la unión específica en las células de pequeños (1-2 mm.), que grandes (>6 mm.) folículos (Rolland y Hammond, 1975). Veldhuis y col. (1980), establecieron que la unión de la prolactina disminuye en cultivos de células granulosas de folículos pequeños (1-2



mm.), pero aumenta en las células de folículos grandes (>6mm.). Además, la prolactina suprime *in vitro* la producción de progesterona por las células granulosas de folículos pequeños. Sin embargo, según madura el folículo, la acción de la prolactina sobre las células granulosas, llega a ser estimuladora (Veldhuis y col., 1981).

Cuando las células granulosas son expuestas a LH/HCG *in vivo*, llegan a ser refractarias a una estimulación aguda de LH/HCG *in vitro* (May y Schomberg, 1984). Todavía no se conoce si esta pérdida de respuesta es debida a una respuesta menor de adenilato ciclasa a la LH (desensibilización) o a un número menor de receptores de LH. Los resultados de May y Schomberg, (1984), sugieren que la desensibilización se produce después de la descarga preovulatoria de LH. La pérdida de respuesta de adenilato ciclasa a la LH se produce mas rápidamente que la pérdida de receptores de LH después de la exposición a LH/HCG (Jonassen y Richards, 1980).

### **2.3.3.2 Interacción de las células granulosa y teca en la esteroidogénesis folicular**

Tanto las células de granulosa como las de la teca interna, contribuyen a la producción de estrógenos en el folículo preovulatorio, pero las células granulosas sintetizan estrógenos *in vitro* solo cuando están suplementadas con andrógenos aromatizables o durante la co-incubación con células de la teca (Evans y col., 1981; Haney y Schomberg, 1981; Stoklosowa y col., 1982). Las células granulosas son el mayor lugar de síntesis de progesterona y son incapaces de sintetizar andrógenos originalmente (Evans y col., 1981). También hay

evidencias que las células granulosas pueden contribuir a la producción de andrógenos por la teca, proporcionando un sustrato  $C_{21}$  (Linschinsky y Armstrong, 1983).

Ambos tipos de células, granulosa y teca, contribuyen a la formación de estrógenos foliculares. La tasa de producción por cada tipo celular, parece depender del estado de desarrollo del folículo, sobre la capacidad del sustrato y sobre la actividad aromatasa. Además, el sinergismo entre los componentes celulares indica que la contribución de la granulosa a la producción de estrógenos foliculares, depende en gran medida de la disponibilidad de andrógenos procedentes de la teca (Ainsworth y col., 1990).

Según Tsang y col., (1985), las células de granulosa y de la teca, produjeron progesterona *in vitro*, aumentando esta producción por la pregnenolona y dependiente del estado de desarrollo del folículo.

#### **2.3.3.3 Acciones intrafoliculares de los esteroides**

Los estrógenos y andrógenos ejercen un número de acciones sobre las células granulosas foliculares y parecen jugar un papel vital en la determinación de la suerte final de los folículos en desarrollo (Hsueh y col., 1984).

Los estrógenos estimulan la proliferación celular y la formación del antro; aumentan la formación de uniones intercelulares; incrementan el contenido de receptores para estrógenos; amplifican las respuestas inducidas por FSH (aumentan los receptores para FSH, LH y prolactina y aumentan

la actividad aromatasasa y la producción de progesterona) y estimulan la producción del factor de crecimiento similar a la insulina I (Hsueh y col., 1984).

Los andrógenos, proporcionan el sustrato para la síntesis de estrógenos y modulan la producción de esteroides.

Hay evidencias que las interacciones entre las células de granulosa y teca en la esteroidogénesis folicular, son mas complejas que simplemente la provisión de andrógenos por parte de la teca interna, como un precursor de la síntesis de estrógenos por las células granulosas (Hsueh y col., 1984; Erickson y col., 1985). Estudios *in vitro* con células foliculares porcinas (Haney y Schomberg, 1978), han demostrado que los andrógenos en general, estimulan la síntesis de progesterona por parte de las células granulosas.

Sin embargo, también hay evidencias que los andrógenos inhiben la producción de progesterona basal y la estimulada por FSH en las células granulosas (Lischinsky y col., 1983), afectando la conversión de pregnenolona a progesterona. Welsh y col., (1982), encontraron que los andrógenos en sinergismo con la FSH, aumentan la síntesis de pregnenolona y progesterona, estimulando la actividad de la enzima responsable del anclaje lateral de cadenas en el colesterol (cholesterol side - chain cleavage) y la 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa.

Se ha demostrado que los estrógenos estimulan o inhiben (Haney y Schomberg, 1978) la producción de progesterona por las células granulosas en cultivo, dependiendo de la duración del

tratamiento de estrógenos y el estado de diferenciación de las células.

Los estrógenos también pueden aumentar la respuesta de las células granulosas a FSH y LH/HCG, en la producción de progesterona a través de la estimulación de la actividad de la enzima responsable del anclaje lateral de cadenas en el colesterol. También se ha demostrado que los estrógenos pueden aumentar la unión de prolactina y actuar sinérgicamente en el control de la producción de progesterona por parte de las células granulosas (Veldhuis y col., 1981).

Investigaciones mas recientes han descubierto un sistema regulador por el cual estrógenos catecoles (es decir, 2-hidroxiestradiol-17 $\beta$ ) sintetizado del estradiol-17 $\beta$ , puede estimular la producción de progesterona *in vitro* por las células granulosas de cerda y rata (Hudson y Hillier, 1985).

Estos estudios sugieren un complejo y potencialmente importante sistema regulador intrafolicular en el que intervienen gonadotropinas, estrógenos catecoles y catecolaminas. Los esteroides pueden ejercer una acción intrafolicular directa, modulando su propia producción. Así, los andrógenos de la teca no solo sirven como sustrato para la síntesis de estrógenos por las células granulosas, sino también juegan un papel paracrino en la regulación de la esteroidogénesis en las células granulosas. Los estrógenos producidos por la teca y granulosa pueden ejercer también un control autocrino en la esteroidogénesis folicular por un feedback negativo local para controlar la síntesis de su propio precursor.

#### 2.3.4 Prostaglandinas y ovulación

El desarrollo de los folículos preovulatorios, está asociado con un marcado aumento de los niveles intrafoliculares de PGE-2 y PGF<sub>2</sub> $\alpha$  poco tiempo antes de la ovulación (Ainsworth y col., 1975).

La indometacina, inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, suprime la descarga preovulatoria de prostaglandinas y bloquea la ovulación. Sin embargo, otras respuestas ováricas producidas por la acción de LH/HCG (maduración del oocito, luteinización y aumento de la producción de progesterona), no se evitan por la acción de la indometacina. Además, el bloqueo de la ovulación por la indometacina, puede superarse por la administración de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  y no por PGE-2, poco tiempo antes del momento de la ovulación (Downey y Ainsworth, 1980).

Estos resultados sugieren que para la ruptura folicular es necesario un aumento de prostaglandinas intrafoliculares en respuesta a LH.

##### 2.3.4.1 Síntesis folicular de prostaglandinas

En cerdas tratadas con PMSG/HCG, se ha demostrado que las células granulosas y de la teca, separadas de los folículos antes o después de la administración de HCG, produjeron PGE-2 y PGF<sub>2</sub> $\alpha$  *in vitro* (Tsang y col., 1988).

Antes de la exposición a la LH/HCG *in vivo*, las células de la teca son la principal fuente de producción de PG y después

de la exposición a LH/HCG *in vivo*, la producción de PG aumenta, siendo las células granulosas las mayores responsables. Además, el aumento en la producción de PG por parte de las células granulosas, está asociado con un aumento preferencial en la producción de  $\text{PGF}_2\alpha$  (Tsang y col., 1988), apoyando la hipótesis que un cambio en los niveles relativos de  $\text{PGE}_2$  y  $\text{PGF}_2\alpha$  es importante como un factor determinante en la ruptura folicular.

#### **2.3.4.2 Acciones intrafoliculares de las prostaglandinas**

La ovulación está asociada con un aumento de las enzimas proteolíticas, incluyendo activador de plasminógeno en el folículo y colagenasa. Las prostaglandinas han sido implicadas en la activación, síntesis y/o liberación de enzimas proteolíticas ya que el aumento en los niveles de estas enzimas en el folículo, sigue un patrón similar al de las prostaglandinas (Espey, 1980). También es posible que las prostaglandinas jueguen un papel en el aumento de la actividad del músculo liso en la pared folicular, observado hacia el momento de la ovulación, o inducir cambios microcirculatorios en la pared folicular (Lindner y col., 1977).

#### **2.4 Regulación hormonal del ciclo estral**

Son muchos los trabajos dirigidos al control del estro y la ovulación en la cerda. Inicialmente se estudiaron diferentes tipos de manejo junto con la exposición al verraco, dedicándose otros autores al estudio de distintas hormonas exógenas para interrumpir el ciclo estral. Este, puede ser alterado por una supresión de la actividad ovárica para retrasarlo, o bien, por inducción prematura de la regresión del cuerpo lúteo,

acelerando de esta forma el principio del estro. En los animales sexualmente maduros, después de estos tratamientos, el desarrollo espontáneo de los folículos ocurre con normalidad.

Para conseguir una sincronización de cerdas multíparas, en condiciones de producción, el método mas utilizado es el destete. Las cerdas en lactación tienen paralizada la liberación de gonadotropinas, al destetarse, se produce el desbloqueo, apareciendo en celo hacia el quinto día post-destete, favoreciéndose con la exposición al verraco. Pero este método es bastante inexacto, por lo que comenzaron a utilizarse hormonas exógenas.

#### **2.4.1 Control de la fase luteal**

Para regular la función luteal, en principio se utilizó la progesterona, la cual, administrada en una dosis adecuada (100 mg/día) inhibe el estro, pero ha de ser inyectada diariamente, siendo un inconveniente para el uso rutinario en una explotación, (Ulberg y col., 1951; Baker y col., 1954; Gerrits y col., 1963).

Posteriormente surgieron los progestágenos sintéticos con la ventaja frente a la progesterona, de ser activos oralmente, pudiéndose administrar con el pienso. Pero no han sido plenamente satisfactorios, por no lograrse una buena sincronización, tener una posterior baja fertilidad y la formación de quistes foliculares.

Los progestágenos, actúan impidiendo la liberación de las descargas hipofisarias de las hormonas LH y FSH, simulando de esta forma la acción de la progesterona. Normalmente no afectan a la vida media del cuerpo lúteo, por lo que éste, continua su función con normalidad, produciéndose su regresión a partir del día 12 del ciclo. Al no haber entonces hormonas gonadotrópicas que estimulen el desarrollo folicular, el ciclo estral queda bloqueado.

El primero con el que se experimentó fue el 6-metil-17-acetoxiprogesterona (MAP), inhibiéndose el estro sin producir quistes foliculares, pero no se lograba una buena sincronización, al tiempo de haber una pobre fertilidad y por tanto las camadas resultaban a menudo reducidas, (Baker y col., 1954; Dziuk, 1960, 1964; Nellor, 1960; Nellor y col., 1961; Dziuk y Baker, 1962; First y col., 1963; Dziuk y Polge, 1965).

Otros progestágenos activos oralmente como el 6-cloro-17-acetoxiprogesterona, (Wagner y Seerley, 1961; Ray y Seerley, 1966) y el  $17\alpha$ -acetoxi-6-metilpregna-4,6-dien-3,20-dione, (Pond y col., 1965), han resultado similares al MAP.

Posteriormente, se consiguió un control efectivo del ciclo estral, por inhibición de la función ovárica, con un componente no esteroide, derivado de la ditiocarbamoilhidracina, el ICI 33828, ( $1\alpha$ -metil allytiocarbamoil-2-metiltiocarbamoilhidracina), también llamado metaliburo. Después de administrarlo durante 18 a 20 días, la mayor parte de las cerdas, se muestran en celo 5-8 días después de retirar el producto, actuando de igual forma en nulíparas que en multíparas, sin estar disminuida la fertilidad, (Polge, 1965,



1966; Gerrits y Johnson, 1965; Stratman y First, 1965; Groves, 1967; Polge y col., 1968), pero este compuesto fue retirado por producir efectos teratógenos.

Otro progestágeno, un esteroide inhibidor hipofisario, apareció posteriormente. El SA 45249, derivado de la 19-nortestosterona (17 $\beta$ -hidroxi-17 $\alpha$  propadienil estro 3,9-dien-3-ona). Activo oralmente, se administra en cápsulas de 2 mg. cada una, siendo efectivo a partir de 6 mg/animal, durante 12-14 días consecutivos (Mayer y Schütze, 1977). No obstante, las demostraciones de celo, aparecen con una gran amplitud, entre el 4º y 12º día, según Pérez García y col., (1982), en desacuerdo con Malmgren y col., (1983) que indican unas manifestaciones de celo entre los 3 y 6 días después del tratamiento.

El motivo del retraso del principio del estro o de la mayor amplitud del tiempo en demostrarlo, es por haber comenzado el tratamiento en algunos animales, durante los primeros estados de sus respectivos ciclos (Schütze y Mayer, 1977).

García Ruvalcaba y col., (1988), hacen un estudio comparativo, administrando el SH 45249 durante 12 y 18 días consecutivos, obteniéndose una agrupación de las manifestaciones estrales más uniforme y generalizada en las hembras sometidas al tratamiento prolongado, superior a la que proporciona el tratamiento corto, manifestándose en celo entre el 4º y 9º día el 90% de las cerdas tratadas 18 días y un 80% de las cerdas tratadas durante 12 días, coincidiendo con Zerobin, (1977).

En 1980, Martinat-Botté y col., publicaron la efectividad de un nuevo progestágeno en la sincronización de celo de las cerdas. Este producto es la alil trenbolona, también conocido por A-35957, RU-2267 y altrenogest, ( $17\alpha$ -allyl-estratriene-4-9-11,  $17\beta$ -ol-3-one). Es un esteroide sintético con actividad progestagénica utilizado para la sincronización del estro en nulíparas y multíparas, permitiendo proyectar los cruzamientos dentro de un periodo preplaneado de 3-5 días y facilitar la introducción de nulíparas dentro del programa de cruzamientos. El estro en las cerdas destetadas y en las nulíparas, puede ser programado para que ocurra simultáneamente, coordinando los días para las cerdas destetadas y administrando alil trenbolona a las nulíparas.

Webel (1978), sugirió que la dosis efectiva para la sincronización del estro sin producir quistes foliculares, estaba entre 10 y 15 mg., aunque Davis y col., (1980) no coinciden, ya que administran 12,5 mg/cerda de alil trenbolona durante 18 días consecutivos, obteniendo una buena sincronización, demostrando el celo a los 4 a 7 días, pero encuentran quistes foliculares.

Estos datos sugieren que es necesario un tratamiento suficientemente largo para permitir la regresión del cuerpo lúteo y obtener una buena sincronización. En este sentido, Stevenson y Davis, (1981), indican que un tratamiento con altrenogest de 14 días, es suficiente para sincronizar el estro en nulíparas, independientemente del estado del ciclo estral en que se encuentre. Aunque el tratamiento de 18 días mejora la precisión en la sincronización sin haber diferencias en el subsiguiente parto.

Webel (1978), determinó también la fertilidad tanto en nulíparas como en multíparas siguiendo la sincronización y con monta natural, sin haber una diferencia significativa en el porcentaje de cerdas paridas, entre las cerdas sincronizadas y las cerdas control, pero si obtuvo unas camadas mayores ( $P < 0.05$ ), por 1.3 lechones en los animales sincronizados.

El 85% de las cerdas sincronizadas fueron cubiertas durante un periodo de 4 días, mientras que una proporción similar de las cerdas control, necesitaron 15 días. Estos resultados demostraron que este progestágeno sincroniza el estro de forma efectiva y permite el cruzamiento durante un corto espacio de tiempo sin disminuir la fertilidad, con lo que coinciden O'Reilly y col., (1979).

Para determinar la dosis necesaria del progestágeno activo oralmente, para la efectiva sincronización del estro en cerdas, sin producir quistes foliculares, fue llevado a cabo un estudio por Kraeling y col., (1981). Los animales que habían mostrado celo como mínimo una vez, fueron tratados en grupo durante 18 días consecutivos, administrando 5, 10, 20 ó 40 mg de alil trenbolona incorporado en la dieta diaria de 1.8 ó 2.3 kg de alimento. Los resultados muestran que la dosis mas efectiva para la sincronización del estro y la ovulación sin inducir el desarrollo de quistes foliculares, fueron 20 y 40 mg, y que la dosis mínima efectiva para la sincronización fue entre 10 y 20 mg. coincidiendo con Webel, (1978), en cuanto a los datos de sincronización y con Davis y col., (1980), en que 12.5 mg. eran insuficientes para evitar la formación de quistes foliculares. Aunque Pursel y col., (1981), obtienen también buenos resultados administrando 15 mg. durante 18 días.

Redmer y Day, (1981), administrando 15 mg. de alil trenbolona, determinan que los niveles de progesterona, posteriormente a la regresión del cuerpo lúteo, permanecieron bajos (<1 ng/ml) durante el tratamiento, al igual que el estradiol plasmático (2'5 pg/ml), cuyos niveles empezaron a aumentar el día siguiente a la retirada del progestágeno, alcanzando un máximo de 13'1 pg/ml en los días 3'5 al 4°. Los niveles de LH fueron bajos (<1'5 ng/ml) durante el tratamiento, observándose un pico (4 ng/ml) el primer día del primer estro post-tratamiento. Guthrie y Bolt, (1985), obtuvieron unos patrones de secreción de gonadotropinas mantenidas por el altrenogest, similares a los habidos en la fase luteal del ciclo, una vez transcurrido el tiempo de luteolisis.

Pérez García y col., (1984), llevaron a cabo un estudio de la eficacia del alil trenbolona como sincronizador del celo, así como de la manifestación del mismo, fertilidad, prolificidad e incidencia de folículos quísticos, a los 25 días de la inseminación, administrando 20 mg/día/cerda durante 18 días consecutivos.

Los resultados obtenidos mostraron un 88% de hembras con manifestaciones de celo los días 6-9 y un 10% los días 9-14, demostrando de igual manera la eficacia del producto a través de los niveles plasmáticos de progesterona el día 18 (último de tratamiento), siendo éstos basales, lo cual confirma su eficacia para bloquear el desarrollo folicular.

Según Martinat-Botté y col., (1985), la alil trenbolona suprime la maduración folicular sin detectarse efectos sobre la vida media de los cuerpos lúteos, cuando se administra a las

dosis recomendadas de 15 ó 20 mg diarios. A dosis mas bajas, (2'5 ó 5 mg/día), no se inhibe el crecimiento folicular y la incidencia de quistes foliculares, 10 días después del tratamiento, es mas elevada. Estos autores obtuvieron un 94% de cerdas en estro, entre los 4-8 días después del tratamiento, administrando 15-20 mg/día/cerda durante 18 días consecutivos en 1223 animales multíparos.

Otro método para regular el ciclo estral, es inducir cuerpos lúteos accesorios dejándolos entonces regresar normalmente. La inyección de PMSG seguida de HCG induce la ovulación en cualquier momento del ciclo, apareciendo el celo 18-24 días después de la inyección de HCG, (Neill y Day, 1964, Day y col., 1965; Caldwell y col., 1969). Sin embargo, no es un método de sincronización muy preciso por la variabilidad en la vida media del cuerpo lúteo.

Para acortar la vida media del cuerpo lúteo se han utilizado las prostaglandinas, pero en la cerda no son luteolíticas hasta el día 11 ó 12 del ciclo, lo cual no es práctico como método de rutina en una explotación, (Diehl y Day, 1974; Hallford y col., 1975; Guthrie y Polge, 1976; Guthrie, 1979).

#### **2.4.2 Inducción folicular y superovulación**

Para inducir el desarrollo folicular u ovulación, se han utilizado preparaciones gonadotrópicas de la pituitaria, PMSG, HCG y hormonas liberadoras hipotalámicas (GnRH) o combinaciones de estas.

En un estado normal, la media de ovocitos aumenta de 8-10 en el primer celo tras la pubertad, hasta 12 a 14 en el tercer celo, teniendo de 15 a 20 ovulaciones cuando son adultas, (Dziuk, 1973), lo que coincide con Wrathall, (1980), el cual indica que sobre todo influyen la raza, edad, número de partos, nutrición y otros factores, pudiéndose aumentar este número por medio de la superovulación.

En 1935, Casida indujo la ovulación en cerdas prepúberes con múltiples inyecciones de PMSG, siendo confirmado posteriormente por Du Mesnil du Buisson, (1954), Dziuk y Gelbach, (1966) y Baker y Coggins, (1968).

El momento de la ovulación puede ser controlado de una forma precisa por la inyección de HCG (Dziuk y Baker, 1962; Dziuk y col., 1964; Hunter, 1964), o de GnRH (Baker y col., 1973; Webel y Rippel, 1975; Guthrie, 1977; Guthrie y col., 1978; Archibong y col., 1987), 48 - 96 horas después de la PMSG. Según Hunter, (1966), la ovulación en las cerdas, después de la administración de HCG en el proestro, sucede en un periodo predecible de 40 a 42 horas. El proceso propio de la ovulación sería aproximadamente de una hora más corto que en cerdas sin tratar.

También se ha utilizado la combinación de PMSG/HCG en una sola inyección para obtener la sincronización del estro y ovulación en cerdas prepúberes (Schilling y Cerne, 1972; Guthrie, 1977), siendo diferentes los resultados obtenidos en cuanto a la tasa de gestación de las cerdas.

Como hemos indicado anteriormente, el momento de la ovulación puede controlarse por medio de 500 UI de HCG. De esta forma ovularán todos los folículos que hayan alcanzado el tamaño adecuado.

Con 1000 UI de PMSG, podemos inducir el crecimiento folicular en cualquier estado del ciclo, si bien, obtendremos mejores resultados si lo hacemos en la fase folicular, consiguiendo entonces un número de ovulaciones similar al producido normalmente por la cerda, (Polge y col., 1968; Webel y col., 1970; y Pope y col., 1972).

Utilizando 400 UI PMSG:200 UI HCG, combinadas en una sola inyección, se provoca la superovulación aumentándose significativamente el nº de cuerpos lúteos, frente a los obtenidos con 1000 UI de PMSG, como demostró Guthrie, (1977), coincidiendo con Baker y Rajamahendran, (1973).

Varios autores han encontrado un aumento de la tasa de ovulación normal, aumentando la dosis de PMSG. Así con 1200 UI previo al primer estro post-destete, Longenecker y Day, (1968), lograron entre 12 y 54 ovulaciones, (25'1 CL de media), frente a las 11 y 19 (13'1 CL de media) en las cerdas control, cifra similar a la obtenida por Hunter, (1964) y Day y col., (1967), con 1200 UI ó 1250 UI de PMSG, durante la fase folicular. Sin embargo Curnock y col., (1976) inyectando 1200 UI de PMSG el día del destete, obtuvo de 15-21 ovulaciones, sin conseguir un aumento significativo sobre una cerda madura normal.

Christenson y Teague, (1975), en cerdas tratadas con 1000 UI de PMSG el día siguiente al destete (3 semanas de

lactación), 500 UI de HCG 72 horas después de la PMSG e inseminadas 24 horas después de la HCG, tienen una tasa de ovulación mayor que las cerdas control y un aumento del número de embriones a los 30 días de gestación, coincidiendo con Longenecker y Day, (1968) y Christenson y col., (1973).

Hunter, (1964,1966), observó un mayor incremento en la media de ovulaciones cuando el nivel de PMSG se aumentaba de 1250 a 1500 UI. Esto fue confirmado posteriormente por Day y Longenecker, (1968), consiguiendo 23'4 CL, Christenson y col., (1970) con 28'3 CL y Pope y col., (1972) con 27'9 CL.

La capacidad de la PMSG para estimular el crecimiento folicular y de la HCG para controlar el momento de la ovulación, puede ser utilizado para permitir la inseminación en un momento determinado. Esta combinación se ha administrado siguiendo la supresión del ciclo estral con progestágenos. La secuencia de progestágeno + PMSG + HCG, es efectiva para controlar el momento de la ovulación y permitir una sola inseminación o para inducir la superovulación, (Dziuk y Baker, 1962; Dziuk y Polge, 1965), sin embargo, el tamaño de la camada al parto no ha sido aumentada, siendo solo significativo en cerdas con una media inferior, (Schilling y Cerne, 1972).

Christenson y col., (1973), administró PMSG y HCG a continuación del metaliburo para obtener superovulación en conjunción con el preciso control del momento de ovulación. La administración de PMSG influye sobre el momento del principio del estro después del progestágeno, siendo de un día menos en las cerdas que recibieron 1500 UI de PMSG que en los controles, y obteniendo un incremento en la media de embriones normales



presentes a los 25 días de gestación, coincidiendo con Day y Longenecker, (1968), Longenecker y Day, (1968) y Pope y col., (1968).

De igual manera, Webel, (1978) administró alil trenbolona durante 18 días, seguido a las 24 h. de 1000 UI de PMSG y 112 h. después de ésta, 750 UI de HCG ó 50µg de GnRH, siendo los animales inseminados 30 h más tarde. En este estudio, no fueron controlados el número de cuerpos lúteos, sino el porcentaje de concepción y tamaño de la camada, sin encontrar diferencias en estos dos parámetros, señalando que incluso podría ser eliminada la administración de PMSG e inyectar solamente una hormona inductora de la ovulación para permitir fijar el momento de la inseminación posterior a la supresión del ciclo estral.

Martin Rillo y col., (1989), realizaron la sincronización y superovulación de cerdas cíclicas de raza Duroc. Se administraron 20 mg. de alil trenbolona durante 16 días, inyectando 1200 UI de PMSG a las 24h. de la última administración del progestágeno, seguido 72 h. más tarde de la administración de 500 UI. de HCG. El 87'5% de las cerdas respondieron al tratamiento superovulatorio.

Todos estos resultados nos indican la compatibilidad de los progestágenos con los tratamientos inductores de la ovulación, pudiendo realizar ésta, en un lote de cerdas con el celo previamente sincronizado, bien para superovular ó como tratamiento de anoestro.

**MATERIAL  
Y  
METODOS**

### **3. MATERIAL Y METODOS**

#### **3.1 Centro de trabajo**

Las extracciones de sangre para la determinación de la pubertad, se han realizado en el Centro del Dehesón del encinar en Oropesa, (Toledo).

El resto del trabajo se ha realizado en el Departamento de Producción Animal (Area de Reproducción) del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria de Madrid.

#### **3.2 Animales**

Hemos trabajado con un total de 40 cerdas, siendo 20 híbridas Jiaxing black x Ibérico (JX x IB) y 20 de raza Ibérica (IB) de la estirpe Torbiscal.

Las cerdas híbridas se obtuvieron por medio de inseminación artificial de cerdas Ibéricas con semen de Jiaxing black, traído directamente del I.N.R.A. (Station Domaine Lemagneraux)

Igualmente para la detección de celo dispusimos de:

- 2 verracos híbridos Jiaxing x Ibérico
- 1 verraco de raza Ibérica
- 1 verraco de raza Duroc

Para la determinación de la aparición de pubertad, se utilizaron 10 hembras híbridas Jiaxing x Ibérico, cuya edad era de dos meses al comienzo del experimento y 10 cerdas de raza

Ibérica con tres meses de edad, estando en perfectas condiciones higiénico sanitarias.

Para realizar el estudio de los niveles plasmáticos de progesterona, estradiol-17 $\beta$ , hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) durante el ciclo estral, se utilizaron 10 cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica y 10 cerdas de raza Ibérica. También se utilizaron para determinar la duración del ciclo estral y del periodo de celo. Todas ellas habían tenido un parto y tenían aproximadamente un año de edad, encontrándose igualmente en perfectas condiciones higiénico sanitarias.

### **3.3 Identificación animal**

Se ha utilizado el sistema de crotales de plástico numerados fijados a la oreja del animal.

### **3.4 Material para sincronización de celos**

Se utilizó Altrenogest (17 $\alpha$ -allyl-estradien-4-9-11, 17 $\beta$ -ol-3-one), un esteroide sintético con actividad progestagénica.

### **3.5 Material para canulación de la vena yugular interna**

- Tranquilizante: Azaperona
- Anestésico: Metomidato
- Vaporizador de gas halotano
- Cánula de Tygón de 1'016 mm.  $\phi$  interno y 1'778 mm. de  $\phi$  externo

- Cánula de silicona de 1'58 mm.  $\phi$  interno y 3'175 mm. de  $\phi$  externo
- Trocar con 2 mm. de diámetro interno y 5 cm. de longitud
- Aguja Deschamp
- Suero fisiológico clorurado simple
- Heparina
- Oxitetraciclina
- Material quirúrgico

### 3.5.1 Preparación

A. Las cánulas de Tygón, se preparan en longitudes de 90 cm. haciendo una señal rotulada a 10 cm. de uno de los extremos que será el que introduzcamos en la vena.

B. De la cánula de silicona, se preparan 4 piezas de 1 cm. de longitud, por cada cánula de Tygón.

C. Aguja hipodérmicas de 0'9 mm. de diámetro, se cortan dejándolas romas con 1 cm. de longitud, para introducirlas por uno de los extremos de la cánula, al cual deben ajustar perfectamente.

D. Al suero fisiológico clorurado simple, se le añaden 20 U.I. de heparina por mililitro.

E. Todo el material quirúrgico, incluidas las cánulas, es esterilizado por medio de autoclave.

### **3.6 Material utilizado en la toma de muestras de sangre**

- Jeringas estériles de 10 ml.
- Trócar de 5 cm. de longitud
- Suero clorurado simple con 20 U/ml. de heparina
- Tubos de cristal de 15 ml. de volumen con heparina

### **3.7 Material utilizado en el radioinmunoanálisis**

#### **3.7.1 Hormonas Esteroides**

##### **3.7.1.1 Material de laboratorio**

- A. Baño María con soporte para evaporación de múltiples tubos por medio de aire
- B. Agitador de múltiples tubos
- C. Centrífuga refrigerada
- D. Contador de radiación  $\beta$  en líquido de centelleo.
- E. Tubos de cristal 12 x 75 mm.
- F. Tubos de cristal 13 x 100 mm.
- G. Viales de líquido de centelleo de 20 ml.
- H. Dispensador Eppendorf
- I. Pipetas automáticas
- J. Jeringa dosificadora

##### **3.7.1.2 Tampones y soluciones: Preparación**

- A. Tampón fosfato salino 0'01 M con 0'1% de gelatina (PBSG).  
pH 7'2  
- 9 g ClNa

- 1 g gelatina
- 100 mg Thimerosal
- 14 ml  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  0'2M (Pm 137'99)
- 36 ml  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0'2M (Pm 141'96)
- Llevar hasta 1000 ml con agua destilada
- Agitar a temperatura moderada, hasta que la sal y la gelatina se disuelvan

#### B. Solución Carbón-Dextrano

- 1% Carbón
- 0'1% Dextrano Pm 70000 diluido en PBSG

### 3.7.1.3 Reactivos

A. Progesterona (4-pregnona-3,20-diona) cristalina

B. Estradiol-17 $\beta$  (Estradiol-17 $\beta$ ;1,3,5[10]-Estratriona-3,17 $\beta$ -diol;3-17 $\beta$ -dihidroxi-1,3,5[10]-estratriona) cristalina

C. Progesterona (1,2,6,7- $^3\text{H}$ )  
actividad específica: 91 Ci/mmol  
concentración radiactiva:  
comercialización: 250 $\mu\text{Ci}$  en 250  $\mu\text{l}$

D. Estradiol (2,4,6,7,16,17- $^3\text{H}$ )  
actividad específica: 150 Ci/mmol  
concentración radiactiva: 1,0 mCi/ml  
comercialización: 250 $\mu\text{Ci}$  en 250 $\mu\text{l}$

E.\*Anticuerpo antiprogestero-11-BSA liofilizado (Colorado St. University).

F.\*Anticuerpo antiestradiol-17B (DJB-926).

G. Eter de petróleo

H. Etilo Acetato

I. Liquido de centelleo

J. Etanol puro

### **3.7.2 Hormonas proteicas**

#### **3.7.2.1 Material de laboratorio**

A. Resina de cambio de anión

B. Columna de Sephadex G-25

C. Centrífuga refrigerada

D. Contador de radiación gamma

E. Microcentrífuga

F. Balanza de precisión

G. Agitador magnético

H. Campana extractora

I. Mandil de plomo

J. Tubos de cristal 12 x 75 mm

K. Filtros con membrana en ésteres de celulosa de 0,22 $\mu$ m  
y 0,45 $\mu$ m

L. Viales de cristal de 1 ml para iodinación

M. Jeringas de plástico de 1 y 3 ml

\*Estos reactivos han sido proporcionados por el USDA Animal Hormone Program a través del Dr. D.J.Bolt, del Laboratorio de Reproducción de Beltsville, Maryland, USA.



**3.7.2.2 Tampones y soluciones: Preparación****A.  $\text{PO}_4\text{HNa}_2$  (Pm 142) 0'5M**

- 70'98 g  $\text{PO}_4\text{HNa}_2$
- 900 ml agua destilada
- Disolver con calor y llevar hasta 1000 ml con agua destilada
- Filtrar con 0'45  $\mu\text{m}$
- Almacenar a 4°C

**B.  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$  (Pm 138) 0'5M**

- 34'5 g  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$
- 400 ml agua destilada
- Disolver y llevar hasta 500 ml con agua destilada
- Filtrar con 0'45  $\mu\text{m}$
- Almacenar a 4°C

**C. Fosfato sódico 0'5M pH 7'4**

- 86 ml  $\text{PO}_4\text{HNa}_2$  0'5M
- 14 ml  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$  0'5M
- Hacer alicuotas en viales de plástico de 20 ml
- Almacenar a -20°C

**D. Tampón fosfato salino (PBS) pH 7'4**

- 34'8 g ClNa
- 208'75 ml  $\text{PO}_4\text{HNa}_2$  0'5M
- 34'375ml  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$  0'5M

- 1 g Thimerosal
- 0'05 g Rojo Fenol
- Llevar hasta 5 litros con agua destilada

**E. Tampón fosfato con 1% BSA (PBS-1% BSA)**

- 10 g Fracción V BSA (Albúmina sérica bovina)
- 1000 ml PBS
- Disolver lentamente con calor
- Almacenar a 4°C

**F. EDTA - PBS 0'05M pH 7'5**

- 18'61 g (EDTA)
- 1000 ml PBS
- Disolver con calor
- pH a 7'5 con NaOH 10N
- Almacenar a 4°C

**G. Polietilen Glicol al 6% - PBS (6% PEG-PBS)**

- 60 g PEG
- 1000 ml PBS
- Almacenar a 4°C

**3.7.2.3 Reactivos**

**A. Suero Normal de Conejo (SNC) 1:300**

- 1ml SNC 1:1
- 299 ml EDTA - PBS 0'05M
- Almacenar a 4°C

**B. Suero de Morueco Anti-Gammaglobulinas de Conejo (SMAC)-  
PBS**

También llamado Anti - rabbit Gamma globulin (ARGG)

Lo utilizamos como 2º anticuerpo en el RIA

2º Ac. identificado como 6x1 diluido 1:16

- 42 ml 6x1:1
- 630 ml PBS
- Almacenar a 4°C

**C. SMAC / 6%PEG-PBS (Proporción 2/5)**

Se utiliza para precipitar el 1º anticuerpo

- 200 ml 6x1:16
- 500 ml 6% PEG-PBS
- Almacenar a 4°C
- Usar 0'7 ml por tubo de análisis

**D. Iodo<sup>125</sup> (I<sup>125</sup>); pH 7-11**

actividad específica: 15 mCi I<sup>125</sup>/µg Iodo

concentración radiactiva: 99mCi I<sup>125</sup>/ml

**E.\*LH porcina USDA-pLH-I-1; para iodinación**

**F.\*LH porcina USDA-pLH-B-1; para curva estándar**

**G.\*FSH porcina USDA-pFSH-I-1; para iodinación**

**H.\*FSH porcina USDA-pFSH-ppl; para curva estándar**

**I.\*Anticuerpo específico anti-LH-porcina USDA-306-684p**

**J.\*Anticuerpo específico anti-subunidad B de FSH porcina  
USDA-398-04p**

\*Estos reactivos han sido proporcionados por el USDA Animal Hormone Program a través del Dr. D.J.Bolt, del Laboratorio de Reproducción de Beltsville, Maryland, USA.

- K. Iodogén (1,3,4,6-Tetracloro-3 $\alpha$ -6 $\alpha$  difenilglicoluril)
- L. Cloroformo
- M. Metabisulfito sódico
- N. Ioduro potásico
- O. Acido Tricloroacético

#### 3.7.2.4 Reactivos para radioiodinación: Preparación

##### A. Iodogén: [40 $\mu\text{g/ml}$ ]

- Pesar una pequeña cantidad en mg de Iodogén
- Disolver en cloroformo para hacer [40  $\mu\text{g/ml}$ ] como stock
- Almacenar en la oscuridad (bolsa negra) a 4°C

##### B. stop A: Metabisulfito sódico [25 $\mu\text{g/ml}$ ] en $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$ 0'25M

- Diluir  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$  0'5M con igual volumen de agua destilada para obtener  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$  0'25M
- Pesar metabisulfito sódico y disolverlo en  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$  0'25M para obtener [25  $\mu\text{g/ml}$ ] de stock
- Almacenar a -20°C

##### C. stop B: Ioduro potásico [1 mg/ml] en $\text{PO}_4\text{HNa}_2$ 0'5M

- Pesar Ioduro potásico y disolverlo en  $\text{PO}_4\text{HNa}_2$  0'5M para hacer [1 mg/ml] de stock
- Almacenar a -20°C

**D. Acido Tricloroacético al 12% (TCA)**

- 12 g TCA (almacenado en el congelador)
- 100 ml de agua destilada
- Almacenar a 4°C

**3.7.2.5 Material para radioiodinación: Preparación****A. Viales para la iodinación**

- Viales de cristal de 1 ml con tapón sellado de teflón.

- Estos viales previamente a ser utilizados, son hervidos en una solución al 2% de ácido clorhídrico (CLH) (usar un baño de agua bajo la campana extractora; colocar el CLH al 2% y los viales en un vaso de precipitados grande y este en el baño de agua hirviendo), durante 30 minutos. Aclarar bien con agua destilada, usando pipetas Pasteur. Secar en estufa y almacenar en botes de cristal tapados. Estos viales se utilizarán para almacenar hormonas y para las iodinaciones.

**B. Columna de cambio de ión**

- Utilizar 1 columna por hormona iodinada; preparándola el día de la iodinación
- Aclarar una jeringa de 2'5 ml con agua destilada
- Colocar una pequeña cantidad de lana de vidrio en el fondo de la jeringa
- Añadir aproximadamente hasta la marca de 2 ml de resina

- Colocar una aguja 0'9 x 3'0 mm.
- Colocar la columna sobre los tubos 12x75 mm y equilibrar con:

1 ml Fosfato sódico 0'5M, Ph 7'4

3 ml Fosfato sódico 0'05M

3 ml de PBS-1%BSA

3 ml Fosfato sódico 0'05M

### C. Jeringas

- 1 Jeringa de plástico de 3 ml, aclarada con agua destilada
- 2 Jeringas de plástico de 1 ml aclaradas con agua destilada
- Colocar agujas de 0'9 x 3'0 mm.

### D. Columna de Sephadex G-25

Equilibrar una columna por hormona iodinada con PBS-1%BSA. Estas son reusables. Marcar con el nombre de la hormona y almacenar detrás del plomo, bajo la campana extractora.

### 3.8 Técnica para la regulación hormonal del ciclo

Para facilitar la toma de muestras de sangre, se sincronizó el celo de los animales por medio de altrenogest (17 $\alpha$ -allyl-estratien-4-9-11, 17 $\beta$ -ol-3-one), un esteroide sintético con actividad progestágena. El tratamiento consistió en 20 mg/cerda/día por vía oral a través del pienso, durante 18 días consecutivos, sin tener en cuenta el momento del ciclo en que

se encontraba cada cerda. La presentación gelatinosa del producto facilita su ingestión, administrándose de forma individual a primera hora de la mañana, con una pequeña porción de pienso, dándoles el resto de la ración una vez habían ingerido el producto.

### **3.9 Técnica de canulación de la vena yugular interna**

Para realizar la toma de muestras de sangre de forma repetida, procedemos a la canulación de la vena yugular interna.

*Tranquilización:* Azaperona. Dosis: 0'25 - 0'5 ml/10 kg de peso vivo. Intramuscular.

*Anestesia:* Metomidato. Dosis: 0'5 - 2 ml/10 kg de peso vivo. Intravenoso. Utilizamos la vena auricular externa. Este anestésico lo inyectamos cuando el animal se encuentra bajo los efectos del tranquilizante (aproximadamente 15 - 20 minutos después de la primera inyección). Una vez anestesiado, lo colocamos en decúbito supino y conectamos el gas halotano vaporizado, como mantenimiento a lo largo de la operación.

*Intervención:* Comenzamos desinfectando el campo operatorio comprendido desde las arcadas mandibulares hasta la mitad del esternón. Abordamos quirúrgicamente haciendo una incisión de unos 5 cm de longitud, en un punto medio de la gotera de la yugular. En un primer plano nos encontramos el músculo cutáneo y posteriormente con una incisión roma, llegamos hasta los músculos esterno-cefálico y esterno-hioideo entre los cuales en un plano inferior esta situada la vena yugular interna.

Escogemos esta vena en lugar de la externa, situada en el lateral exterior del músculo esterno-cefálico, por tener una mayor facilidad de poder fijar la cánula entre los dos músculos anteriormente citados.

Una vez disecada la vena de su capa adventicia a lo largo de unos 3 -4 cm, la elevamos con ayuda de dos agujas Deschamp, cortando de esta forma el flujo sanguíneo. A continuación, separamos la pared superior de la vena con ayuda de una pinza de mano de punta fina, realizando una venoclísis por medio de un trócar de 2 mm de diámetro interno, a través del cual introducimos la cánula de Tygón hasta la señal de los 10 cm y comprobamos por medio de una jeringa unida al extremo libre de la cánula, el paso de sangre, dejándola posteriormente repleta de suero fisiológico heparinizado.

A continuación, colocamos dos trozos de la cánula de silicona de 1 cm cada uno de ellos, a lo largo de la de Tygón, situándolos a unos 3 y 6 cm aproximadamente del punto de entrada a la vena. Esto nos servirá para deslizar una sutura de seda entre ambas cánulas y dejarla fija al músculo, evitando su exteriorización de la vena yugular.

Una vez hecho esto, el extremo contrario se pasa al exterior a unos 3 cm del borde apical de la herida a través del trócar, fijándola a la piel con ayuda de otros dos trozos de la cánula de silicona y sutura de seda.



### **3.10 Planificación de la toma de muestras de sangre**

#### **3.10.1 Pubertad**

Para determinar la edad de aparición de la pubertad, se procedió a la determinación de los niveles plasmáticos de progesterona, realizando una toma de sangre (10 ml) semanalmente, desde los 92 a 108 días de edad en las cerdas ibéricas, y los 64 a 67 días de edad en las cerdas híbridas, hasta que se observó la subida de los niveles plasmáticos de progesterona por medio de radioinmunoanálisis.

Las muestras de sangre fueron extraídas con ayuda de una jeringa de 10 ml y un trócar de 5 cm de longitud del ángulo interno del ojo, introduciendo el trócar entre el globo ocular y la glándula lagrimal. Las muestras de sangre se depositaron en tubos heparinizados para su posterior centrifugación a 800 x g durante 15 minutos y el plasma obtenido se congeló a -20°C hasta su análisis.

Al mismo tiempo, se expusieron las hembras todos los días ante verracos para su detección de celo.

#### **3.10.2 Ciclo estral**

Para poder realizar la toma de muestras de sangre de una forma repetida y continua, se procedió a colocar una cánula en la vena yugular interna, por vía quirúrgica. Esta operación se realizó en el día 14 del ciclo estral.

El día 17 del ciclo, tres días antes del predecible primer día de celo (segundo ciclo desde la finalización del tratamiento de sincronización), se realizaron tomas de sangre cada dos horas, hasta tres días después del mismo, continuando con dos tomas de sangre/día/animal, el resto del ciclo. El día 17 del tercer ciclo post-tratamiento, (siendo el día 0 el primer día de celo, es decir, primer día en que demuestran la reacción de inmovilidad frente al verraco) se procedió a tomar muestras, de nuevo cada dos horas, hasta tres días después del primer día de celo.

Para determinar los niveles de las hormonas esteroides, progesterona y estradiol-17 $\beta$ , se analizaron dos muestras diarias (10:00 y 20:00h) desde el día -3 del primer celo, hasta el día 3 posterior al segundo celo.

Para determinar los niveles plasmáticos de las hormonas proteicas, LH y FSH, se utilizaron todas las muestras tomadas cada dos horas, comprendidas entre los días -3 y +3 (12 muestras diarias) de los dos celos consecutivos, realizando los análisis de las 2 tomas diarias, el resto del ciclo estral.

Todas las tomas de sangre fueron de 10 ml en tubos heparinizados, centrifugándose a continuación a 800 x g durante 15 minutos y el plasma obtenido, se congeló a -20°C hasta su análisis.

### **3.11 Radioinmunoanálisis**

#### **3.11.1 Hormonas esteroides**

##### **3.11.1.1 Radioinmunoanálisis de progesterona**

La progesterona plasmática ha sido cuantificada por medio de radioinmunoanálisis (RIA), descrito por Guthrie, (1977).

##### *Extracción con solvente*

La extracción la realizamos en tubos de cristal estériles de 13x100 mm de tamaño, donde pipeteamos 200  $\mu$ l de cada muestra de plasma problema y cada punto de la curva estándar (0'25 - 32 ng/ml). Junto a estos, colocamos también unos tubos con 200  $\mu$ l de tampón PBSG y otros con 200  $\mu$ l de plasma control con una cantidad alta y baja de progesterona.

A cada tubo añadimos 2 ml de éter de petróleo y agitamos con una vibración fuerte durante 2 minutos. A continuación congelamos la fase acuosa de los tubos, decantando la fase orgánica de cada tubo en otros de tamaño 12x75 mm. A la fase acuosa restante, una vez descongelada, volvemos a añadir 2 ml de éter de petróleo, repitiendo el proceso de congelación y mezclando la segunda fase orgánica obtenida a los tubos 12x75 mm. Estos tubos los colocaremos en un baño María a 37 - 40°C y los evaporaremos con ayuda de un flujo de aire. El extracto seco del fondo de los tubos, lo recuperamos con 100  $\mu$ l de tampón PBSG.

El resto de tubos que nos van a servir como control del análisis, son: Totales, Cero y Blanco ( $B_0$ , sin hormona), en los cuales no hacemos el proceso de extracción y evaporación y hemos pipeteado 100  $\mu$ l de PBSG.

*Incubación con hormona marcada y anticuerpo*

A continuación añadimos progesterona (1,2,6,7 -  $^3H$ , anticuerpo antiprogesterona - 11 - BSA y tampón PBSG de la forma siguiente:

| Identificación<br>de los tubos   | $\mu$ l de cada componente |            |      |
|----------------------------------|----------------------------|------------|------|
|                                  | Hormona<br>radioactiva     | Anticuerpo | PBSG |
| a) TOTALES (T)                   | 100                        | -          | 700  |
| b) BLANCO                        | 100                        | -          | 200  |
| c) CERO ( $B_0$ )                | 100                        | 100        | 100  |
| d) Tampón ( $B_1$ )              | 100                        | 100        | 100  |
| e) Estándares<br>(0'25-32 ng/ml) | 100                        | 100        | 100  |
| f) Plasma control                | 100                        | 100        | 100  |
| g) Plasma problema               | 100                        | 100        | 100  |

Los 100  $\mu$ l de progesterona tritiada corresponden a 6000 cpm (0'01  $\mu$ Ci). El anticuerpo es utilizado a una dilución de 1:1800, ligando alrededor del 40% de 0'01  $\mu$ Ci de progesterona tritiada en un volumen de incubación de 300  $\mu$ l por tubo de análisis. Todos los tubos se dejan en incubación a 4°C durante 24 horas.

### *Separación de las fracciones libre y ligada*

Manteniendo los tubos en frío, ponemos 800  $\mu$ l de tampón a los Totales y 800  $\mu$ l de carbón - dextrano al resto de tubos. Realizamos una agitación fuerte durante 2 segundos para homogeneizar la mezcla y pasados 10 minutos desde la agitación del último tubo, centrifugamos a 4°C, 800 x g, durante 15 minutos.

A continuación recogemos el sobrenadante de cada tubo, en viales de centelleo, añadiendo 10 ml de líquido de centelleo a cada uno y cuantificamos la radiación en el contador  $\beta$ .

El propósito de los tubos control es el siguiente:

a) Tubos TOTALES (T): Estima la cantidad de hormona marcada añadida a todos los tubos del análisis. Se decantan directamente en los viales de centelleo sin exponerlos a la adsorción del carbón-dextrano.

b) Tubos BLANCO: Estiman la porción de hormona marcada que se queda en solución en ausencia de anticuerpo después de la adsorción del carbón-dextrano.

c) Tubos CERO ( $B_0$ ): Estiman la porción de hormona marcada que se queda en solución en presencia de anticuerpo después de la adsorción del carbón-dextrano.

d) Tampón ( $B_1$ ): Igual que  $B_0$  excepto que todos estos tubos son extraídos con solvente junto con los tubos estándar y los de plasma. Estos tubos sirven, como el punto de

hormona cero en el análisis, para corregir algún factor que cause una inhibición no específica de la hormona marcada y la unión del anticuerpo, adquiridos durante el pipeteo o el proceso de extracción.

d) Progesterona estándar (0,25-32ng/ml):

Utilizados para calcular los parámetros de la ecuación de regresión.

e) Controles: Utilizados en todos los análisis nos permiten estimar la variabilidad intra- e interanálisis.

f) Plasma: Estima los niveles circulantes de hormona.

Los coeficientes de variación intra- e interanálisis, fueron de 7'5 y 17'1%, respectivamente.

### 3.11.1.2 Radioinmunoanálisis de Estradiol-17 $\beta$

El estradiol-17 $\beta$  fue cuantificado por radioinmunoanálisis, descrito por Guthrie y Bolt (1983), con anticuerpo (DJB-926) desarrollado por inmunización de morueco con estradiol-17-hemisuccinato-BSA y utilizado a una dilución final de 1:200.000 (300  $\mu$ l de volumen de incubación), ligó aproximadamente el 43% de 0'01  $\mu$ Ci de estradiol-17 $\beta$ -[2,4,6,7,16,17- $^3$ H].

De la curva estándar (7'8 - 125 pg/ml) de estradiol-17 $\beta$  disuelta en etanol, se toman 200  $\mu$ l de cada punto, en tubos de cristal estériles 13x100 mm. El etanol es evaporado a 40°C y el estradiol-17 $\beta$  se redisuelve en 500  $\mu$ l de tampón PBSG. Estos

tubos, junto con tubos control sin hormona y tubos con 500  $\mu$ l de plasma problema, se extraen dos veces con 2 ml de acetato de etilo. La fase de acetato de etilo en cada tubo de 13x100 mm, se pipetea en tubos de 12x75 mm evaporándose con un flujo de aire o nitrógeno, para añadir posteriormente 100  $\mu$ l de estradiol-[ $^3$ H] (8000 cpm correspondientes a 0'01  $\mu$ Ci), 100  $\mu$ l de anticuerpo (dilución 1:200.000) y 100  $\mu$ l de PBSG.

La incubación y posterior denudación con carbón - dextrano, se realiza de igual manera que con la progesterona, determinando la radiactividad de la fracción ligada al anticuerpo a través del líquido de centelleo.

El coeficiente de variación intranálisis fue de 5'6%, mientras que el interanálisis fue de 10'3%.

### **3.11.2 Hormonas proteicas**

#### **3.11.2.1 Radioiodinación**

La técnica empleada para el marcaje de las hormonas proteicas LH y FSH con  $I^{125}$ , ha sido la misma para ambas, utilizando iodogén (1,3,4,6 - tetracloro - 3 $\alpha$ , 6 $\alpha$  - difenil - glicoluril), descrito por Fraker y Speck (1978). Las hormonas altamente purificadas que se utilizaron fueron USDA-pLH-I-1 y USDA-pFSH-I-1.

##### **3.11.2.1.1 Preparación**

A. Viales de Fosfato sódico 0'5M; stop A (Metabisulfito sódico) y stop B (Ioduro potásico)

B. Preparar la columna de cambio de ión; colocarla bajo la campana extractora

C. Pesar la hormona que vayamos a iodinar por medio de una balanza de precisión y añadir fosfato sódico 0'5M a una concentración de 10µg proteína/35µl de tampón, agitándolo para disolver.

D. Preparar separadamente con 2 jeringas de 1ml, preaclaraadas con agua destilada: 0'2 ml del stop A para la iodinación y 0'2 ml del stop B para la iodinación. Marcar las jeringas.

E. Preparar un vaso de precipitados con PBS-1%BSA y llenar una jeringa de 3ml preaclaraada con agua destilada, del mismo tampón.

F. En el vial marcado para la iodinación; añadir 25 µl (1000 ng) del stock de Iodogén (40µg/ml) en el fondo del vial. Evaporarlo con un fluido lento de gas nitrógeno mientras se rota el vial.

G. Colocar bajo la campana extractora los tubos 12x75mm rotulados con iodinación (ID)

### **3.11.2.1.2 Procedimiento**

#### **Columna de resina**

A. Añadir 35 µl (10 µg) de hormona en el vial con el Iodogén evaporado y tapar



B. Bajo la campana extractora y con el mandil de plomo añadir 400 $\mu$ Ci de I<sup>125</sup>

C. Poner el vial sobre el agitador a velocidad lenta, manteniéndolo durante 3 minutos

D. Pasado este tiempo, añadir 0'2 ml del stop A y 0'2 ml del stopB

E. Transferir la hormona a la columna de cambio de ión volcando.

F. Colocar la columna sobre los tubos 12x75 mm. Añadir 2'5 ml de PBS-1%BSA. Recoger. Esto deposita en el fondo la hormona radioiodinada.

#### **Columna de Sephadex G-25**

A. Poner 2'5 ml de hormona radioiodinada a la columna de Sephadex G-25 (pre-equilibrada con PBS-1%BSA), volcando

B. Poner hasta 10ml de PBS-1%BSA, recogiénolo en un vial de cristal de 20ml.

C. Filtrar la hormona radioiodinada (10ml) a través de filtros Sterivex-GS de 0'22  $\mu$ m en un vial de cristal de 20 ml rotulado con la hormona iodinada y la fecha. Lavar la columna G-25 con el tampón para almacenar.

### 3.11.2.1.3 Test del ácido tricloroacético

A. Añadir 25  $\mu$ l de hormona iodada a 4 tubos de microfuga, tapando dos de ellos, como cuentas totales

B. A los otros dos tubos, añadir 0'1ml de PBS-1%BSA y 0'2ml de ácido tricloroacético al 12%; agitar, centrifugar durante 30 segundos. Aspirar el sobrenadante y contar el precipitado.

C. Calcular el % de cpm precipitables (cpm ppt/cpm Tt); debería de ser > 90%. En nuestro trabajo, obtuvimos el 95 y 97% en las dos radioiodinaciones que realizamos.

### 3.11.2.2 Radioinmunoanálisis de hormona luteinizante

Las concentraciones de LH fueron cuantificadas por medio de radioinmunoanálisis (RIA) homólogo de doble anticuerpo (Guthrie y Bolt, 1983). El anticuerpo (USDA 306-684p) liofilizado, lo diluimos hasta 1:300 con EDTA-PBS 0'05M y en suero normal de conejo (SNC) diluido a 1:300 (SNC:300) con EDTA-PBS, hasta la dilución de trabajo, siendo esta de 1:4000, donde obtuvimos un binding del 30%.

El segundo anticuerpo (suero de morueco anti-gammaglobulinas de conejo -SMAC-), diluido en PBS, se prepara en una proporción 2:5 con polietilenglicol (PEG) diluido al 6% en PBS.

La hormona marcada se diluye en el tampón utilizado para el análisis, PBS-1% BSA, hasta obtener 30000 cpm en 100  $\mu$ l.

La curva estándar utilizada fue de 0'125 - 16 ng/ml con la hormona USDA-PLH-B-1 diluida en PBS-1% BSA.

Para realizar el análisis, pipeteamos 200  $\mu$ l de cada muestra de plasma problema en tubos de 12x75 mm, junto con 200  $\mu$ l de anticuerpo, 300  $\mu$ l de tampón PBS-1% BSA e incubamos 48 horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo añadimos 100  $\mu$ l de LH-I<sup>125</sup> e incubamos 24 horas más. Posteriormente, añadimos 700  $\mu$ l del segundo anticuerpo, incubamos 15 minutos a 4°C y centrifugamos a 800 x g durante 30 minutos a 4°C. Decantamos el sobrenadante y contamos la radiactividad del precipitado depositado en el fondo de los tubos, en contador de radiación gamma. Los coeficientes de variación intra- e interanálisis fueron 8'4 y 13'1% respectivamente.

El protocolo es el siguiente:

| Identificación      | N° tubo  | Tampón      | Estándar    | Control     | Problema    | NRS:300     | 1 <sup>er</sup> Ac. | H-I <sup>125</sup> | 2 <sup>a</sup> Ac/PEG |
|---------------------|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------------|--------------------|-----------------------|
| TL (cpm total)      | 1-2      | 300 $\mu$ l | ---         | ---         | ---         | ---         | ---                 | 100 $\mu$ l        | ---                   |
| CERO                | 3-6      | 500 $\mu$ l | ---         | ---         | ---         | 200 $\mu$ l | ---                 | 100 $\mu$ l        | 0'7ml                 |
| B <sub>0</sub>      | 7-12     | 500 $\mu$ l | ---         | ---         | ---         | ---         | 200 $\mu$ l         | 100 $\mu$ l        | 0'7ml                 |
| Curva estándar      | 13-28    | 300 $\mu$ l | 200 $\mu$ l | ---         | ---         | ---         | 200 $\mu$ l         | 100 $\mu$ l        | 0'7ml                 |
| Controles           | 29-38    | 300 $\mu$ l | ---         | 200 $\mu$ l | ---         | ---         | 200 $\mu$ l         | 100 $\mu$ l        | 0'7ml                 |
| B <sub>0</sub>      | 39       | 500 $\mu$ l | ---         | ---         | ---         | ---         | 200 $\mu$ l         | 100 $\mu$ l        | 0'7ml                 |
| Máx. B <sub>0</sub> | 40       | 500 $\mu$ l | ---         | ---         | ---         | ---         | 200 $\mu$ l [1:300] | 100 $\mu$ l        | 0'7ml                 |
| Pl. problema        | 41-final | 300 $\mu$ l | ---         | ---         | 200 $\mu$ l | ---         | 200 $\mu$ l         | 100 $\mu$ l        | 0'7ml                 |

200  $\mu$ l curva estándar o plasma problema

300 $\mu$ l tampón PBS-1%BSA

200 $\mu$ l primer anticuerpo

Incubar 48h. a temperatura ambiente

700 $\mu$ l segundo anticuerpo/PEG

Incubar 15 minutos a 4°C

Centrifugar a 800 x g, 30 min. a 4°C

Decantar los tubos excepto TOTALES

Contar el precipitado en contador gamma

### **3.11.2.3 Radioinmunoanálisis de la hormona folículo estimulante (FSH)**

La FSH plasmática fue cuantificada por un RIA homólogo de doble anticuerpo, descrito por Bolt y col. (1981). Los distintos tampones utilizados para los diferentes reactivos, han sido los mismos que para la hormona LH.

El anticuerpo utilizado (USDA-398-04p), lo diluimos de igual forma que el de la hormona luteinizante, hasta 1:5000, con un binding del 30% aproximadamente.

La hormona radioiodinada se diluyó hasta obtener 20.000 cpm en 100  $\mu$ l. La curva estándar utilizada osciló entre 0'25 a 32 ng/ml de la hormona USDA-pFSH-pp1. El protocolo utilizado para estos análisis, fue el mismo que para la LH. Los coeficientes de variación intra- e interanálisis fueron 7 y 10% respectivamente.

### **3.12 Análisis estadístico**

Se ha comprobado que todos los datos analizados, se ajustan a una distribución normal, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, se ha realizado la comparación entre razas de todos los parámetros estudiados mediante un análisis de varianza de una vía y la comparación múltiple de medias por la prueba de Scheffé.

Para el estudio comparativo de la curva de secreción de progesterona, se han realizado las rectas de regresión correspondientes a distintos periodos de tiempo y de esta

manera definir las diferentes fases de secreción a través de los puntos de intersección.

Igualmente, en la descarga preovulatoria de LH, se ha definido el punto inicial y final por los puntos de intersección entre las rectas de regresión correspondientes a la parte ascendente y descendente del pico con las rectas de regresión correspondientes a los niveles basales anteriores y posteriores al pico.

## **RESULTADOS**

#### 4. RESULTADOS

De las 20 cerdas utilizadas para las determinaciones hormonales durante el ciclo estral, una cerda de raza Ibérica, no demostró celo en los 15 días siguientes al tratamiento con progestágeno y 2 cerdas híbridas JX x IB, perdieron la cánula de la vena yugular, en los primeros días de iniciar la toma de muestras, por lo que fueron desechadas de la experiencia.

##### 4.1 Edad a la pubertad

###### 4.1.1 Detección por verraco

El celo de las cerdas de raza Ibérica, detectado a través de la reacción de inmovilidad frente al verraco, tan solo fue demostrado por 5 de las 10 cerdas que componían el grupo experimental, durante el tiempo que duró la experiencia (hasta los nueve meses de edad), a pesar de haberse producido la ovulación, según indicaban los niveles plasmáticos de progesterona.

La edad media en la que se presentó el celo en estas 5 cerdas, fue de  $210 \pm 16'04$  días, oscilando desde los 171 a 252 días (Tabla 1).

En el grupo de las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérico, la reacción de inmovilidad frente al verraco, la presentaron las 10 cerdas de la experiencia, dentro del periodo experimental, siendo la edad media de aparición de  $133'6 \pm 10'86$  (tabla 4.1), oscilando entre 77 a 179 días y habiendo una diferencia

significativa ( $p < 0'01$ ) respecto a la edad de las cerdas Ibéricas.

TABLA 4.1. Edad al primer día de celo determinado mediante verraco

| HIBRIDAS<br>(JX x IB) | EDAD<br>(días) | IBERICAS | EDAD<br>(días) |
|-----------------------|----------------|----------|----------------|
| 29-5                  | 160            | 1-6      | 252            |
| 30-4                  | 77             | 4-7      | 210            |
| 31-4                  | 116            | 10-7     | 171            |
| 33-6                  | 176            | 17-7     | 239            |
| 33-10                 | 179            | 23-6     | 178            |
| 34-6                  | 139            |          |                |
| 38-3                  | 158            |          |                |
| 38-6                  | 119            |          |                |
| 39-5                  | 114            |          |                |
| 40-2                  | 98             |          |                |

media  $\pm$  E.S. 133'6  $\pm$  10'83

210  $\pm$  16'04

#### 4.1.2 Detección por niveles plasmáticos de progesterona

Determinando la pubertad por el momento en que los niveles plasmáticos de progesterona comienzan a aumentar, indicando la funcionalidad de los cuerpos lúteos ováricos, las cerdas Ibéricas alcanzaron la madurez sexual a una edad media de  $212 \pm 9'86$  días produciéndose esta primera elevación de los niveles, desde los 172 a los 252 días de edad (tabla 4.2).

En las cerdas híbridas Jiaying x Ibérico, comenzaron a aumentar los niveles plasmáticos de progesterona, a una edad



media de  $131'4 \pm 8'46$  días, oscilando entre los 101 y 177 días de edad, siendo significativamente mas precoces ( $p < 0'01$ ) las cerdas Jiaxing x Ibérico que las Ibéricas de raza pura, en llegar a la pubertad.

TABLA 4.2. Edad al primer día de elevación de los niveles plasmáticos de progesterona

| HIBRIDAS<br>(JX x IB) | EDAD<br>(días) | IBERICAS | EDAD<br>(días) |
|-----------------------|----------------|----------|----------------|
| 29-5                  | 136            | 1-6      | 252            |
| 30-4                  | 101            | 4-7      | 210            |
| 31-4                  | 116            | 10-7     | 172            |
| 33-6                  | 149            | 17-7     | 172            |
| 33-10                 | 177            | 19-5     | 207            |
| 34-6                  | 114            | 20-9     | 234            |
| 38-3                  | 174            | 22-6     | 247            |
| 38-6                  | 119            | 23-6     | 178            |
| 39-5                  | 114            | 24-5     | 205            |
| 40-2                  | 114            | 26-4     | 244            |

media  $\pm$  E.S.  $131'4 \pm 8'46$

$212'1 \pm 9'86$

#### 4.2 Regulación hormonal del ciclo estral

Desde que finalizó el tratamiento con progestágeno, todas las cerdas fueron receladas con los verracos, manifestando el celo con reacción de inmovilidad, 9 de las 10 cerdas Ibéricas, en un plazo medio de  $6'44 \pm 0'11$  días, siendo el tiempo tardado por las cerdas híbridas de  $7'11 \pm 0'42$  días, no habiendo diferencia significativa entre ambas razas.

La duración media de todas las cerdas, desde la finalización del tratamiento con progestágeno, hasta la reacción de inmovilización frente al verraco, fue de 6'78 días, demostrando la reacción de inmovilidad frente al verraco, el 95% de las cerdas tratadas, resultando en un buen tratamiento de sincronización para cerdas primíparas.

#### 4.3 Duración del ciclo sexual y celo

El ciclo sexual, contabilizado desde el primer día en que la cerda demuestra la reacción de inmovilización frente al verraco, hasta el mismo día del siguiente celo, tuvo una duración media de  $19'48 \pm 0'23$  días (media  $\pm$  E.S.) en las cerdas Ibéricas, mientras que en las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérico, duró  $19'77 \pm 0'42$  días, sin haber diferencias entre ambas razas.

El periodo de celo, entendiendo como tal, al periodo de tiempo en que la cerda se mantiene receptiva hacia el macho, tuvo una duración de  $2'33 \pm 0'66$  días en las cerdas Ibéricas y de  $2'63 \pm 0'58$  días en las cerdas Jiaxing x Ibérico, aunque no llega a haber diferencia significativa, sí que tiende a ser más largo en las cerdas híbridas JX x IB.

#### 4.4 Niveles hormonales

En las cuatro hormonas estudiadas, se describen los niveles plasmáticos durante el ciclo estral, situando en la primera toma del día 0, el momento en que el pico preovulatorio de LH, alcanza su máximo nivel plasmático. De esta forma, podemos observar la evolución de las distintas hormonas a partir de un

mismo hecho fisiológico y evitamos el posible error que se puede cometer al considerar el momento del inicio del celo de los animales.

#### 4.4.1 Niveles plasmáticos de progesterona

En las figuras 4.1, 4.2 y 4.3 se describen los niveles plasmáticos de progesterona individuales de las cerdas Ibéricas y en las figuras 4.4, 4.5 y 4.6 los niveles individuales de las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica.

En ambas líneas genéticas, los niveles de progesterona se encuentran a nivel basal el día 0, siendo de  $0'09 \pm 0'04$  ng/ml en las cerdas Ibéricas y de  $0'16 \pm 0'05$  ng/ml en las híbridas JX x IB (Tablas 4.4 y 4.5).

Hacia el día 2, comienzan a aumentar rápidamente, hasta el día 4 al 5 del ciclo, en que el aumento es mas lento, describiéndose incluso un ligero descenso en la curva de secreción de las cerdas híbridas JX x IB. Alrededor del día 13, alcanza un valor máximo en ambas líneas, para descender bruscamente y llegar al nivel basal en 2 a 3 días.

Por los datos obtenidos a través de las rectas de regresión y el análisis de varianza, los niveles comienzan a aumentar a las  $44'85 \pm 5'59$  vs  $62'16 \pm 9'11$  horas desde el máximo nivel del pico preovulatorio de LH con un incremento medio de  $1'634$  vs  $1'189$  ng/ml/día, en las cerdas Ibéricas e híbridas JX x IB respectivamente (Tabla 4.3).

El aumento es de forma mas lenta, a partir de las  $54'7 \pm 6'36$  horas (IB) y  $68'16 \pm 10'08$  horas (JX x IB) desde el inicio de la curva, con un incremento medio de  $0'655$  vs  $0'809$  ng/ml/día y un nivel medio de  $8'51 \pm 0'41$  vs  $9'41 \pm 0'54$  ng/ml, en cerdas Ibéricas y JX x IB respectivamente.

El máximo nivel fue de  $11'62 \pm 0'59$  frente a  $12'83 \pm 0'92$  ng/ml, alcanzándose el día  $12'57 \pm 1'95$  vs  $11'27 \pm 1'41$  días del ciclo, en Ibéricas y JX x IB respectivamente. Posteriormente, los niveles descendieron bruscamente para volver al nivel basal en  $49'52 \pm 10'73$  horas (IB) frente a  $52'48 \pm 7'65$  horas (JX x IB). La actividad del cuerpo lúteo, fue de  $14'04$  días y de  $13'74$  días en cerdas Ibéricas e híbridas JX x IB respectivamente.

No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados, aunque los niveles siempre tendieron a ser mas elevados en las cerdas híbridas JX x IB.

TABLA 4.3 Distintos parámetros en la secreción de progesterona en cerdas Ibéricas y JX x IB (media  $\pm$  E.S.)

| Tiempo (horas)<br>Niveles (ng/ml)                              | IBERICAS           | JX x IB            |
|--|--------------------|--------------------|
| Horas desde el máximo de LH al aumento inicial de progesterona | 44'85 $\pm$ 5'59   | 62'16 $\pm$ 9'11   |
| Horas en alcanzar la meseta de la curva                        | 54'70 $\pm$ 6'36   | 68'16 $\pm$ 10'08  |
| Horas en descender al nivel basal                              | 49'52 $\pm$ 10'73  | 52'48 $\pm$ 7'65   |
| Duración de la actividad luteal                                | 337'04 $\pm$ 13'06 | 329'70 $\pm$ 13'34 |
| Nivel medio de la meseta de la curva                           | 8'51 $\pm$ 0'41    | 9'41 $\pm$ 0'54    |
| Nivel máximo de progesterona                                   | 11'62 $\pm$ 0'59   | 12'83 $\pm$ 0'92   |
| Nivel basal medio  | 0'09 $\pm$ 0'04    | 0'16 $\pm$ 0'05    |

TABLA 4.4 Valores medios de progesterona durante el ciclo estral en las cerdas ibéricas.

| DÍAS DE CICLO | MEDIA | DESV. STD. | VARIANZA |
|---------------|-------|------------|----------|
| -3            | 0.09  | 0.08       | 0.007    |
|               | 0.05  | 0.07       | 0.005    |
| -2            | 0.06  | 0.07       | 0.005    |
|               | 0.04  | 0.04       | 0.002    |
| -1            | 0.04  | 0.05       | 0.002    |
|               | 0.05  | 0.07       | 0.005    |
| 0             | 0.07  | 0.09       | 0.009    |
|               | 0.05  | 0.12       | 0.014    |
| 1             | 0.09  | 0.13       | 0.016    |
|               | 0.41  | 0.28       | 0.077    |
| 2             | 0.81  | 0.37       | 0.135    |
|               | 1.57  | 0.64       | 0.415    |
| 3             | 2.65  | 1.15       | 1.314    |
|               | 3.05  | 1.66       | 2.772    |
| 4             | 4.41  | 1.79       | 3.205    |
|               | 5.72  | 2.24       | 5.029    |
| 5             | 5.47  | 1.28       | 1.642    |
|               | 6.50  | 1.01       | 1.022    |
| 6             | 5.89  | 1.39       | 1.925    |
|               | 7.87  | 4.38       | 19.172   |
| 7             | 7.09  | 2.06       | 4.242    |
|               | 6.63  | 1.99       | 3.944    |
| 8             | 7.85  | 2.59       | 6.689    |
|               | 7.01  | 2.06       | 4.238    |
| 9             | 7.00  | 2.18       | 4.752    |
|               | 7.35  | 2.57       | 6.580    |
| 10            | 8.16  | 3.19       | 10.185   |
|               | 9.08  | 2.95       | 8.718    |
| 11            | 10.08 | 2.95       | 8.707    |
|               | 9.84  | 1.36       | 1.852    |
| 12            | 10.36 | 2.69       | 7.243    |
|               | 9.17  | 3.48       | 12.119   |
| 13            | 11.62 | 4.66       | 21.761   |
|               | 10.98 | 5.99       | 35.845   |
| 14            | 9.63  | 3.79       | 14.368   |
|               | 8.51  | 3.41       | 11.618   |
| 15            | 7.25  | 4.67       | 21.766   |
|               | 5.06  | 3.21       | 10.296   |
| 16            | 2.21  | 2.32       | 5.376    |
|               | 1.62  | 2.98       | 8.894    |
| 17            | 2.17  | 3.57       | 12.776   |
|               | 2.70  | 3.74       | 13.974   |

TABLA 4.5 Valores medios de progesterona durante el ciclo estral en cerdas híbridas JX x IB.

| DIAS DE CICLO | MEDIA | DESV. STD. | VARIANZA |
|---------------|-------|------------|----------|
| -3            | 0.14  | 0.05       | 0.003    |
|               | 0.12  | 0.10       | 0.011    |
| -2            | 0.07  | 0.05       | 0.003    |
|               | 0.08  | 0.09       | 0.007    |
| -1            | 0.08  | 0.05       | 0.003    |
|               | 0.08  | 0.05       | 0.002    |
| 0             | 0.09  | 0.07       | 0.006    |
|               | 0.10  | 0.16       | 0.024    |
| 1             | 0.27  | 0.46       | 0.213    |
|               | 0.60  | 0.73       | 0.528    |
| 2             | 1.22  | 1.15       | 1.313    |
|               | 1.99  | 1.33       | 1.778    |
| 3             | 2.04  | 0.44       | 0.190    |
|               | 2.81  | 1.13       | 1.286    |
| 4             | 4.05  | 1.77       | 3.136    |
|               | 5.43  | 2.43       | 5.924    |
| 5             | 5.38  | 1.76       | 3.111    |
|               | 5.83  | 2.30       | 5.294    |
| 6             | 7.47  | 2.65       | 7.019    |
|               | 7.17  | 1.78       | 3.159    |
| 7             | 8.92  | 2.25       | 5.050    |
|               | 5.37  | 1.76       | 3.089    |
| 8             | 6.78  | 1.93       | 3.724    |
|               | 8.58  | 2.11       | 4.467    |
| 9             | 8.62  | 2.61       | 6.804    |
|               | 7.97  | 1.76       | 3.095    |
| 10            | 8.91  | 3.30       | 10.890   |
|               | 9.77  | 3.78       | 14.287   |
| 11            | 9.45  | 2.35       | 5.521    |
|               | 11.03 | 2.80       | 7.856    |
| 12            | 9.99  | 1.47       | 2.148    |
|               | 12.05 | 2.99       | 8.920    |
| 13            | 11.52 | 3.93       | 15.482   |
|               | 12.84 | 4.52       | 20.475   |
| 14            | 7.94  | 1.87       | 3.496    |
|               | 10.20 | 5.40       | 29.187   |
| 15            | 7.24  | 5.53       | 30.575   |
|               | 7.89  | 7.67       | 58.782   |
| 16            | 3.82  | 3.22       | 10.380   |
|               | 2.61  | 3.62       | 13.097   |
| 17            | 0.25  | 0.02       | 0.003    |
|               | 0.25  | 0.03       | 0.003    |

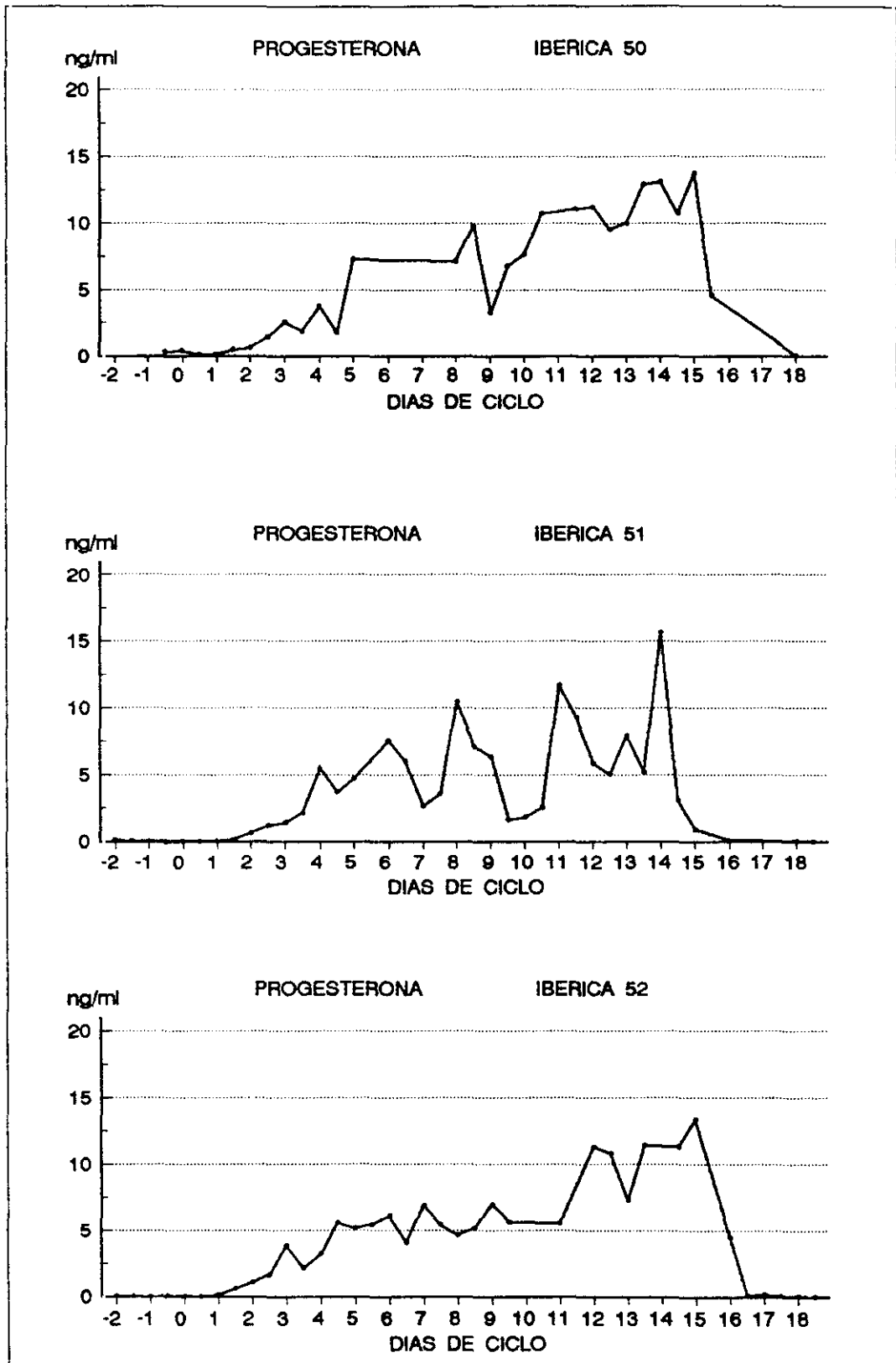


Fig. 4.1. Niveles plasmáticos de progesterona durante el ciclo estral en las cerdas Ibéricas 50, 51 y 52. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)



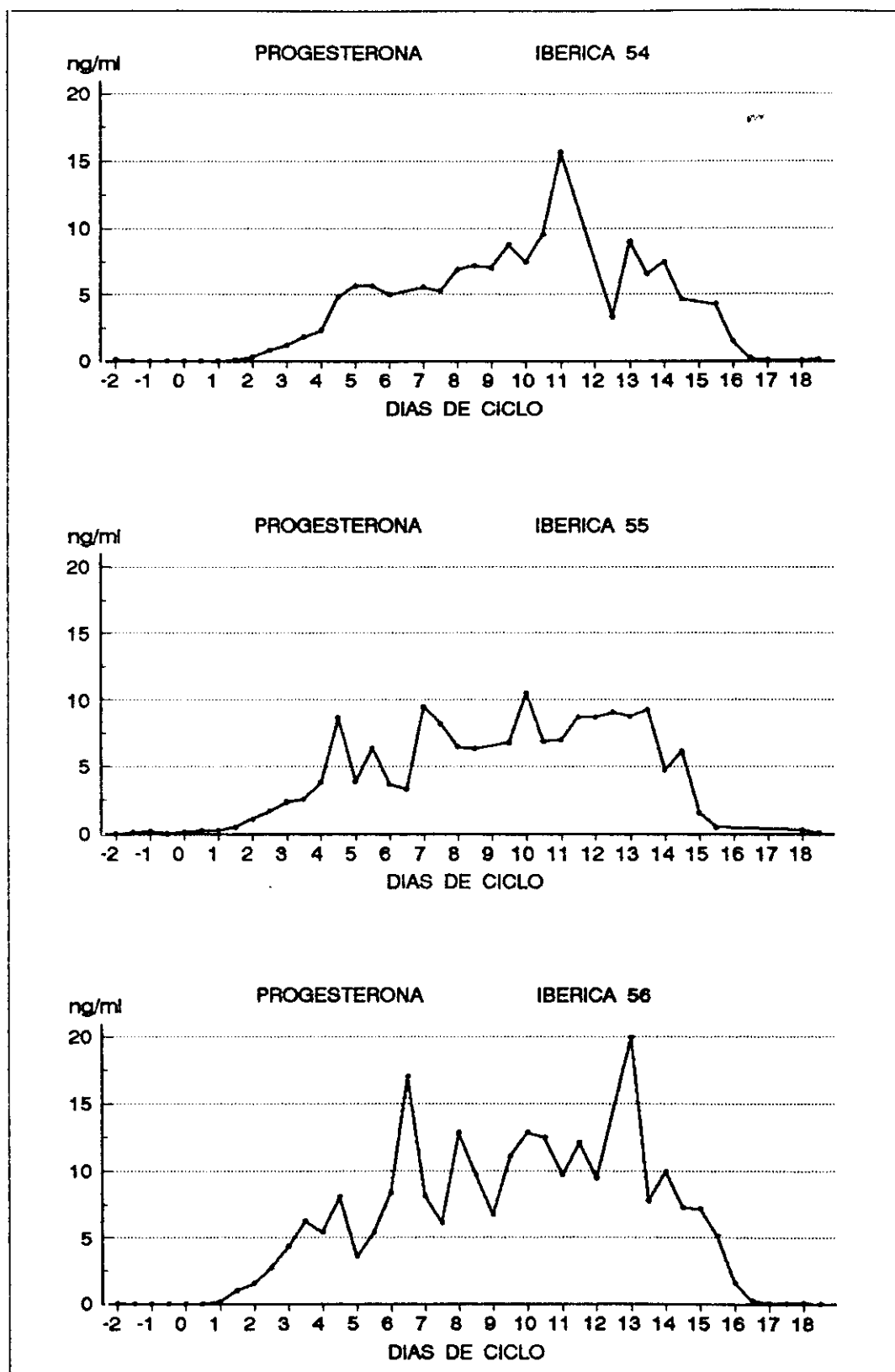


Fig. 4.2. Niveles plasmáticos de progesterona durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 54, 55 y 56. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

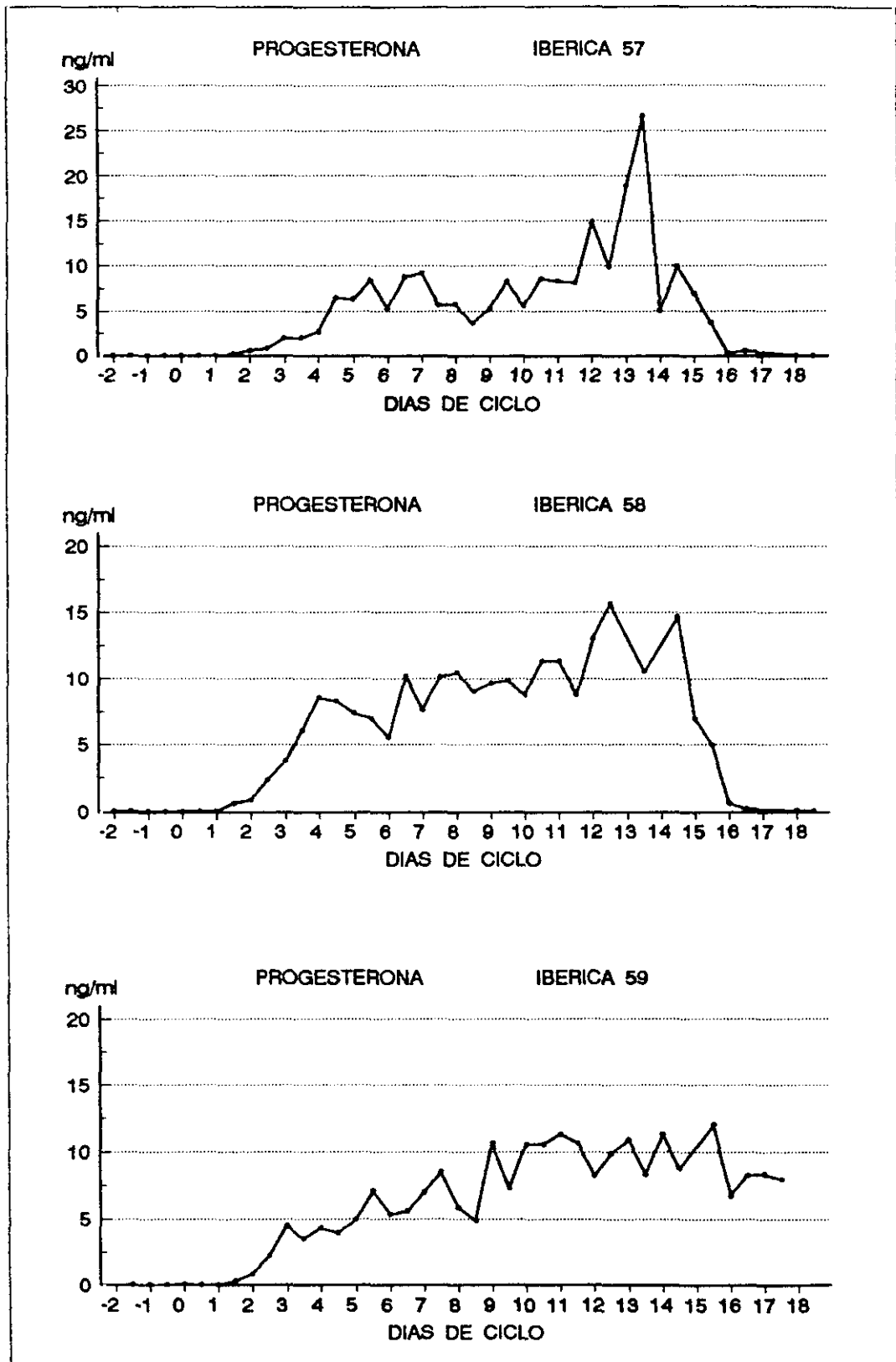


Fig. 4.3. Niveles plasmáticos de progesterona durante el ciclo estral de las cerdas ibéricas 57, 58 y 59. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

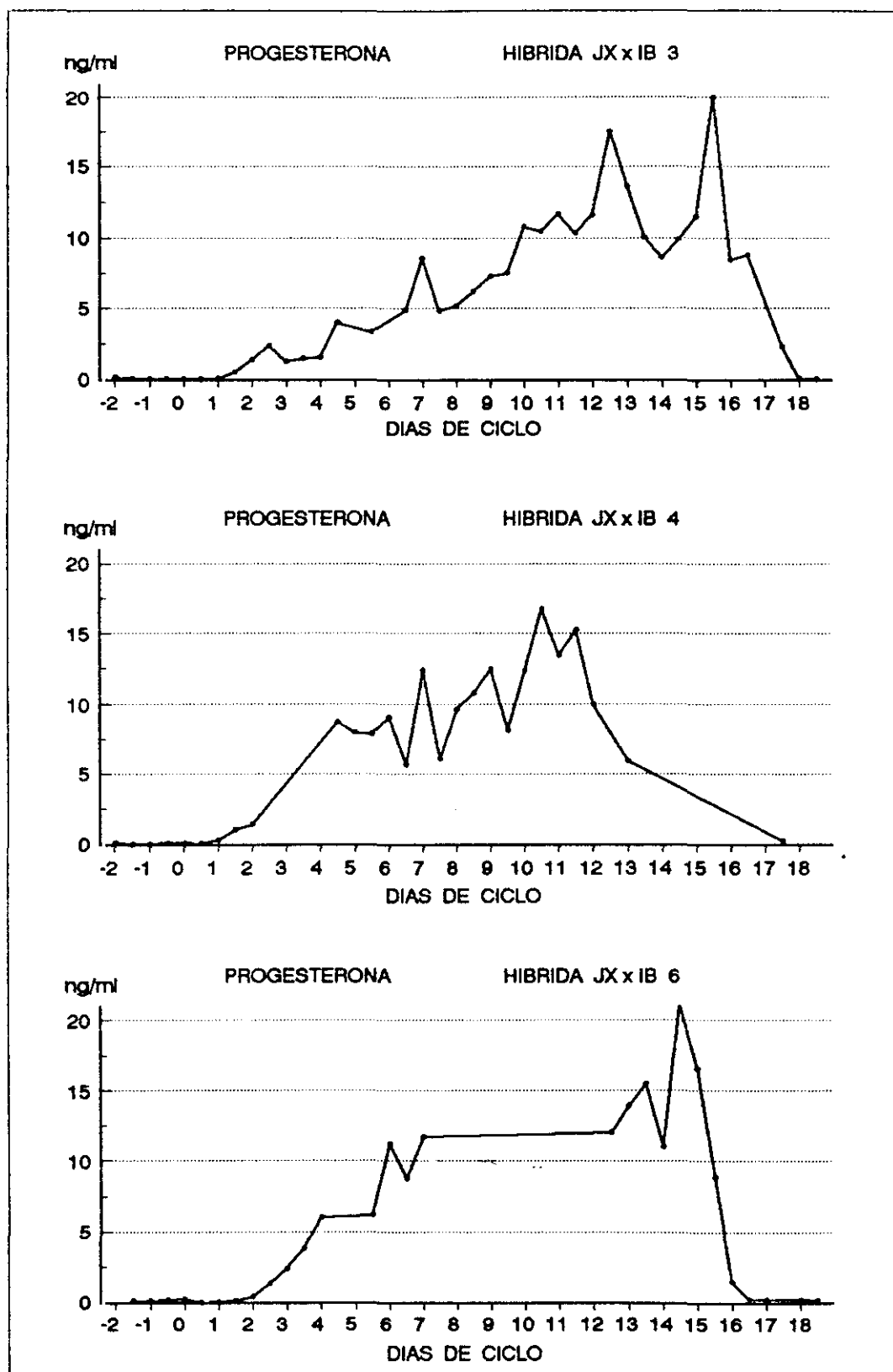


Fig. 4.4. Niveles plasmáticos de progesterona durante el ciclo estral de las cerdas híbridas 3, 4 y 6. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

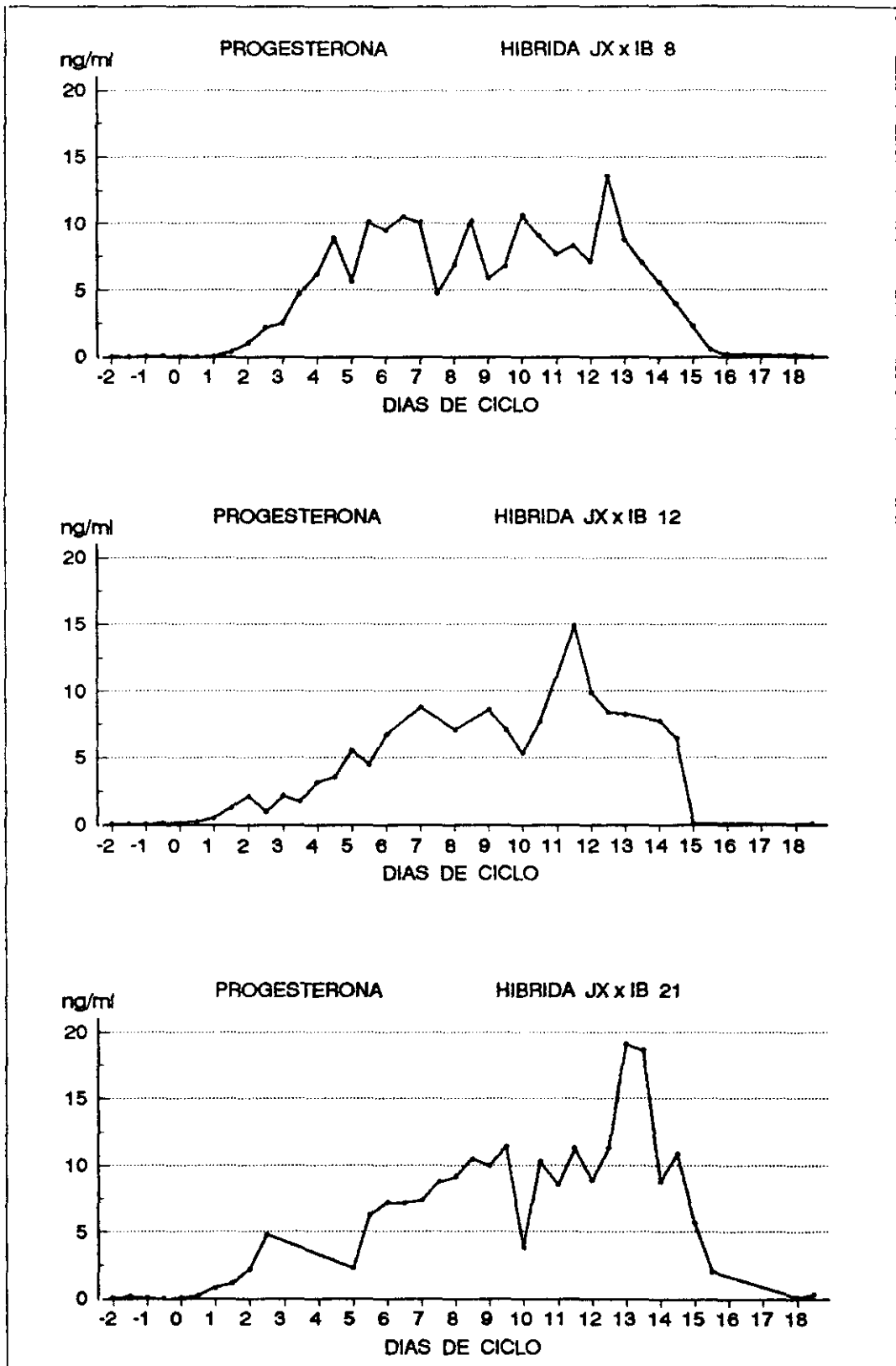


Fig. 4.5 Niveles plasmáticos de progesterona durante el ciclo estral de las cerdas híbridas 8, 12 y 21. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

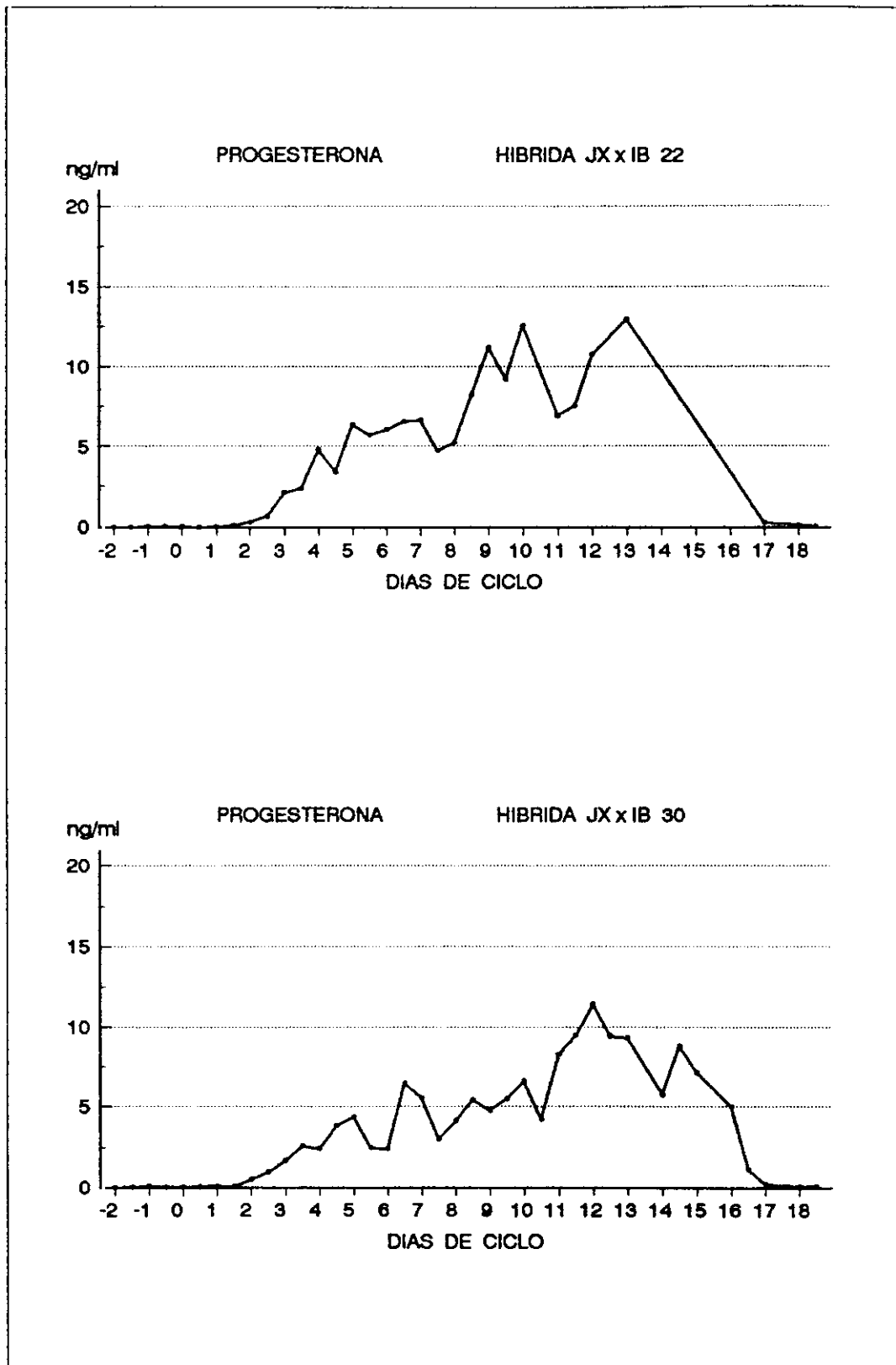


Fig. 4.6. Niveles plasmáticos de progesterona a lo largo del ciclo estral de las cerdas híbridas 22 y 30. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

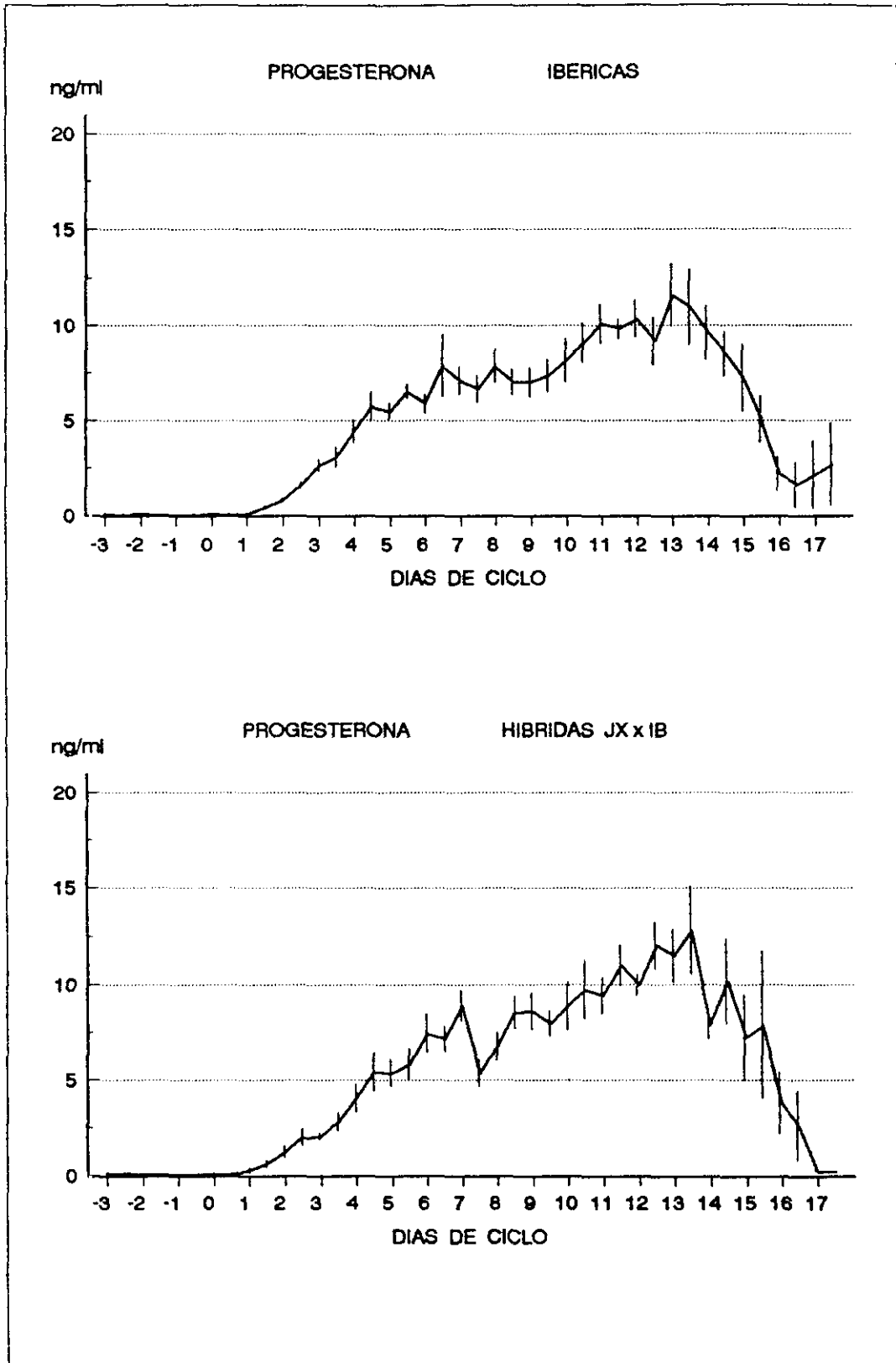


Fig. 4.7. Niveles plasmáticos medios ( $\pm$  E.S.) de progesterona durante el ciclo estral.

#### 4.4.2 Niveles plasmáticos de estradiol-17 $\beta$

Al igual que con las otras hormonas, describimos los niveles plasmáticos de estradiol-17 $\beta$  ( $E_2$ ), tomando como referencia el máximo nivel del pico preovulatorio de LH, situado en el primer punto del día 0.

En las tablas 4.6 y 4.7 se describen los valores individuales de amplitud del pico de  $E_2$ , duración, nivel basal y tiempo desde el máximo nivel del  $E_2$  al máximo nivel del pico preovulatorio de LH, en las cerdas Ibéricas e híbridas JX x IB. En las figuras 4.8, 4.9 y 4.10 se representan los niveles plasmáticos individuales de estradiol-17 $\beta$  de las cerdas Ibéricas y en las figuras 4.11, 4.12 y 4.13 los de las cerdas híbridas JX x IB, estando representados los niveles medios de las dos líneas genéticas en la figura 4.14. En las tablas 4.8 y 4.9 se reflejan los valores medios de  $E_2$  durante el ciclo estral en las dos líneas.

Durante el ciclo estral, los niveles de estradiol, se mantienen alrededor de  $8.5 \pm 0.81$  vs  $8.82 \pm 1.88$  pg/ml en las cerdas Ibéricas y Jiaxing x Ibérica, respectivamente, teniendo una mayor fluctuación en estas últimas.

Cuatro días antes del pico preovulatorio de gonadotropinas, comienzan a aumentar los niveles de  $E_2$  en ambas líneas, alcanzando un nivel máximo entre los días -2 y -1, para descender bruscamente y volver al nivel basal durante el día 0, cuando se produce el máximo nivel de LH.

Los resultados obtenidos por análisis de varianza, indican un nivel máximo medio de  $24'99 \pm 0'73$  pg/ml en las cerdas JX x IB, el día -2, donde se mantienen durante 36 horas. En este mismo periodo, en las cerdas Ibéricas, el estradiol alcanza un nivel máximo medio de  $31'24 \pm 2'4$  pg/ml, siendo significativamente más alto ( $p < 0'05$ ).

La duración de esta elevación de  $E_2$  fue de  $78'86 \pm 3'57$  vs  $85'71 \pm 11'54$  horas en las cerdas IB y JX x IB respectivamente, habiendo un periodo de  $20 \pm 4$  vs  $25'5 \pm 6'18$  horas desde el máximo valor de estradiol hasta el máximo nivel del pico preovulatorio de LH.



TABLA 4.6 Distintos parámetros individuales de la secreción de estradiol-17 $\beta$  en cerdas Ibéricas y JX x IB.

| CERDA  | AMPLITUD<br>(pg/ml) | DURACION<br>(horas) | NIVEL BASAL<br>(pg/ml) | MAX LH - MAX <sub>2</sub> E<br>(horas) |
|--------|---------------------|---------------------|------------------------|--|
| IB 50  | 57'34               | —                   | 13'22                  | 12                                     |
| IB 51  | 28'56               | 60                  | 9'89                   | 24                                     |
| IB 52  | 29'11               | 72                  | 5'78                   | 12                                     |
| IB 54  | 48'03               | 84                  | 8'55                   | 24                                     |
| IB 55  | 42'67               | 84                  | 9'58                   | 48                                     |
| IB 56  | 60'02               | 84                  | 8'77                   | 24                                     |
| IB 57  | 33'88               | 84                  | 7'53                   | 12                                     |
| IB 58  | 49'32               | 84                  | 8'44                   | 12                                     |
| IB 59  | 30'75               | —                   | 4'75                   | 12                                     |
| HIB 3  | 16'33               | 96                  | 3'91                   | 24                                     |
| HIB 4  | 24'06               | 60                  | 4'77                   | 24                                     |
| HIB 6  | 37'92               | 108                 | 8'88                   | 0                                      |
| HIB 8  | 38'02               | 60                  | 9'61                   | 12                                     |
| HIB 12 | 30'95               | 60                  | 18'26                  | 36                                     |
| HIB 21 | 25'96               | 48                  | 6'72                   | 48                                     |
| HIB 22 | 35'25               | 132                 | 14'82                  | 48                                     |
| HIB 30 | 31'71               | 96                  | 3'60                   | 12                                     |

TABLA 4.7 Valores medios de la secreción de estradiol-17 $\beta$  en cerdas Ibéricas y JX x IB.

| CERDA                       | AMPLITUD<br>(pg/ml) | DURACION<br>(horas) | NIVEL BASAL<br>(pg/ml) | MAX LH - MAX <sub>2</sub> E<br>(horas) |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--|
| IB<br>media $\pm$ E.S.      | 31'24 $\pm$ 4'2*    | 78'86 $\pm$ 3'57    | 8'5 $\pm$ 0'81         | 20 $\pm$ 4                             |
| JX x IB<br>media $\pm$ E.S. | 24'99 $\pm$ 0'73*   | 85'71 $\pm$ 11'54   | 8'82 $\pm$ 1'88        | 25'5 $\pm$ 6'18                        |

\* P<0'05

TABLA 4.8 Valores medios de estradiol-17 $\beta$  durante el ciclo estral en cerdas Ibéricas.

| DIAS DE CICLO | MEDIA | DESV. STD. | VARIANZA |
|---------------|-------|------------|----------|
| -3            | 15.47 | 6.49       | 42.061   |
|               | 21.88 | 10.29      | 105.987  |
| -2            | 26.42 | 15.14      | 229.086  |
|               | 29.03 | 9.69       | 93.834   |
| -1            | 34.64 | 13.52      | 182.769  |
|               | 34.88 | 15.08      | 227.481  |
| 0             | 18.69 | 11.93      | 142.397  |
|               | 8.58  | 3.63       | 13.193   |
| 1             | 8.19  | 4.33       | 18.715   |
|               | 8.31  | 4.66       | 21.718   |
| 2             | 7.87  | 6.52       | 42.517   |
|               | 6.73  | 3.20       | 10.230   |
| 3             | 7.51  | 3.50       | 12.256   |
|               | 9.75  | 3.05       | 9.294    |
| 4             | 6.99  | 1.95       | 3.787    |
|               | 7.24  | 3.20       | 10.261   |
| 5             | 9.61  | 6.00       | 36.008   |
|               | 7.97  | 3.13       | 9.788    |
| 6             | 8.03  | 3.46       | 11.959   |
|               | 7.92  | 3.31       | 10.986   |
| 7             | 7.80  | 3.04       | 9.221    |
|               | 8.61  | 1.83       | 3.360    |
| 8             | 9.24  | 4.61       | 21.264   |
|               | 8.56  | 1.99       | 3.945    |
| 9             | 9.48  | 1.99       | 3.943    |
|               | 9.05  | 3.10       | 9.617    |
| 10            | 10.33 | 3.39       | 11.468   |
|               | 10.37 | 4.92       | 24.251   |
| 11            | 11.03 | 4.68       | 21.936   |
|               | 7.71  | 3.91       | 15.312   |
| 12            | 8.82  | 4.75       | 22.588   |
|               | 8.98  | 3.28       | 10.740   |
| 13            | 8.78  | 4.48       | 20.037   |
|               | 8.26  | 3.60       | 12.987   |
| 14            | 7.28  | 2.54       | 6.466    |
|               | 7.34  | 4.32       | 18.676   |
| 15            | 7.39  | 2.73       | 7.463    |
|               | 7.18  | 3.17       | 10.044   |
| 16            | 9.69  | 3.69       | 13.591   |
|               | 8.22  | 4.59       | 21.066   |
| 17            | 10.43 | 5.15       | 26.488   |
|               | 14.68 | 7.83       | 61.384   |

**TABLA 4.9** Valores medios de estradiol-17 $\beta$  durante el ciclo estral en cerdas híbridas JX x IB.

| DIAS DE CICLO | MEDIA | DESV. STD. | VARIANZA |
|---------------|-------|------------|----------|
| -3            | 13.71 | 5.48       | 30.037   |
|               | 16.68 | 7.95       | 63.191   |
| -2            | 24.47 | 7.67       | 58.834   |
|               | 25.12 | 8.50       | 72.260   |
| -1            | 24.40 | 7.20       | 51.815   |
|               | 25.98 | 10.12      | 102.473  |
| 0             | 18.82 | 9.52       | 90.580   |
|               | 9.18  | 7.20       | 51.819   |
| 1             | 12.21 | 12.08      | 145.949  |
|               | 8.76  | 8.33       | 69.380   |
| 2             | 7.65  | 6.92       | 47.916   |
|               | 7.26  | 7.04       | 49.509   |
| 3             | 7.53  | 3.50       | 12.259   |
|               | 9.76  | 6.14       | 37.680   |
| 4             | 10.23 | 6.04       | 36.499   |
|               | 9.99  | 5.55       | 30.821   |
| 5             | 12.34 | 5.97       | 35.629   |
|               | 10.89 | 6.93       | 48.030   |
| 6             | 13.76 | 8.33       | 69.310   |
|               | 13.12 | 7.01       | 49.089   |
| 7             | 7.62  | 6.96       | 48.461   |
|               | 9.93  | 6.18       | 38.154   |
| 8             | 8.93  | 5.85       | 34.193   |
|               | 8.52  | 5.47       | 29.960   |
| 9             | 7.72  | 5.85       | 34.187   |
|               | 5.95  | 4.81       | 23.139   |
| 10            | 4.85  | 2.88       | 8.318    |
|               | 11.26 | 12.50      | 156.292  |
| 11            | 7.41  | 3.67       | 13.478   |
|               | 10.52 | 13.56      | 183.888  |
| 12            | 8.71  | 8.44       | 71.268   |
|               | 7.40  | 3.20       | 10.233   |
| 13            | 8.04  | 2.44       | 5.943    |
|               | 9.85  | 4.49       | 20.188   |
| 14            | 7.55  | 6.34       | 40.240   |
|               | 7.99  | 5.65       | 31.895   |
| 15            | 7.82  | 4.93       | 24.277   |
|               | 8.18  | 4.63       | 21.436   |
| 16            | 4.59  | 0.76       | 0.576    |
|               | 6.63  | 2.61       | 6.834    |
| 17            | 10.70 | 8.06       | 64.997   |
|               | 8.99  | 5.72       | 32.671   |

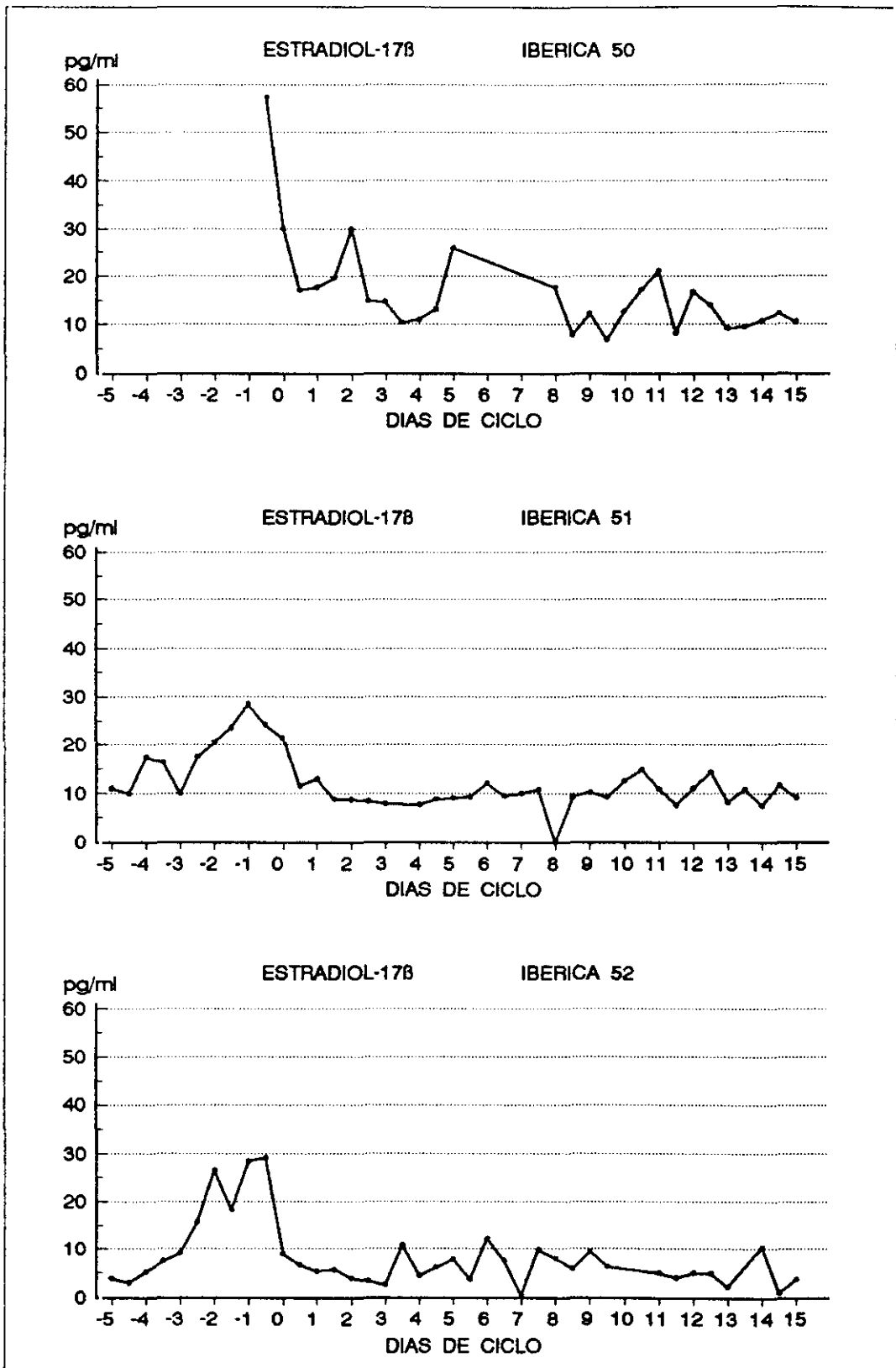


Fig. 4.8 Niveles plasmáticos de estradiol-17β durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 50, 51 y 52. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

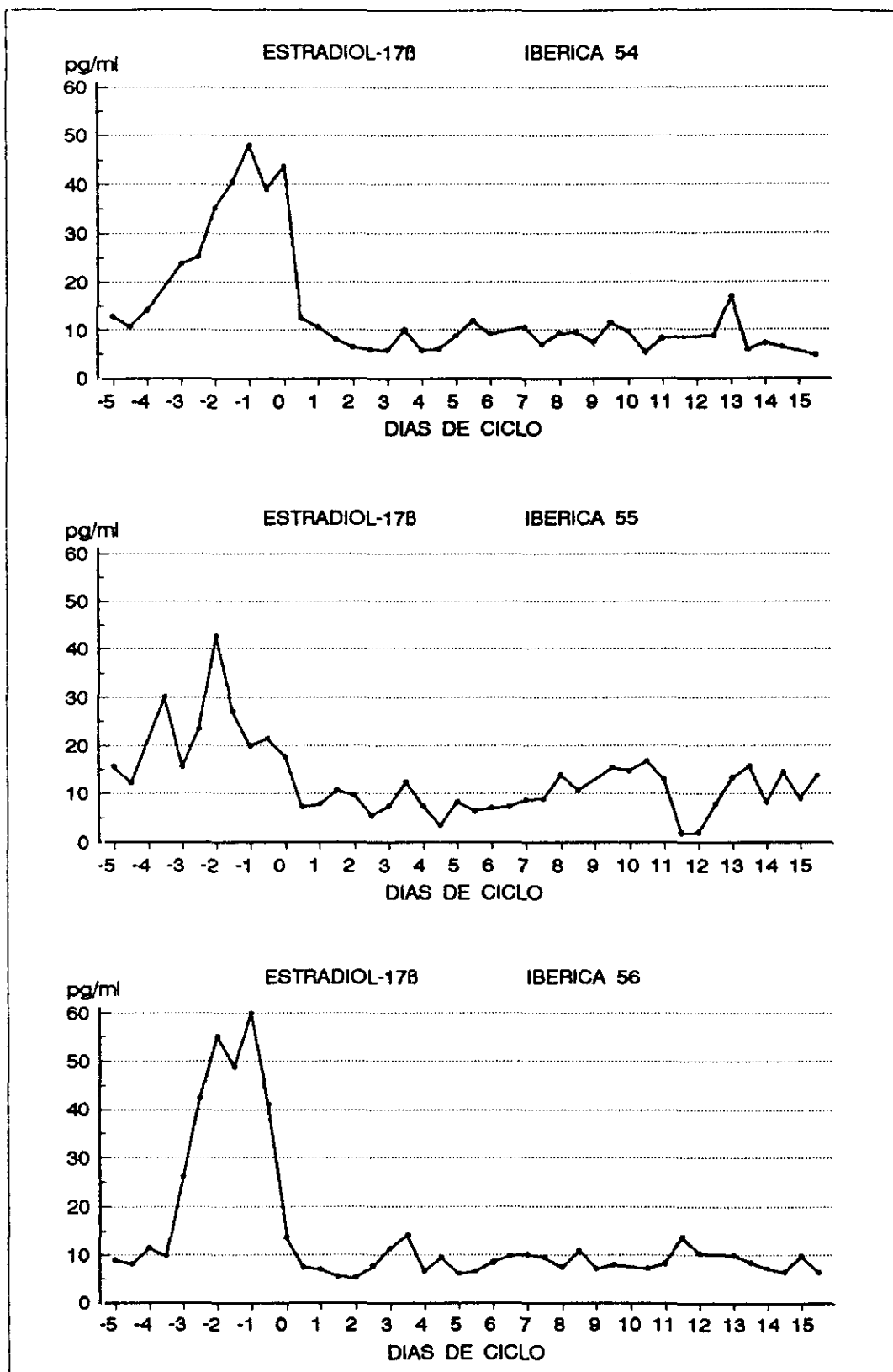


Fig. 4.9 Niveles plasmáticos de estradiol-17β durante el ciclo estral de las cerda Ibéricas 54, 55 y 56. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

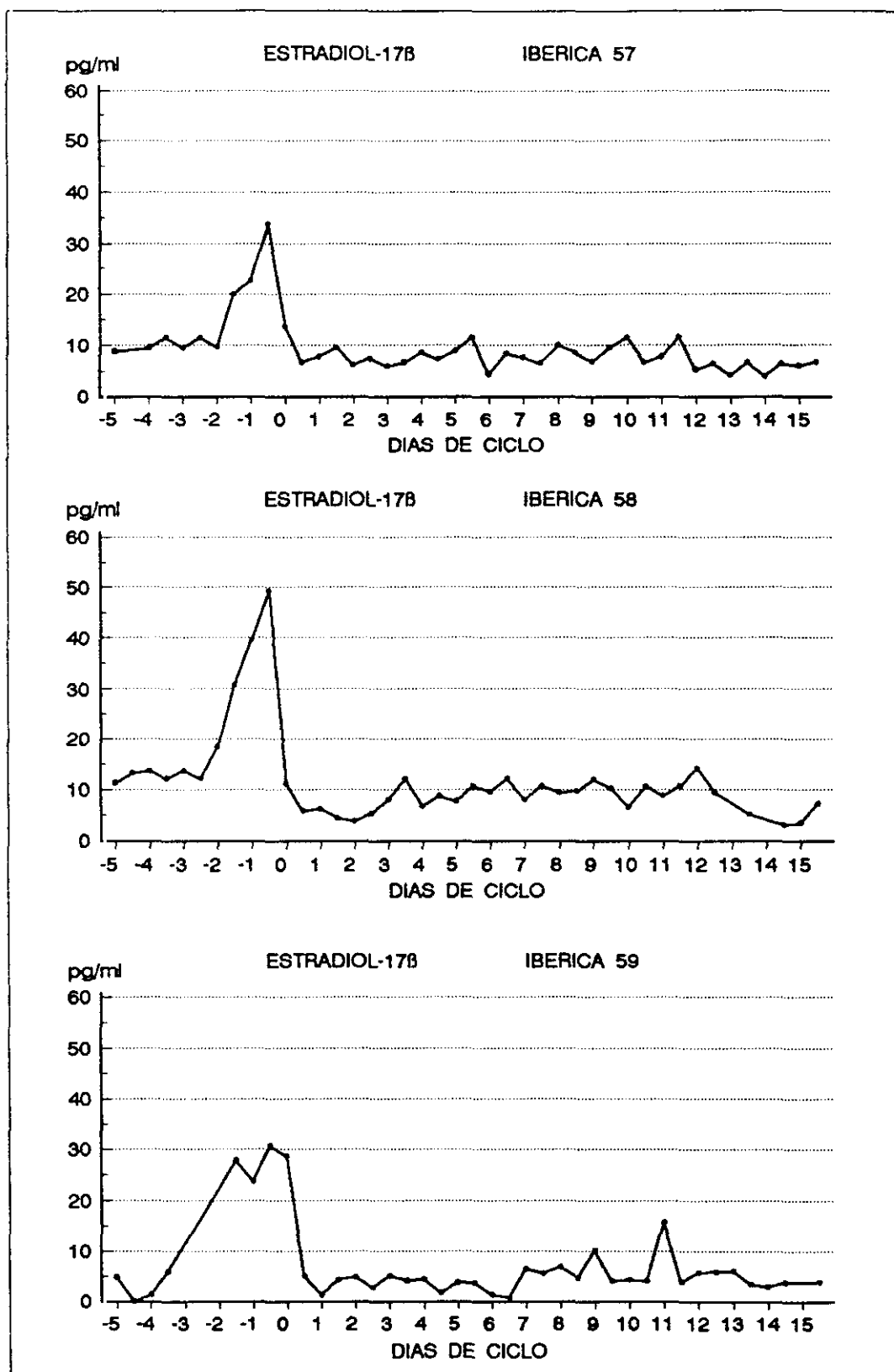


Fig.4.10 Niveles plasmáticos de estradiol-17β durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 57, 58 y 59. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

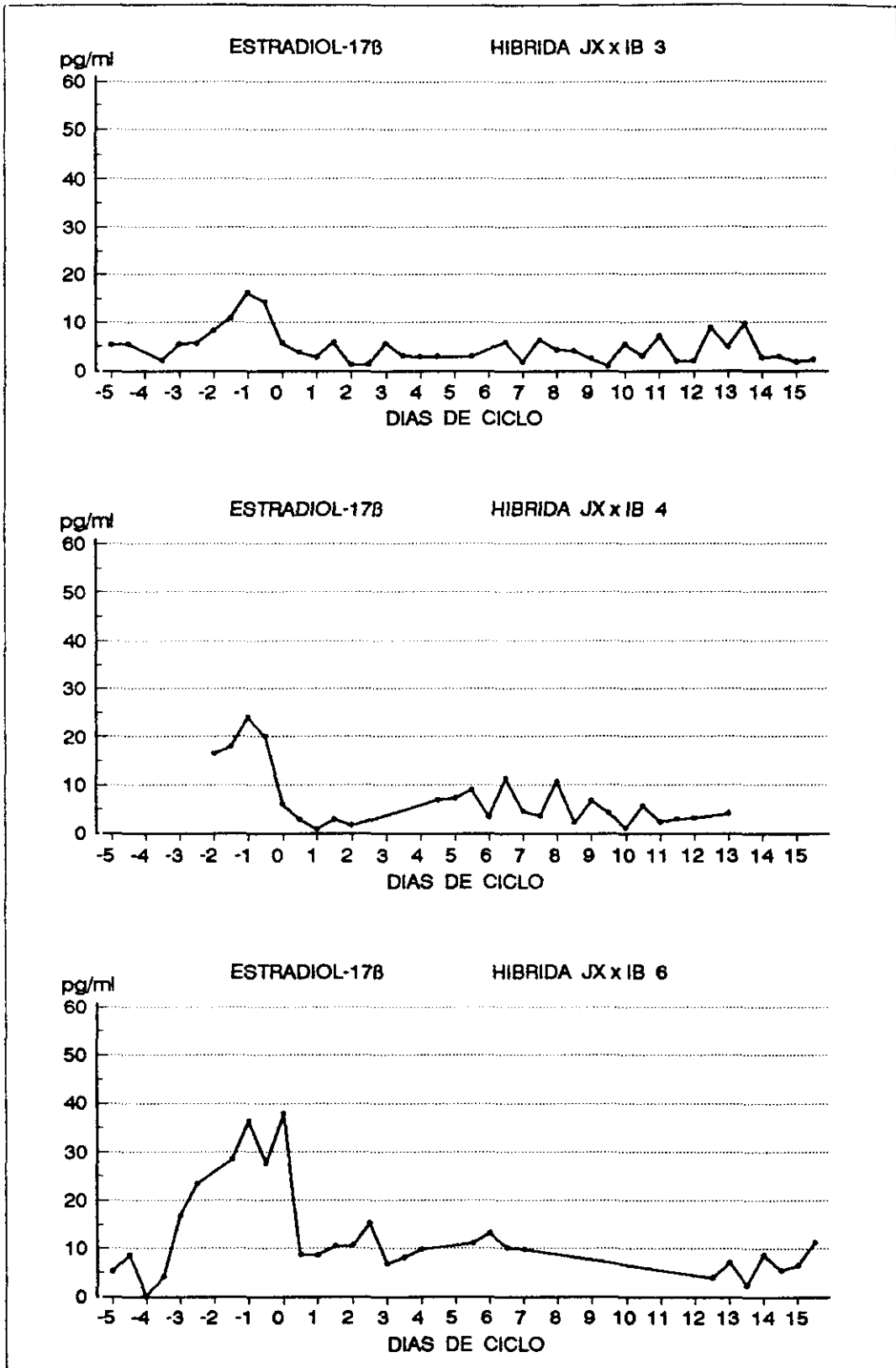


Fig. 4.11 Niveles plasmáticos de estradiol-17β durante el ciclo estral en las cerdas híbridas 3, 4 y 6. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

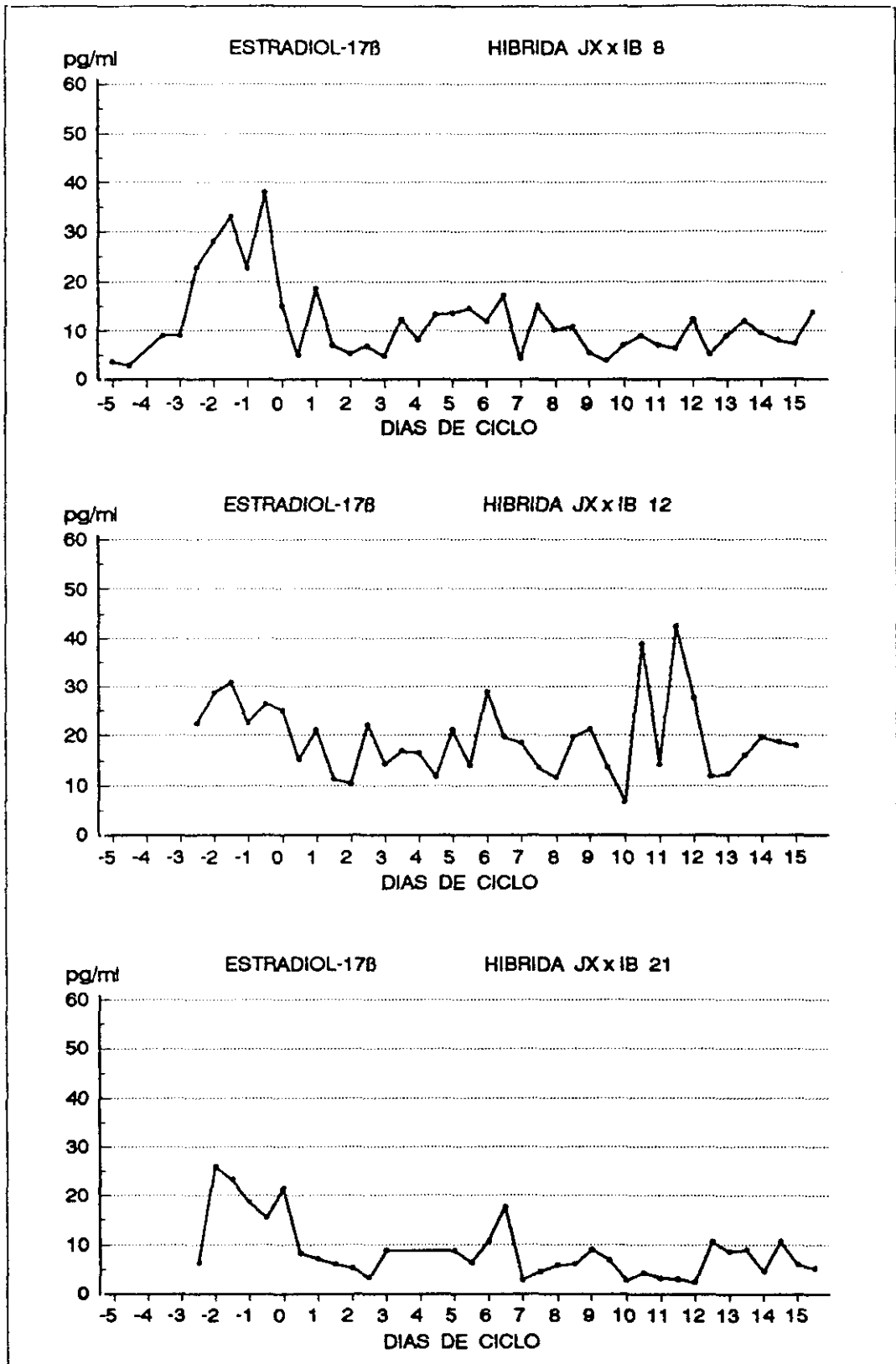


Fig. 4.12 Niveles plasmáticos de estradiol-17β durante el ciclo estral de las cerdas híbridas 8, 12 y 21. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)



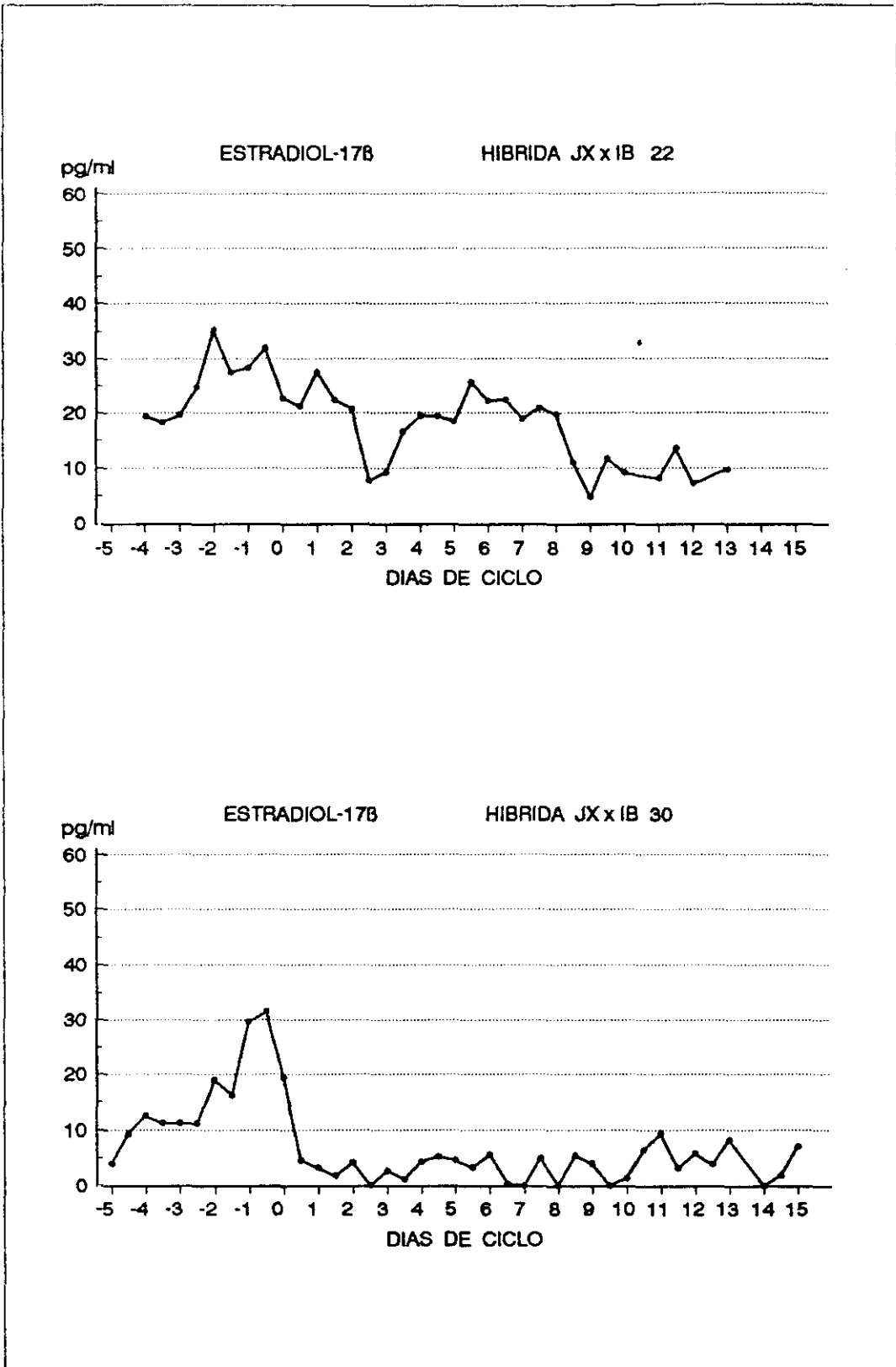


Fig. 4.13 Niveles plasmáticos de estradiol-17β durante el ciclo estral de las cerdas híbridas 22 y 30. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

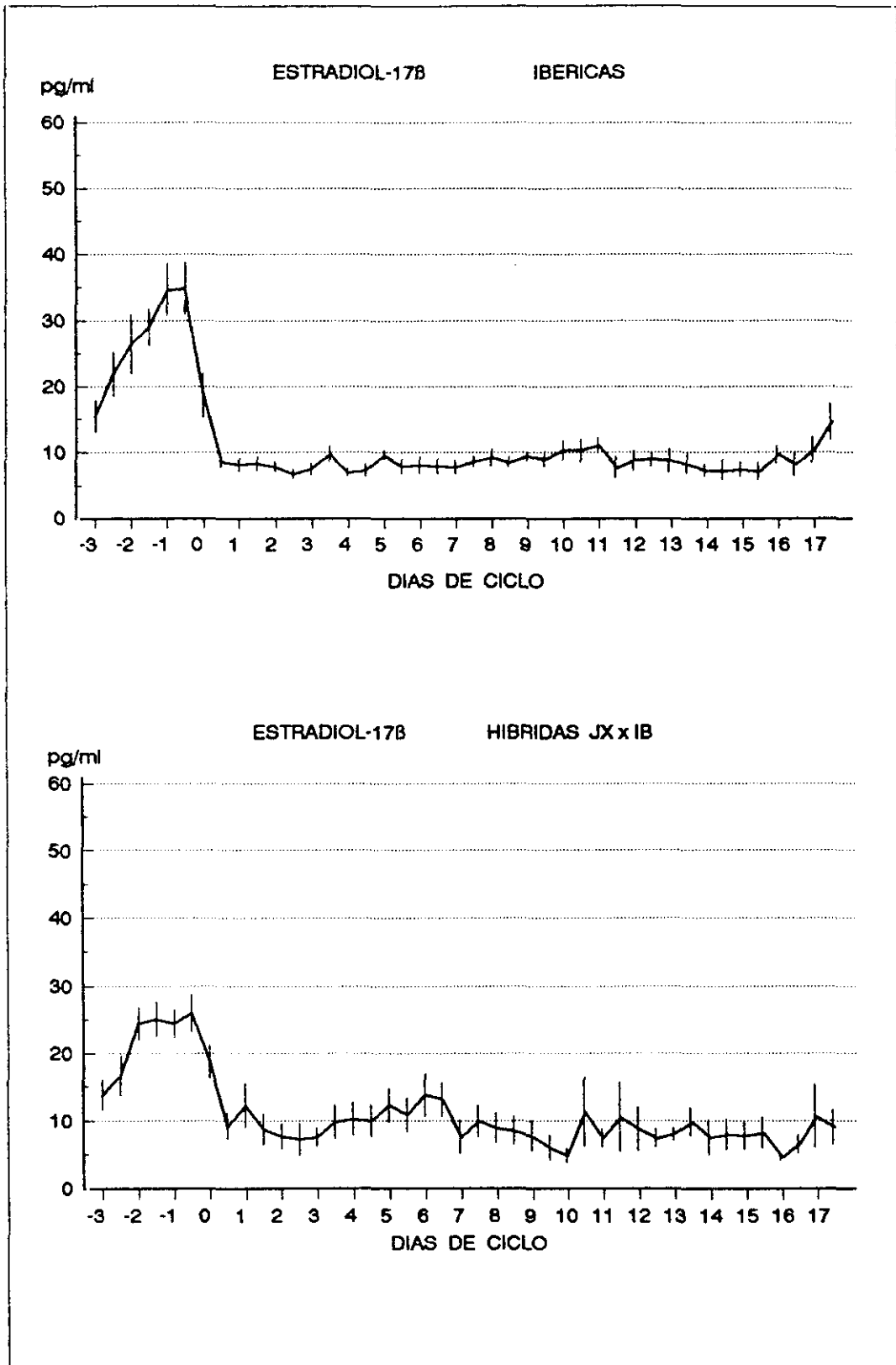


Fig. 4.14. Niveles plasmáticos medios ( $\pm$  E.S.) de estradiol-17 $\beta$  durante el ciclo estrol.

#### 4.4.3 Niveles plasmáticos de la hormona luteinizante (LH)

Los datos de LH para cada cerda, se han normalizado a la concentración máxima del pico preovulatorio de LH. Las características de la secreción media de LH durante el ciclo estral, se presentan en la figura 4.21, siendo desde la figura 4.15 a la 4.20, las secreciones individuales en ambas líneas genéticas.

Las concentraciones medias de LH (Tabla 4.13 y 4.14), estuvieron a nivel basal durante los días -3, -2 y principio del día -1 en ambas líneas genéticas IB y JX x IB, siendo el nivel medio de  $0'33 \pm 0'02$  vs  $0'44 \pm 0'19$  ng/ml respectivamente, (Tabla 4.10).

El pico preovulatorio de LH de ambas líneas genéticas, comenzó el día -1 aumentando rápidamente, para llegar al nivel máximo en  $11'42 \pm 1'05$  vs  $11'29 \pm 1'44$  horas en las cerdas IB y JX x IB respectivamente. A continuación, los niveles descendieron más lentamente, alcanzando de nuevo el nivel basal al final del día 0, tardando  $16'49 \pm 1'33$  horas en las cerdas Ibéricas y  $15'92 \pm 2'58$  horas en las híbridas JX x IB.

El máximo nivel medio del pico preovulatorio de LH fue de  $3'3 \pm 0'24$  vs  $3'57 \pm 0'33$  ng/ml, estando el punto de intersección de las rectas de regresión de las partes ascendente y descendente del pico en  $3'03 \pm 0'21$  ng/ml en IB y  $3'39 \pm 0'31$  ng/ml en JX x IB.

La duración total del pico preovulatorio de LH fue de  $27'9 \pm 2'14$  vs  $27'21 \pm 2'58$  horas en IB y JX x IB. Durante el resto

del ciclo estral, el nivel medio de LH fue de  $0'47 \pm 0'04$  ng/ml en IB y  $0'58 \pm 0'18$  ng/ml en JX x IB. No hay diferencias significativas entre ambas líneas genéticas en ninguno de los parámetros analizados, si bien, en las cerdas híbridas JX x IB, los niveles basales anteriores al pico y los niveles medios del resto del ciclo, junto al valor máximo del pico preovulatorio de LH, son más elevados que en las cerdas Ibéricas.

En las dos líneas genéticas, se aprecia una duración mayor en el descenso de los niveles desde el máximo del pico hasta el nivel basal que en el ascenso, describiendo un pico asimétrico.

Respecto al momento del pico de LH en relación con el celo, determinando el día 0 a las 10:00 horas como el momento de comienzo del celo, de los 14 picos preovulatorios de LH obtenidos en cada raza, hubo 2 que no se ha considerado bien determinado el momento de celo, por no coincidir con los niveles plasmáticos de las cuatro hormonas estudiadas, de tal forma que la cerda Ibérica 56 y la cerda híbrida 6, tendrían el pico preovulatorio de LH al 3<sup>er</sup> y 6° día del ciclo estral respectivamente y en el momento que teoría se produjo el celo, los niveles plasmáticos de estradiol-17 $\beta$  estaban bajos, por lo que no podemos asegurar el momento exacto de celo en esas cerdas.

Por lo tanto, del resto de los animales estudiados, en las cerdas Ibéricas, el máximo nivel del pico preovulatorio de LH, se alcanzó antes del inicio del celo (día 0 a las 10:00 h.) en 8 ocasiones; después del inicio del celo se dio en 2, y 3 picos

se produjeron coincidiendo con el inicio del celo (61'54%, 15'38% y 23'08% respectivamente).

En las cerdas híbridas, 5 niveles máximos de LH se produjeron antes de comenzar el celo y 8 después (38'46% y 61'54% respectivamente).

Globalmente, estudiando todos los picos preovulatorios juntos, el 50% se produjeron antes del comienzo de celo, el 38'46% después y el 11'54% coincidieron con el inicio de celo.

Respecto al día en que se produjo el máximo nivel de LH, en las cerdas Ibéricas, 7 máximos de LH aparecieron el día -1 (53'85%) y 6 aparecieron el día 0 (primer día de celo) representando al 46'15%. En las cerdas Jiaxing x Ibérica, 2 máximos de LH se alcanzaron el día -1 (15'39%), 10 el día 0 (76'92%) y 1 el día 1 (7'69%).

Conjuntamente, en ambas razas, el 34'61% de los picos preovulatorios de LH se alcanzaron el día anterior al primer día en que la cerda demuestra la actitud estática frente al verraco, el 61'54% se produjeron el primer día de celo y el 3'85% en el segundo día de celo.

Hay que tener en cuenta, que todos estos datos se han obtenido presentando una vez al día la cerda ante el verraco, como es la práctica habitual de la mayoría de explotaciones porcinas de nuestro país.

Tabla 4.10. Diferentes parámetros de la secreción de LH según las rectas de regresión.

| Tiempo (horas)<br>Nivel (ng/ml) | IBERICAS<br>(media ± E.S.) | HIBRIDAS (JX x IB)<br>(media ± E.S.) |
|---------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Duración del pico               | 27'9 ± 2'14                | 27'21 ± 2'58                         |
| Nivel basal - máx.              | 11'42 ± 1'05               | 11'29 ± 1'44                         |
| Máx. - Nivel basal              | 16'49 ± 1'33               | 15'92 ± 2'58                         |
| Amplitud                        | 3'03 ± 0'21                | 3'39 ± 0'31                          |
| Nivel basal anterior al pico    | 0'33 ± 0'02                | 0'44 ± 0'19                          |
| Nivel medio resto del ciclo     | 0'47 ± 0'04                | 0'58 ± 0'18                          |

TABLA 4.11 Máximo de LH respecto a la aparición del celo

|           | IBERICAS   | JX x IB    | Ambas razas |
|-----------|------------|------------|-------------|
| Antes     | 8 (61'55%) | 5 (38'46%) | 13 (50%)    |
| Después   | 2 (15'38%) | 8 (61'54%) | 10 (38'46%) |
| Al tiempo | 3 (23'08%) | —          | 3 (11'54%)  |

TABLA 4.12 Máximo nivel de LH respecto al primer día de celo

|        | IBERICAS   | JX x IB     | Ambas razas |
|--------|------------|-------------|-------------|
| Día -1 | 7 (53'85%) | 2 (15'39%)  | 9 (34'61%)  |
| Día 0  | 6 (46'15%) | 10 (76'92%) | 16 (61'54%) |
| Día 1  | 0          | 1 (7'69%)   | 1 (3'85%)   |

TABLA 4.13 Valores medios de LH durante el ciclo estral en cerdas Ibéricas.

| DIA  | MEDIA | D.S.  | VARIANZA | DIA  | MEDIA | D.S. | VARIANZA | DIA  | MEDIA | D.S.  | VARIANZA |       |
|------|-------|-------|----------|------|-------|------|----------|------|-------|-------|----------|-------|
| -3   | 0.38  | 0.11  | 0.012    | 0    | 3.30  | 0.87 | 0.760    | 3    | 0.42  | 0.12  | 0.013    |       |
|      | 0.31  | 0.15  | 0.023    |      | 2.39  | 0.63 | 0.396    |      | 0.47  | 0.19  | 0.037    |       |
|      | 0.36  | 0.17  | 0.028    |      | 1.92  | 0.59 | 0.344    | 4    | 0.42  | 0.11  | 0.012    |       |
|      | 0.28  | 0.12  | 0.015    |      | 1.90  | 0.56 | 0.308    |      | 0.41  | 0.15  | 0.023    |       |
|      | 0.27  | 0.10  | 0.009    |      | 1.52  | 0.76 | 0.573    | 5    | 0.47  | 0.34  | 0.116    |       |
|      | 0.33  | 0.09  | 0.008    |      | 1.24  | 0.66 | 0.432    |      | 0.47  | 0.13  | 0.017    |       |
|      | 0.31  | 0.12  | 0.015    |      | 0.98  | 0.35 | 0.123    | 6    | 0.34  | 0.34  | 0.117    |       |
|      | 0.30  | 0.18  | 0.033    |      | 0.86  | 0.40 | 0.163    |      | 0.31  | 0.20  | 0.041    |       |
|      | 0.36  | 0.19  | 0.036    |      | 0.67  | 0.24 | 0.056    | 7    | 0.30  | 0.28  | 0.076    |       |
|      | 0.28  | 0.12  | 0.015    |      | 0.69  | 0.36 | 0.132    |      | 0.45  | 0.44  | 0.180    |       |
|      | 0.38  | 0.24  | 0.058    |      | 0.59  | 0.20 | 0.039    | 8    | 0.37  | 0.45  | 0.200    |       |
| 0.27 | 0.07  | 0.006 | 0.47     | 0.23 | 0.053 | 0.31 | 0.24     |      | 0.057 |       |          |       |
| -2   | 0.26  | 0.10  | 0.010    | 1    | 0.52  | 0.25 | 0.065    |      | 9     | 0.25  | 0.28     | 0.077 |
|      | 0.31  | 0.08  | 0.006    |      | 0.46  | 0.29 | 0.086    |      |       | 0.34  | 0.29     | 0.082 |
|      | 0.35  | 0.21  | 0.042    |      | 0.67  | 0.49 | 0.239    |      | 10    | 0.33  | 0.41     | 0.168 |
|      | 0.32  | 0.16  | 0.026    |      | 0.57  | 0.47 | 0.217    |      |       | 0.64  | 0.38     | 0.143 |
|      | 0.30  | 0.16  | 0.027    |      | 0.54  | 0.50 | 0.252    |      | 11    | 0.21  | 0.21     | 0.043 |
|      | 0.38  | 0.15  | 0.022    |      | 0.56  | 0.47 | 0.222    |      |       | 0.47  | 0.50     | 0.249 |
|      | 0.34  | 0.14  | 0.019    |      | 0.54  | 0.39 | 0.150    |      | 12    | 0.13  | 0.23     | 0.054 |
|      | 0.31  | 0.20  | 0.039    |      | 0.38  | 0.19 | 0.037    |      |       | 0.42  | 0.40     | 0.158 |
|      | 0.35  | 0.15  | 0.023    |      | 0.45  | 0.28 | 0.081    |      | 13    | 0.13  | 0.12     | 0.014 |
|      | 0.36  | 0.15  | 0.023    |      | 0.55  | 0.31 | 0.098    | 0.29 |       | 0.13  | 0.018    |       |
|      | 0.37  | 0.15  | 0.023    |      | 0.53  | 0.21 | 0.044    | 14   |       | 0.26  | 0.32     | 0.105 |
| 0.37 | 0.15  | 0.022 | 0.47     | 0.30 | 0.090 | 0.20 | 0.15     |      |       | 0.024 |          |       |
| -1   | 0.35  | 0.12  | 0.014    | 2    | 0.43  | 0.24 | 0.057    | 15   |       | 0.49  | 0.38     | 0.142 |
|      | 0.36  | 0.14  | 0.019    |      | 0.48  | 0.31 | 0.097    |      |       | 0.36  | 0.29     | 0.082 |
|      | 0.40  | 0.20  | 0.038    |      | 0.40  | 0.20 | 0.040    | 16   |       | 0.19  | 0.14     | 0.019 |
|      | 0.41  | 0.13  | 0.016    |      | 0.44  | 0.31 | 0.098    |      |       | 0.24  | 0.15     | 0.024 |
|      | 0.44  | 0.17  | 0.029    |      | 0.45  | 0.24 | 0.055    | 17   |       | 0.33  | 0.10     | 0.009 |
|      | 0.57  | 0.35  | 0.124    |      | 0.52  | 0.23 | 0.051    |      |       | 0.29  | 0.09     | 0.009 |
|      | 0.68  | 0.41  | 0.172    |      | 0.44  | 0.20 | 0.040    |      |       |       |          |       |
|      | 0.77  | 0.31  | 0.098    |      | 0.50  | 0.24 | 0.056    |      |       |       |          |       |
|      | 0.95  | 0.59  | 0.345    |      | 0.49  | 0.19 | 0.034    |      |       |       |          |       |
|      | 1.43  | 0.76  | 0.584    |      | 0.43  | 0.22 | 0.047    |      |       |       |          |       |
|      | 1.81  | 0.66  | 0.429    |      | 0.50  | 0.27 | 0.073    |      |       |       |          |       |
| 2.36 | 0.67  | 0.453 | 0.53     | 0.21 | 0.043 |      |          |      |       |       |          |       |

TABLA 4.14 Valores medios de LH durante el ciclo estral en cerdas híbridas Jx x IB.

| DIA | MEDIA | D.S. | VARIANZA | DIA | MEDIA | D.S. | VARIANZA | DIA | MEDIA | D.S. | VARIANZA |       |
|-----|-------|------|----------|-----|-------|------|----------|-----|-------|------|----------|-------|
| -3  | 0.49  | 0.18 | 0.032    | 0   | 3.57  | 1.23 | 1.508    | 3   | 0.48  | 0.22 | 0.049    |       |
|     | 0.50  | 0.62 | 0.386    |     | 2.72  | 0.95 | 0.910    |     | 0.36  | 0.19 | 0.038    |       |
|     | 0.36  | 0.33 | 0.107    |     | 2.39  | 0.95 | 0.896    | 4   | 0.30  | 0.18 | 0.031    |       |
|     | 0.35  | 0.18 | 0.031    |     | 1.93  | 0.78 | 0.601    |     | 0.36  | 0.35 | 0.120    |       |
|     | 0.40  | 0.14 | 0.020    |     | 1.82  | 1.07 | 1.155    | 5   | 0.37  | 0.33 | 0.111    |       |
|     | 0.32  | 0.12 | 0.014    |     | 1.25  | 0.49 | 0.243    |     | 0.38  | 0.51 | 0.263    |       |
|     | 0.37  | 0.15 | 0.022    |     | 1.00  | 0.34 | 0.118    | 6   | 0.34  | 0.53 | 0.281    |       |
|     | 0.34  | 0.16 | 0.025    |     | 0.94  | 0.31 | 0.098    |     | 0.16  | 0.15 | 0.023    |       |
|     | 0.34  | 0.25 | 0.061    |     | 0.92  | 0.30 | 0.091    | 7   | 0.67  | 0.57 | 0.328    |       |
|     | 0.38  | 0.22 | 0.048    |     | 0.82  | 0.37 | 0.139    |     | 0.29  | 0.19 | 0.038    |       |
|     | 0.30  | 0.22 | 0.048    |     | 0.59  | 0.21 | 0.044    | 8   | 0.18  | 0.20 | 0.041    |       |
|     | 0.31  | 0.24 | 0.056    |     | 0.60  | 0.26 | 0.066    |     | 0.16  | 0.15 | 0.022    |       |
| -2  | 0.29  | 0.19 | 0.035    | 1   | 0.54  | 0.31 | 0.099    |     | 9     | 0.67 | 0.61     | 0.378 |
|     | 0.50  | 0.32 | 0.103    |     | 0.63  | 0.22 | 0.048    |     |       | 0.83 | 0.81     | 0.650 |
|     | 0.35  | 0.25 | 0.060    |     | 0.60  | 0.38 | 0.143    |     | 10    | 0.47 | 0.42     | 0.175 |
|     | 0.38  | 0.23 | 0.052    |     | 0.62  | 0.23 | 0.052    |     |       | 0.62 | 0.53     | 0.285 |
|     | 0.28  | 0.20 | 0.041    |     | 0.45  | 0.31 | 0.099    |     | 11    | 0.14 | 0.14     | 0.020 |
|     | 0.30  | 0.19 | 0.036    |     | 0.53  | 0.23 | 0.051    |     |       | 0.44 | 0.48     | 0.235 |
|     | 0.38  | 0.23 | 0.055    |     | 0.56  | 0.38 | 0.143    |     | 12    | 0.52 | 0.49     | 0.240 |
|     | 0.46  | 0.39 | 0.153    |     | 0.58  | 0.20 | 0.039    |     |       | 0.21 | 0.24     | 0.057 |
|     | 0.42  | 0.25 | 0.063    |     | 0.50  | 0.30 | 0.087    |     | 13    | 0.08 | 0.07     | 0.004 |
|     | 0.37  | 0.22 | 0.046    |     | 0.64  | 0.27 | 0.072    |     |       | 0.62 | 0.68     | 0.463 |
|     | 0.44  | 0.28 | 0.066    |     | 0.66  | 0.30 | 0.092    | 14  |       | 0.38 | 0.46     | 0.210 |
|     | 0.51  | 0.31 | 0.098    |     | 0.53  | 0.22 | 0.046    |     |       | 0.23 | 0.18     | 0.032 |
| -1  | 0.51  | 0.31 | 0.098    | 2   | 0.43  | 0.21 | 0.046    | 15  |       | 0.24 | 0.29     | 0.085 |
|     | 0.54  | 0.36 | 0.132    |     | 0.65  | 0.25 | 0.062    |     |       | 0.27 | 0.20     | 0.039 |
|     | 0.57  | 0.28 | 0.076    |     | 0.55  | 0.17 | 0.030    | 16  |       | 0.24 | 0.13     | 0.018 |
|     | 0.65  | 0.38 | 0.142    |     | 0.59  | 0.25 | 0.065    |     |       | 0.24 | 0.18     | 0.032 |
|     | 0.56  | 0.31 | 0.098    |     | 0.43  | 0.23 | 0.055    | 17  |       | 0.66 | 0.21     | 0.042 |
|     | 0.79  | 0.43 | 0.184    |     | 0.58  | 0.26 | 0.068    |     |       | 0.45 | 0.23     | 0.054 |
|     | 0.95  | 0.64 | 0.412    |     | 0.38  | 0.25 | 0.060    |     |       |      |          |       |
|     | 1.09  | 0.67 | 0.448    |     | 0.67  | 0.27 | 0.075    |     |       |      |          |       |
|     | 1.32  | 0.48 | 0.231    |     | 0.54  | 0.27 | 0.072    |     |       |      |          |       |
|     | 1.65  | 0.74 | 0.553    |     | 0.47  | 0.23 | 0.053    |     |       |      |          |       |
|     | 2.14  | 1.02 | 1.032    |     | 0.64  | 0.46 | 0.210    |     |       |      |          |       |
|     | 2.68  | 1.05 | 1.102    |     | 0.51  | 0.31 | 0.093    |     |       |      |          |       |



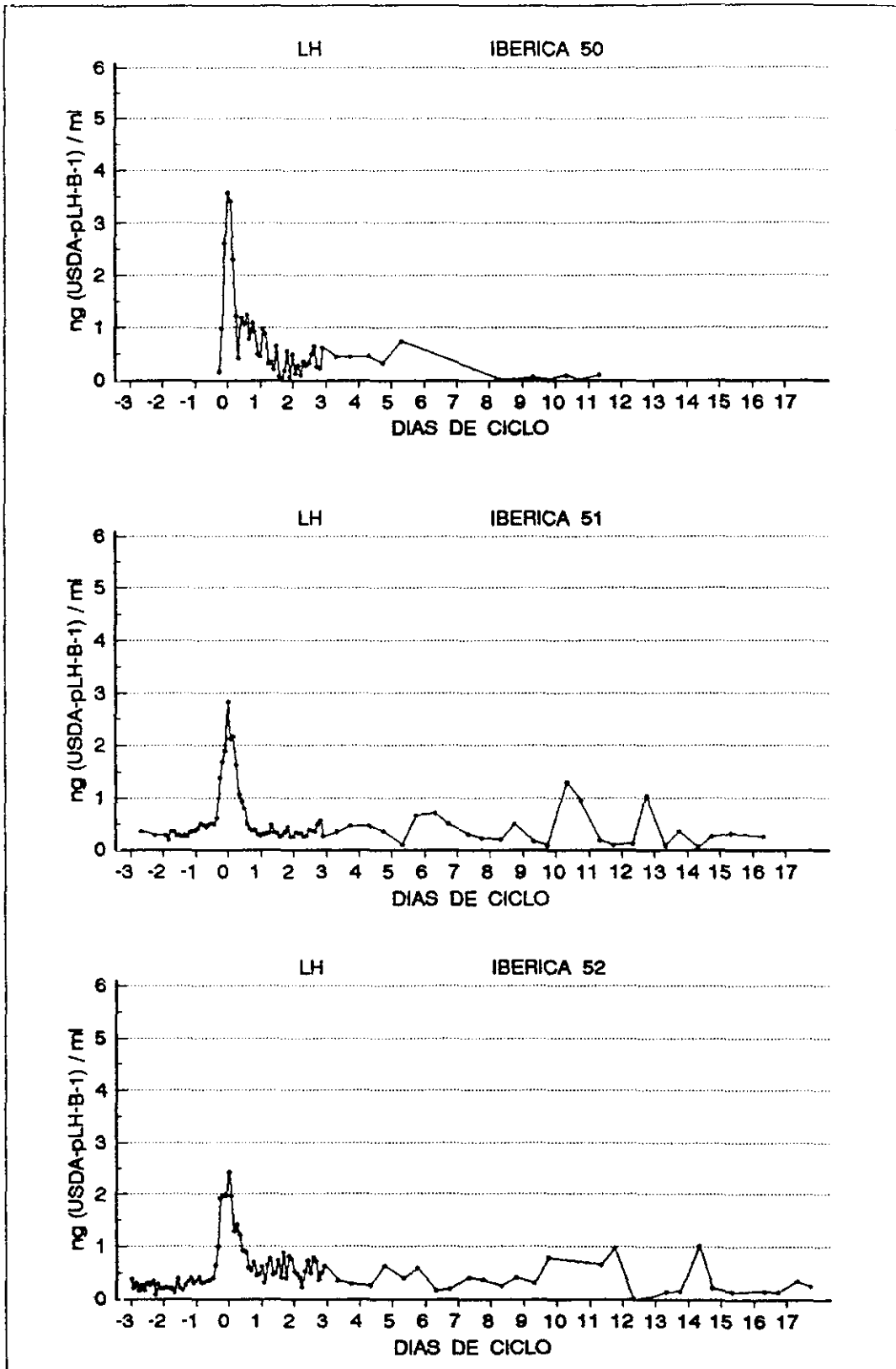


Fig. 4.15 Niveles plasmáticos de LH durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 50, 51 y 52. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

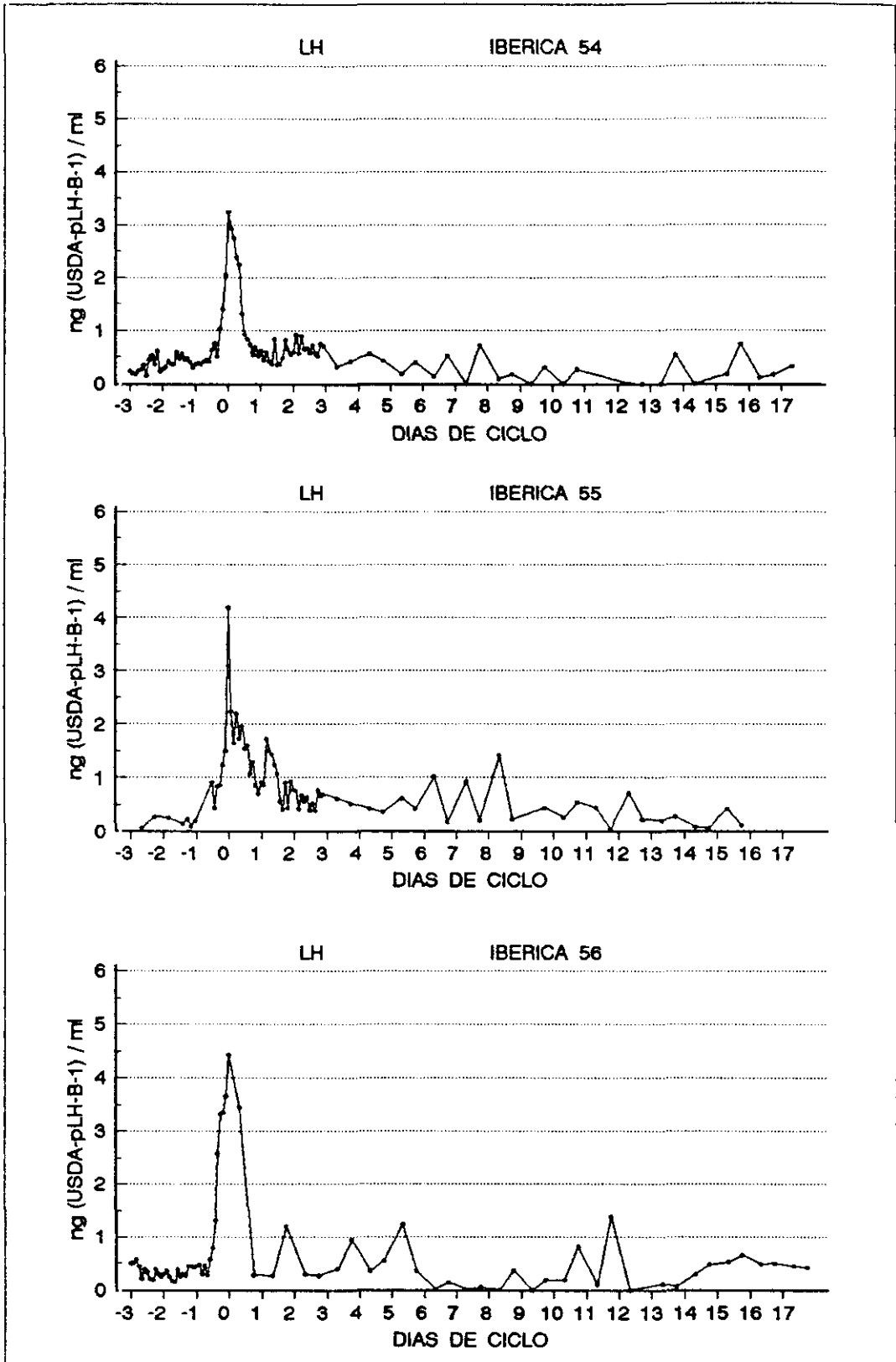


Fig. 4.16 Niveles plasmáticos de LH durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 54, 55 y 56. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

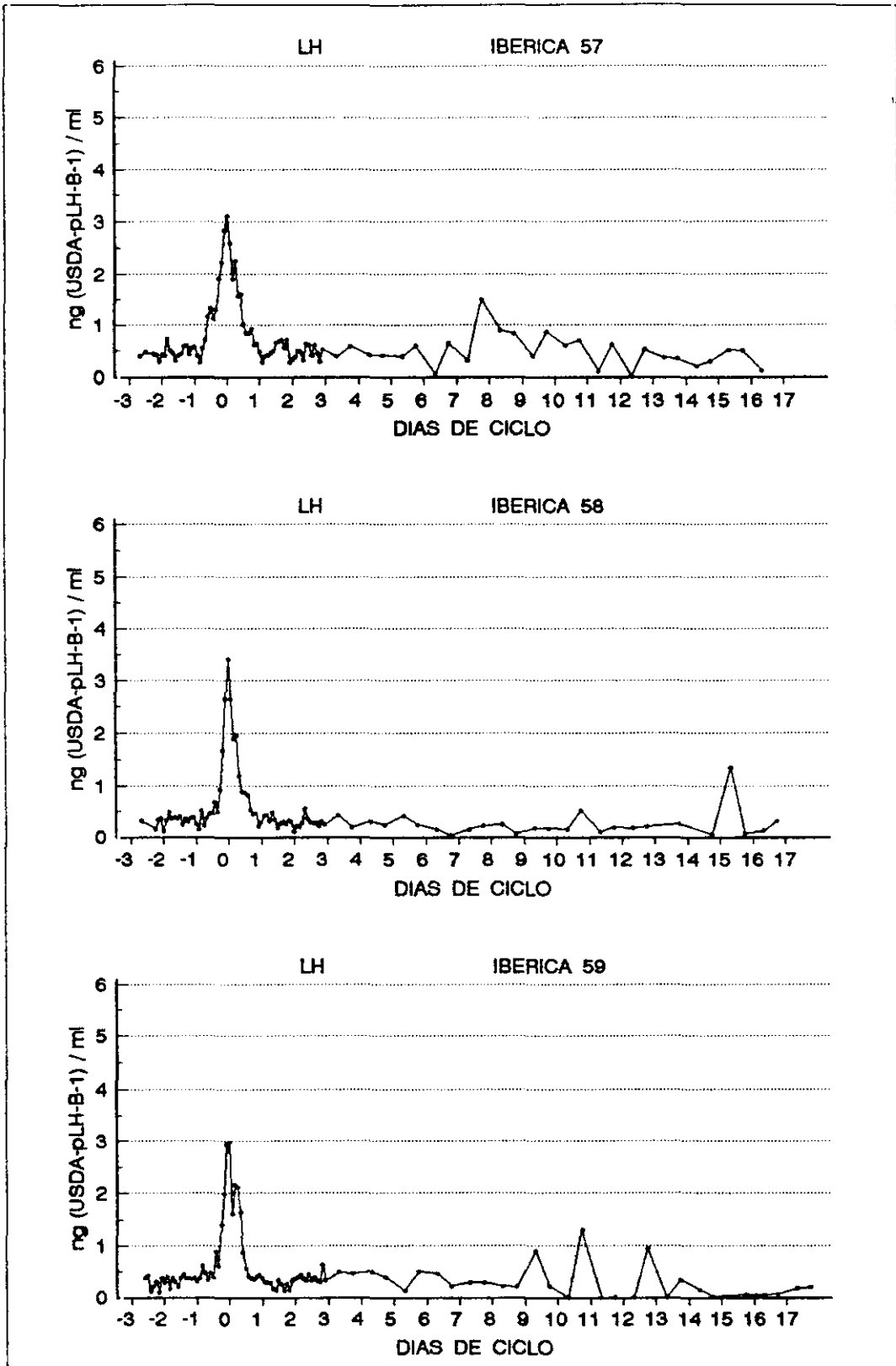


Fig. 4.17 Niveles plasmáticos de LH durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 57, 58 y 59. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

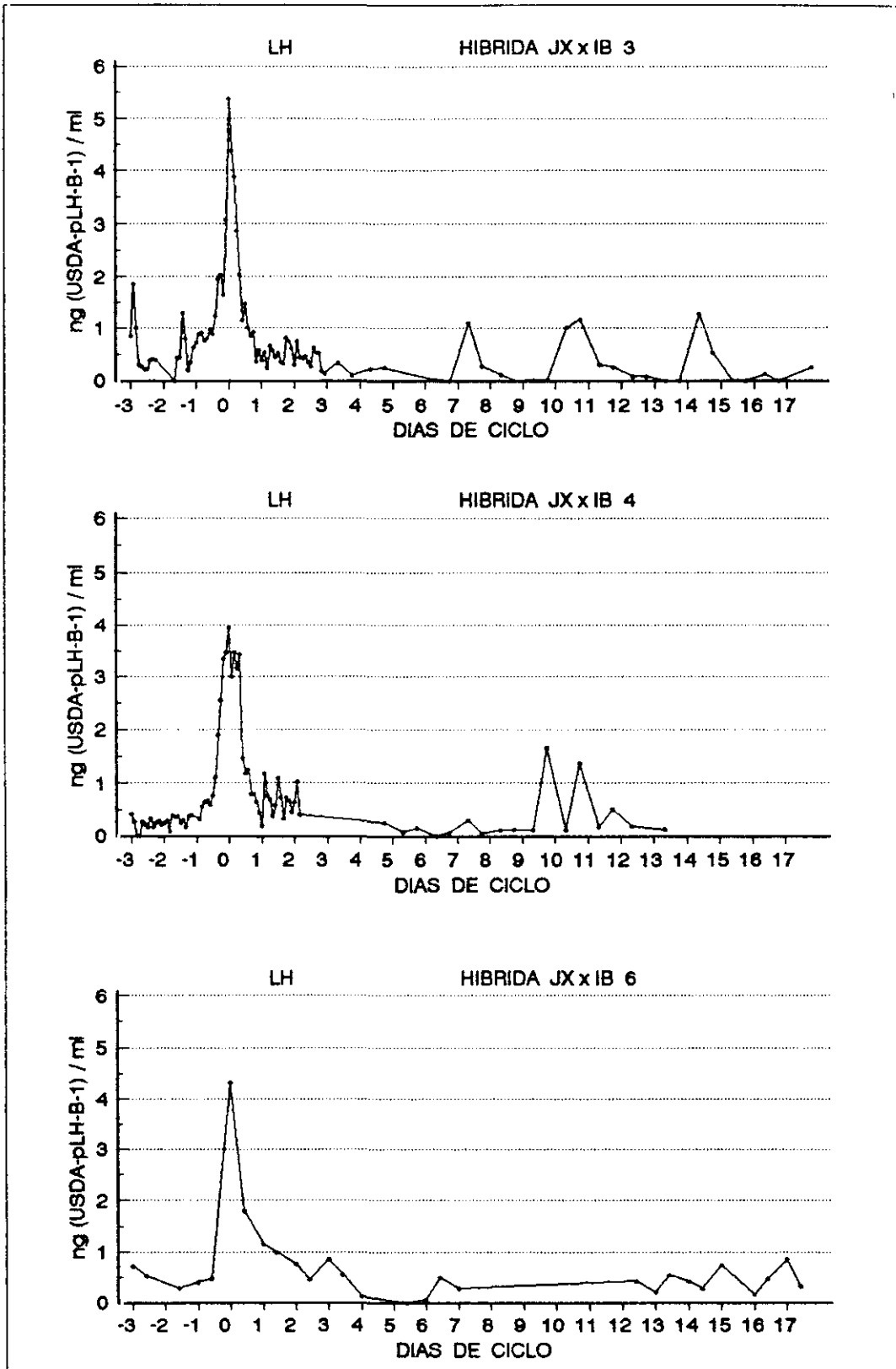


Fig.4.18 Niveles plasmáticos de LH durante el ciclo estrol de las cerdas híbridas 3, 4 y 6. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

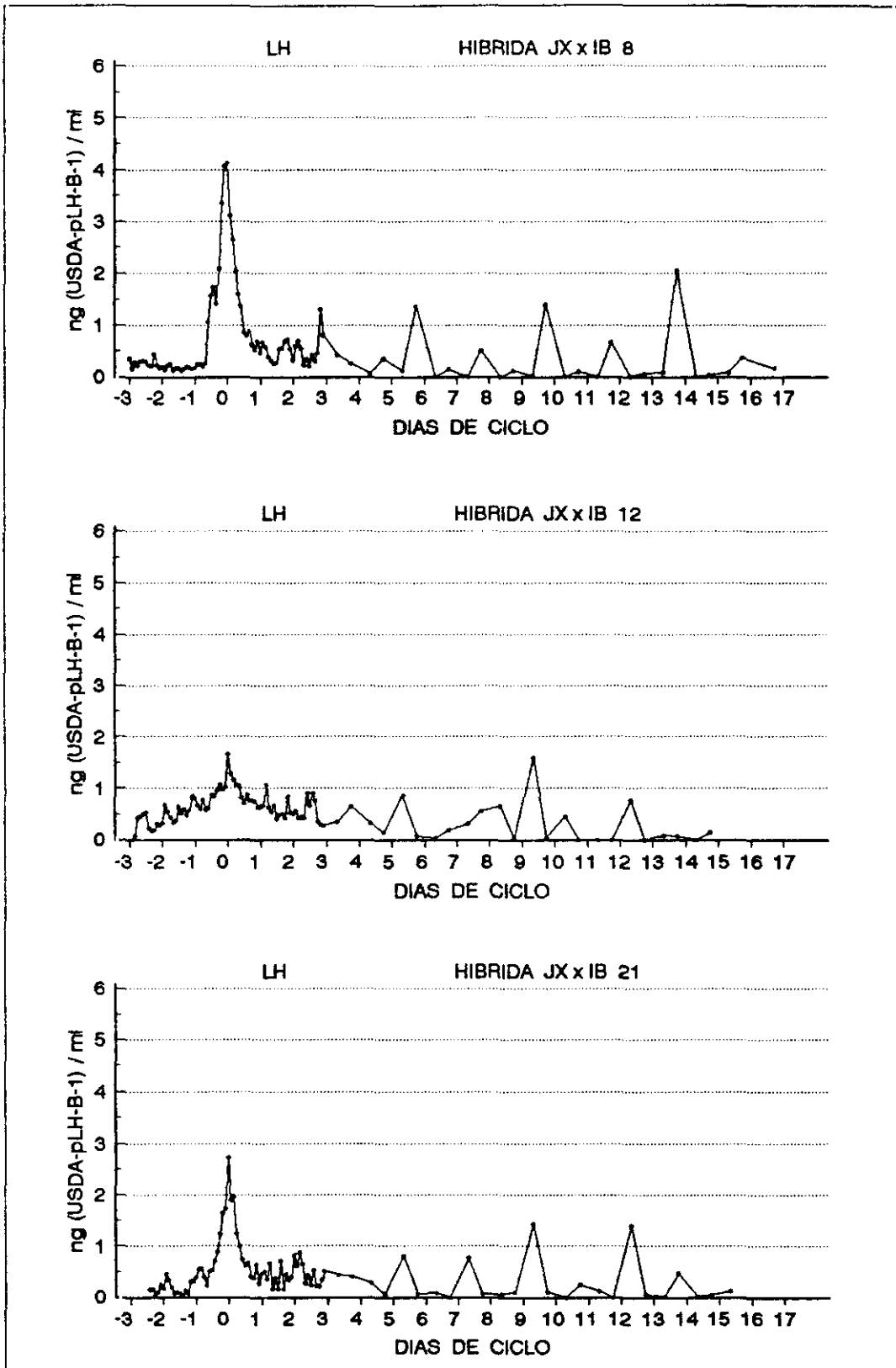


Fig.4.19 Niveles plasmáticos de LH durante el ciclo estrol de las cerdas híbridas 8, 12 y 21. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

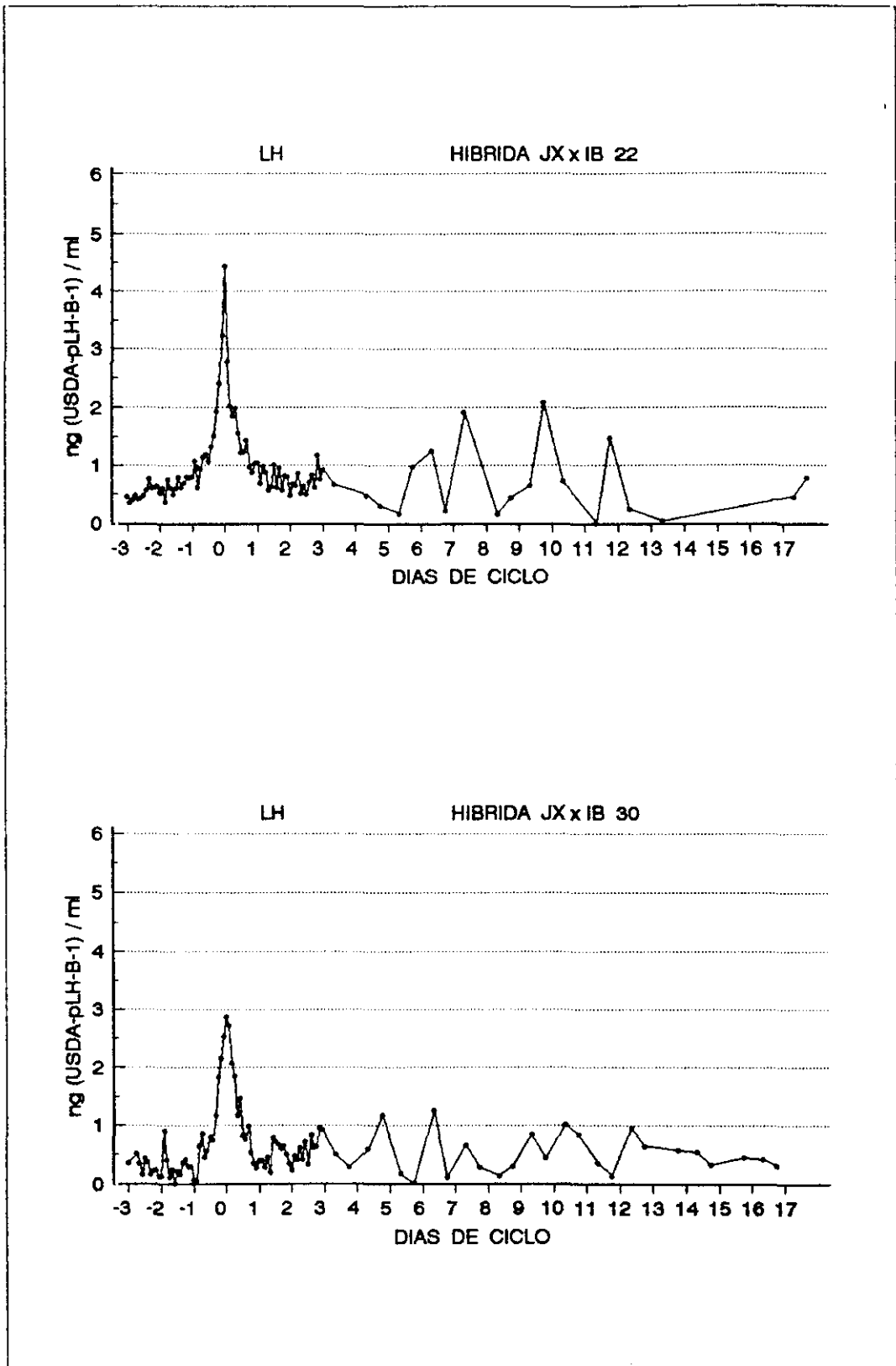


Fig.4.20 Niveles plasmáticos de LH durante el ciclo estral de las cerdas híbridas 22 y 30. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

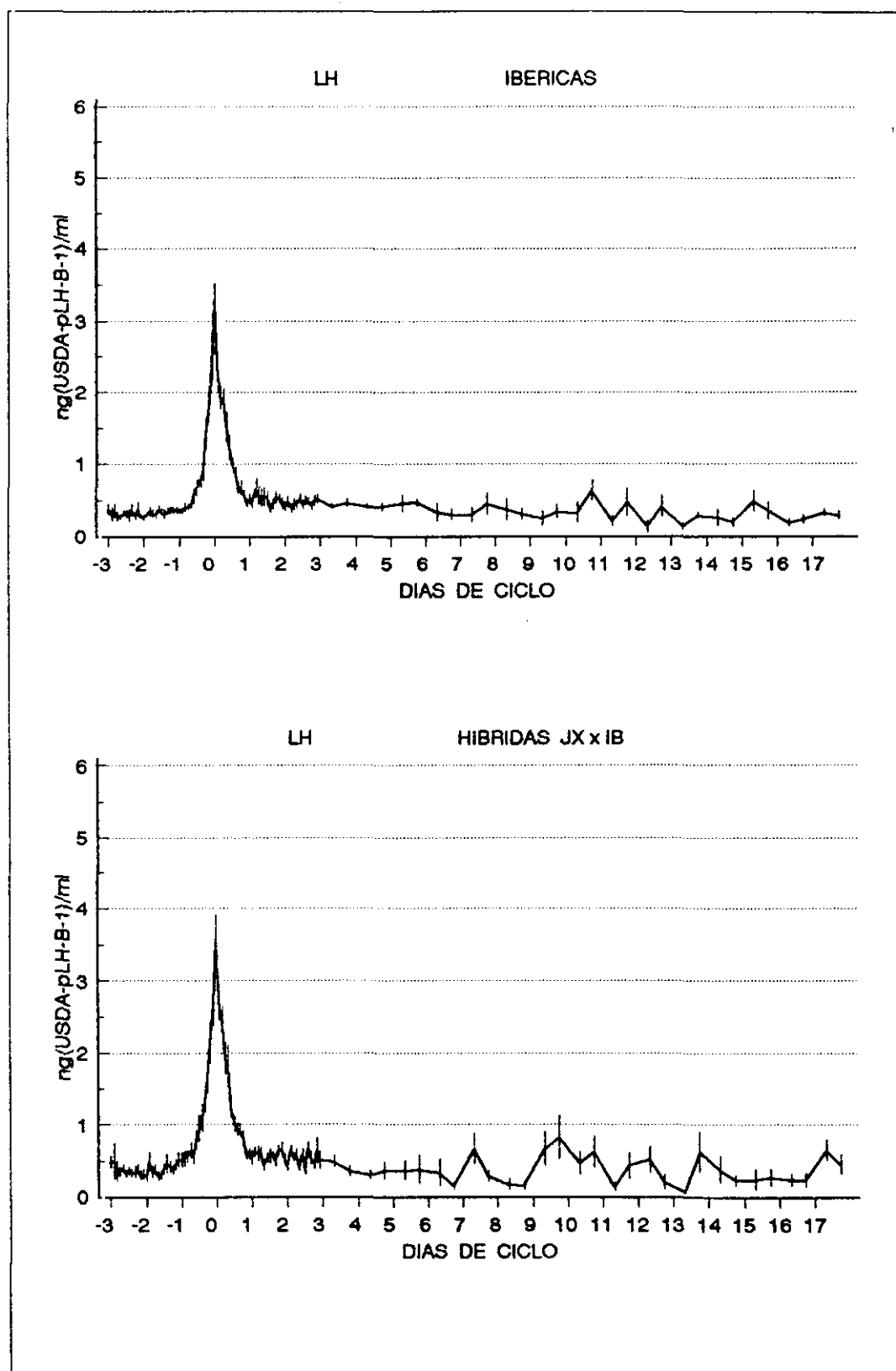


Fig. 4.21. Niveles plasmáticos medios ( $\pm$  E.S.) de LH durante el ciclo estral.

#### 4.4.4 Niveles plasmáticos de la hormona folículo estimulante (FSH)

Los niveles plasmáticos medios en las líneas genéticas estudiadas (Fig. 4.28), se mantienen a nivel basal durante los días previos al pico preovulatorio de LH, siendo mas alto el nivel medio en las cerdas Ibéricas que en las híbridas JX x IB ( $0'4 \pm 0'08$  vs  $0'29 \pm 0'1$ ;  $p < 0'01$ ).

En el día -1 comienzan a elevarse los niveles, en ambas líneas, coincidiendo con el inicio del pico preovulatorio de LH, alcanzando un nivel máximo el día 0 de valor similar ( $0'887$  vs  $0'83$  ng/ml) en 12 y 16 horas las cerdas Ibéricas y JX x IB, respectivamente (Tablas 4.15 y 4.16).

A partir de este punto máximo del pico preovulatorio de FSH, la evolución en la secreción de esta hormona, varía entre las dos líneas de cerdas. En las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica, la secreción de FSH fluctúa alrededor de un nivel medio de  $0'83 \pm 0'08$  ng/ml, durante unas 30 horas, siendo el nivel medio en las cerdas Ibéricas durante este mismo periodo, de  $0'73 \pm 0'13$  ng/ml ( $p < 0'05$ ), ya que después de alcanzar el valor máximo del pico preovulatorio, el nivel desciende durante unas 14 horas hasta un valor de  $0'54$  ng/ml para volver a ascender de nuevo.

El pico secundario de FSH, comienza 24 horas después del máximo nivel del pico preovulatorio de LH en las cerdas Ibéricas, alcanzando en aproximadamente 6 horas el nivel de  $0'84$  ng/ml, similar al nivel medio de las cerdas híbridas JX x IB, en ese momento y a continuación, seguir aumentando hasta



un nivel fluctuante alrededor de  $1.16 \pm 0.07$  ng/ml mientras que en las cerdas híbridas JX x IB es de  $1.13 \pm 0.12$  ng/ml.

Esta elevación secundaria de FSH se mantiene en los niveles altos desde la mitad del día 1 hasta el final del día 2, en ambas líneas genéticas. A partir del día 3, los niveles van descendiendo a lo largo de los días restantes del ciclo estral, siendo más uniforme en las cerdas Ibéricas, manteniendo un nivel más alto que las cerdas híbridas JX x IB ( $0.93 \pm 0.17$  vs  $0.7 \pm 0.19$  ng/ml;  $p < 0.01$ ).

Desde la figura 4.22 hasta la 4.27, se representan los niveles de FSH individuales durante el ciclo estral. En la figura 4.29 se representan los niveles plasmáticos de las cuatro hormonas estudiadas a lo largo del ciclo estral en ambas líneas genéticas.

TABLA 4.15 Valores medios de FSH durante el ciclo estral en cerdas Ibéricas.

| DIA  | MEDIA | D.S.  | VARIANZA | DIA  | MEDIA | D.S. | VARIANZA | DIA  | MEDIA | D.S.  | VARIANZA |       |
|------|-------|-------|----------|------|-------|------|----------|------|-------|-------|----------|-------|
| -3   | 0.45  | 0.22  | 0.048    | 0    | 0.72  | 0.28 | 0.076    | 3    | 1.01  | 0.33  | 0.107    |       |
|      | 0.61  | 0.23  | 0.054    |      | 0.86  | 0.42 | 0.173    |      | 1.06  | 0.24  | 0.057    |       |
|      | 0.64  | 0.26  | 0.067    |      | 0.89  | 0.59 | 0.350    | 4    | 1.11  | 0.25  | 0.062    |       |
|      | 0.31  | 0.21  | 0.044    |      | 0.78  | 0.34 | 0.116    |      | 0.97  | 0.34  | 0.117    |       |
|      | 0.35  | 0.19  | 0.034    |      | 0.80  | 0.24 | 0.059    | 5    | 0.94  | 0.32  | 0.103    |       |
|      | 0.36  | 0.18  | 0.033    |      | 0.75  | 0.31 | 0.095    |      | 1.03  | 0.44  | 0.197    |       |
|      | 0.52  | 0.33  | 0.107    |      | 0.68  | 0.22 | 0.047    | 6    | 0.81  | 0.37  | 0.135    |       |
|      | 0.41  | 0.12  | 0.015    |      | 0.67  | 0.36 | 0.130    |      | 1.00  | 0.39  | 0.150    |       |
|      | 0.25  | 0.17  | 0.029    |      | 0.56  | 0.25 | 0.064    | 7    | 0.96  | 0.34  | 0.113    |       |
|      | 0.43  | 0.13  | 0.017    |      | 0.54  | 0.24 | 0.057    |      | 0.93  | 0.40  | 0.161    |       |
|      | 0.33  | 0.18  | 0.031    |      | 0.60  | 0.23 | 0.052    | 8    | 1.01  | 0.47  | 0.225    |       |
| 0.47 | 0.23  | 0.053 | 0.56     | 0.23 | 0.055 | 0.99 | 0.46     |      | 0.210 |       |          |       |
| -2   | 0.42  | 0.18  | 0.032    | 1    | 0.62  | 0.23 | 0.053    |      | 9     | 0.82  | 0.32     | 0.105 |
|      | 0.44  | 0.17  | 0.029    |      | 0.75  | 0.31 | 0.095    |      |       | 0.92  | 0.52     | 0.275 |
|      | 0.41  | 0.18  | 0.031    |      | 0.84  | 0.30 | 0.089    |      | 10    | 1.16  | 0.33     | 0.112 |
|      | 0.47  | 0.17  | 0.029    |      | 0.84  | 0.28 | 0.078    |      |       | 0.98  | 0.31     | 0.094 |
|      | 0.48  | 0.18  | 0.033    |      | 0.88  | 0.20 | 0.038    |      | 11    | 1.05  | 0.28     | 0.077 |
|      | 0.41  | 0.18  | 0.032    |      | 0.97  | 0.29 | 0.083    |      |       | 0.92  | 0.27     | 0.075 |
|      | 0.39  | 0.22  | 0.047    |      | 1.03  | 0.30 | 0.088    |      | 12    | 1.04  | 0.45     | 0.200 |
|      | 0.40  | 0.20  | 0.040    |      | 1.12  | 0.34 | 0.113    |      |       | 1.33  | 0.40     | 0.160 |
|      | 0.36  | 0.22  | 0.051    |      | 1.14  | 0.36 | 0.132    |      | 13    | 0.93  | 0.30     | 0.088 |
|      | 0.37  | 0.18  | 0.033    |      | 1.15  | 0.34 | 0.114    | 0.91 |       | 0.31  | 0.098    |       |
|      | 0.29  | 0.22  | 0.047    |      | 1.07  | 0.24 | 0.059    | 14   |       | 0.91  | 0.45     | 0.207 |
| 0.38 | 0.26  | 0.066 | 1.17     | 0.29 | 0.083 | 0.78 | 0.37     |      |       | 0.134 |          |       |
| -1   | 0.31  | 0.20  | 0.041    | 2    | 1.11  | 0.22 | 0.050    | 15   |       | 0.91  | 0.46     | 0.211 |
|      | 0.40  | 0.30  | 0.087    |      | 1.23  | 0.26 | 0.069    |      |       | 0.92  | 0.43     | 0.181 |
|      | 0.32  | 0.33  | 0.107    |      | 1.21  | 0.39 | 0.148    | 16   |       | 0.92  | 0.36     | 0.126 |
|      | 0.35  | 0.16  | 0.027    |      | 1.09  | 0.27 | 0.070    |      |       | 0.59  | 0.24     | 0.060 |
|      | 0.32  | 0.18  | 0.031    |      | 1.14  | 0.30 | 0.088    | 17   |       | 0.58  | 0.22     | 0.047 |
|      | 0.40  | 0.25  | 0.061    |      | 1.24  | 0.22 | 0.049    |      |       | 0.49  | 0.22     | 0.049 |
|      | 0.40  | 0.23  | 0.053    |      | 1.19  | 0.33 | 0.108    |      |       |       |          |       |
|      | 0.46  | 0.25  | 0.062    |      | 1.20  | 0.32 | 0.104    |      |       |       |          |       |
|      | 0.47  | 0.21  | 0.045    |      | 1.26  | 0.34 | 0.116    |      |       |       |          |       |
|      | 0.61  | 0.22  | 0.048    |      | 1.17  | 0.38 | 0.143    |      |       |       |          |       |
|      | 0.56  | 0.21  | 0.044    |      | 1.27  | 0.26 | 0.067    |      |       |       |          |       |
| 0.73 | 0.31  | 0.094 | 1.18     | 0.40 | 0.156 |      |          |      |       |       |          |       |

TABLA 4.16 Valores medios de FSH durante el ciclo estral en cerdas híbridas JX x IB.

| DIA | MEDIA | D.S. | VARIANZA | DIA | MEDIA | D.S. | VARIANZA | DIA | MEDIA | D.S. | VARIANZA |
|-----|-------|------|----------|-----|-------|------|----------|-----|-------|------|----------|
| -3  | 0.42  | 0.26 | 0.065    | 0   | 0.79  | 0.69 | 0.479    | 3   | 0.95  | 0.41 | 0.169    |
|     | 0.42  | 0.39 | 0.154    |     | 0.86  | 0.86 | 0.736    |     | 0.95  | 0.61 | 0.378    |
|     | 0.26  | 0.29 | 0.086    |     | 0.87  | 0.78 | 0.611    | 4   | 0.90  | 0.74 | 0.541    |
|     | 0.40  | 0.40 | 0.162    |     | 0.75  | 0.71 | 0.505    |     | 0.68  | 0.65 | 0.425    |
|     | 0.31  | 0.24 | 0.059    |     | 0.72  | 0.49 | 0.239    | 5   | 0.59  | 0.22 | 0.049    |
|     | 0.14  | 0.14 | 0.021    |     | 0.85  | 0.54 | 0.292    |     | 0.42  | 0.22 | 0.049    |
|     | 0.18  | 0.23 | 0.052    |     | 0.90  | 0.45 | 0.201    | 6   | 0.70  | 0.33 | 0.111    |
|     | 0.30  | 0.55 | 0.306    |     | 0.84  | 0.52 | 0.266    |     | 0.74  | 0.32 | 0.099    |
|     | 0.40  | 0.58 | 0.332    |     | 0.80  | 0.54 | 0.294    | 7   | 0.91  | 0.77 | 0.590    |
|     | 0.32  | 0.58 | 0.337    |     | 0.67  | 0.50 | 0.248    |     | 0.59  | 0.14 | 0.019    |
|     | 0.39  | 0.45 | 0.201    |     | 0.84  | 0.68 | 0.457    | 8   | 0.54  | 0.23 | 0.055    |
|     | 0.25  | 0.36 | 0.127    |     | 0.94  | 0.78 | 0.610    |     | 0.77  | 0.48 | 0.228    |
| -2  | 0.13  | 0.17 | 0.028    | 1   | 0.91  | 0.83 | 0.685    | 9   | 1.06  | 1.12 | 1.248    |
|     | 0.12  | 0.17 | 0.030    |     | 0.82  | 0.67 | 0.453    |     | 1.05  | 1.11 | 1.223    |
|     | 0.19  | 0.28 | 0.076    |     | 0.71  | 0.52 | 0.273    | 10  | 0.88  | 0.54 | 0.293    |
|     | 0.24  | 0.37 | 0.139    |     | 0.93  | 0.83 | 0.693    |     | 0.80  | 0.72 | 0.512    |
|     | 0.12  | 0.20 | 0.038    |     | 0.79  | 0.46 | 0.212    | 11  | 0.80  | 0.68 | 0.457    |
|     | 0.30  | 0.49 | 0.239    |     | 0.89  | 0.57 | 0.320    |     | 0.80  | 0.69 | 0.471    |
|     | 0.17  | 0.27 | 0.071    |     | 1.06  | 0.75 | 0.563    | 12  | 0.53  | 0.46 | 0.211    |
|     | 0.22  | 0.33 | 0.109    |     | 1.08  | 0.83 | 0.681    |     | 0.87  | 0.73 | 0.533    |
|     | 0.16  | 0.28 | 0.081    |     | 1.03  | 0.91 | 0.823    | 13  | 0.43  | 0.30 | 0.089    |
|     | 0.20  | 0.28 | 0.081    |     | 1.06  | 0.70 | 0.492    |     | 0.80  | 0.52 | 0.269    |
|     | 0.21  | 0.30 | 0.089    |     | 1.23  | 0.90 | 0.816    | 14  | 0.62  | 0.39 | 0.152    |
|     | 0.31  | 0.40 | 0.159    |     | 0.97  | 0.76 | 0.573    |     | 0.79  | 0.62 | 0.383    |
| -1  | 0.26  | 0.32 | 0.105    | 2   | 1.12  | 0.51 | 0.256    | 15  | 0.53  | 0.39 | 0.150    |
|     | 0.40  | 0.41 | 0.170    |     | 1.31  | 0.86 | 0.745    |     | 0.46  | 0.33 | 0.110    |
|     | 0.42  | 0.43 | 0.186    |     | 1.30  | 0.88 | 0.781    | 16  | 0.53  | 0.36 | 0.129    |
|     | 0.54  | 0.52 | 0.275    |     | 1.04  | 0.81 | 0.376    |     | 0.37  | 0.20 | 0.040    |
|     | 0.35  | 0.34 | 0.119    |     | 1.31  | 0.68 | 0.464    | 17  | 0.53  | 0.30 | 0.089    |
|     | 0.39  | 0.37 | 0.137    |     | 1.12  | 0.59 | 0.347    |     | 0.58  | 0.39 | 0.148    |
|     | 0.30  | 0.26 | 0.065    |     | 1.18  | 0.69 | 0.481    |     |       |      |          |
|     | 0.31  | 0.25 | 0.062    |     | 1.24  | 0.70 | 0.489    |     |       |      |          |
|     | 0.31  | 0.23 | 0.052    |     | 1.27  | 0.49 | 0.236    |     |       |      |          |
|     | 0.53  | 0.44 | 0.194    |     | 0.97  | 0.40 | 0.160    |     |       |      |          |
|     | 0.47  | 0.45 | 0.204    |     | 1.04  | 0.48 | 0.227    |     |       |      |          |
|     | 0.55  | 0.42 | 0.178    |     | 1.27  | 0.89 | 0.797    |     |       |      |          |

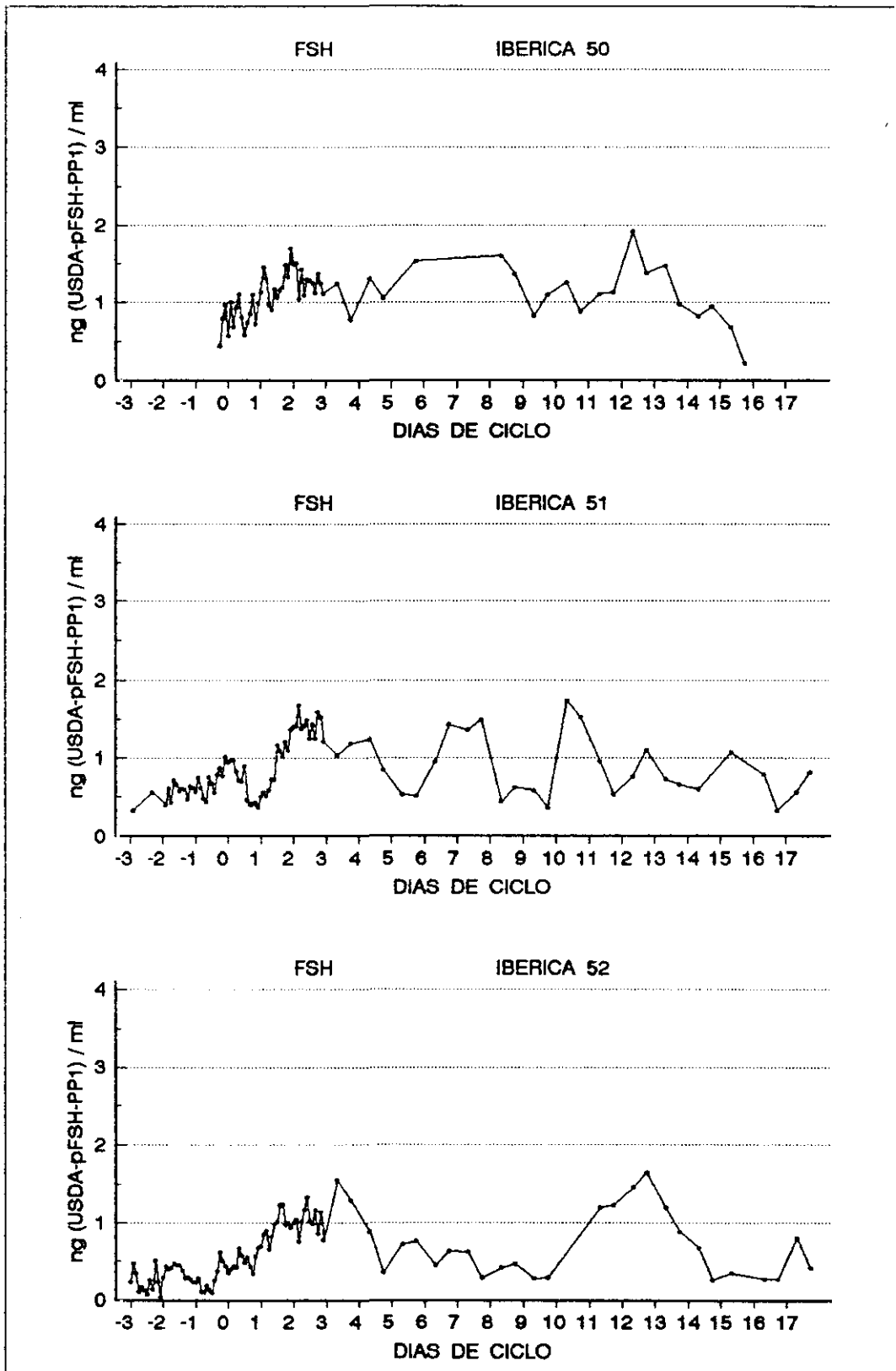


Fig. 4.22 Niveles plasmáticos de FSH durante el ciclo estral de las cerdas ibéricas 50, 51 y 52. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

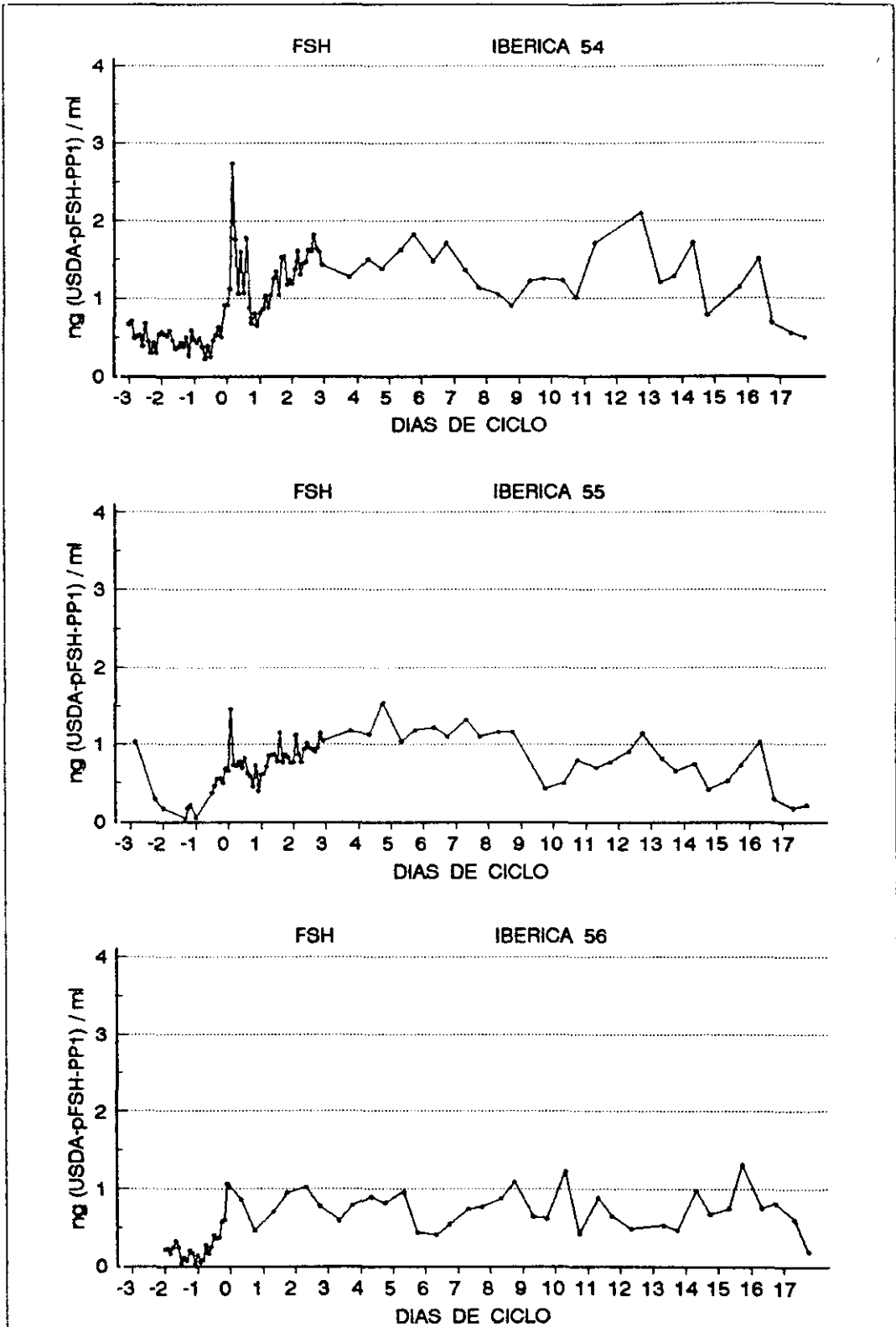


Fig.4.23 Niveles plasmáticos de FSH durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 54, 55 y 56. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

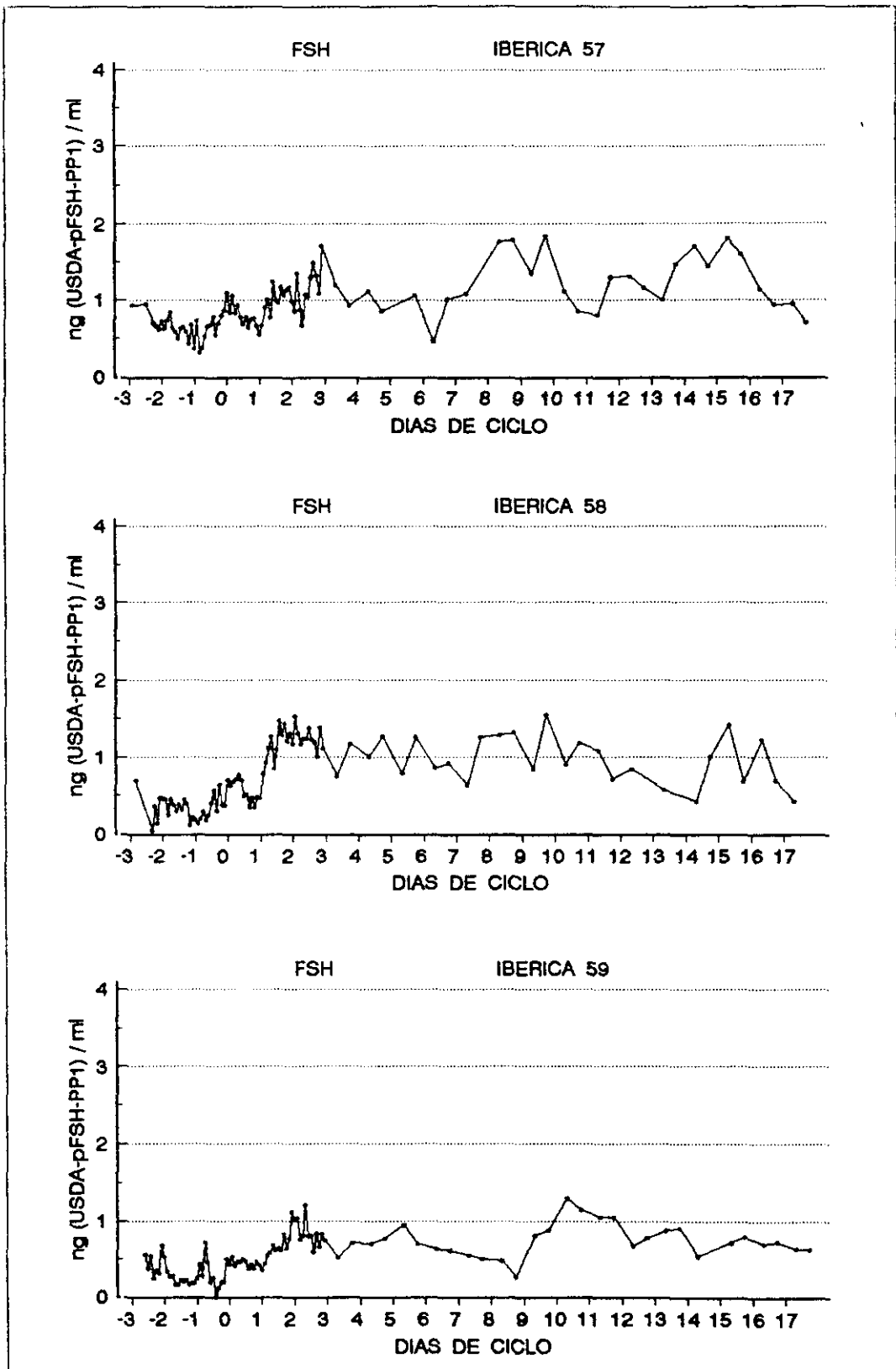


Fig. 4.24 Niveles plasmáticos de FSH durante el ciclo estral de las cerdas Ibéricas 57, 58 y 59. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

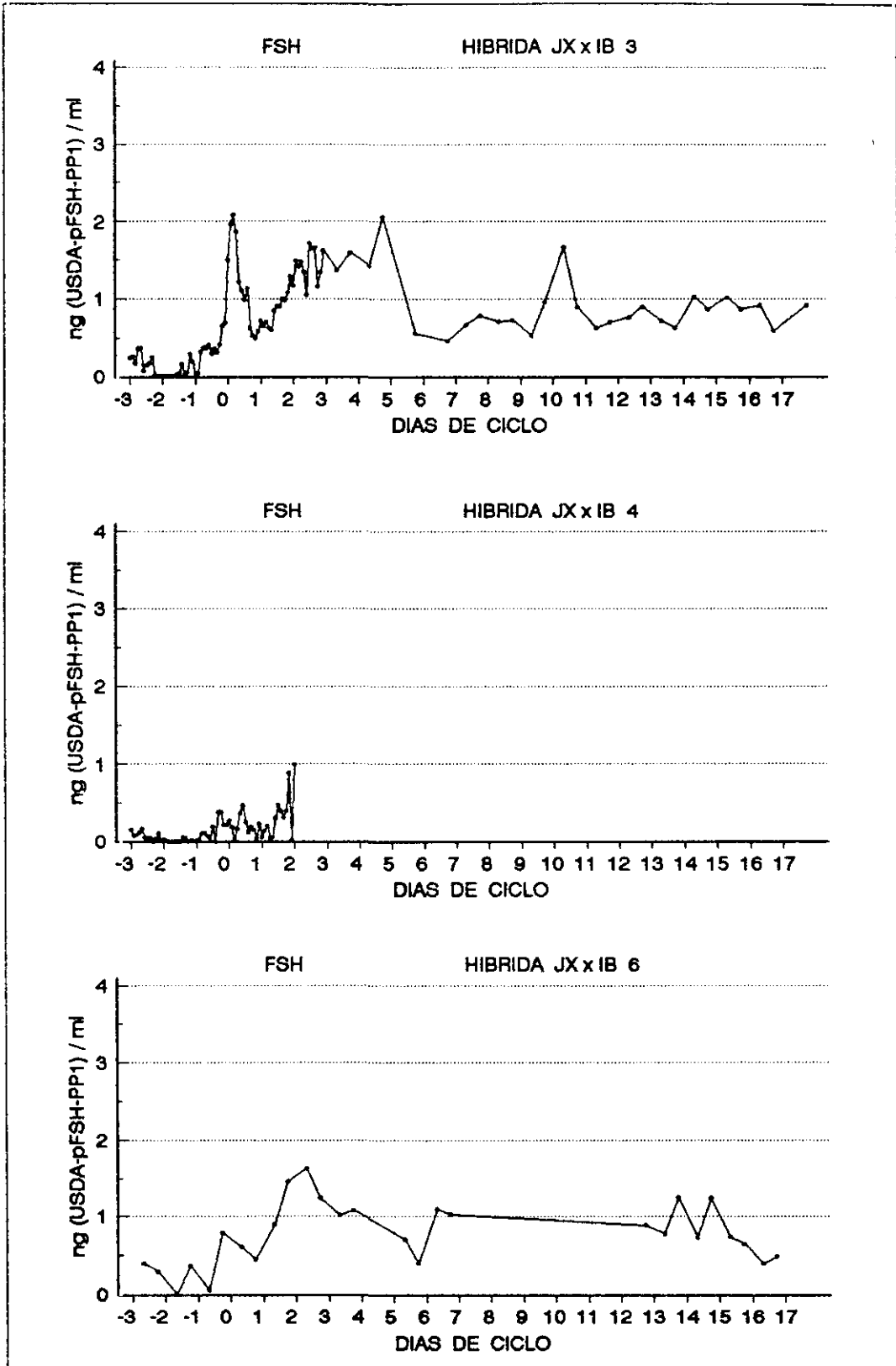


Fig. 4.25 Niveles plasmáticos de FSH durante el ciclo estrol de las cerdas híbridas 3, 4 y 6. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

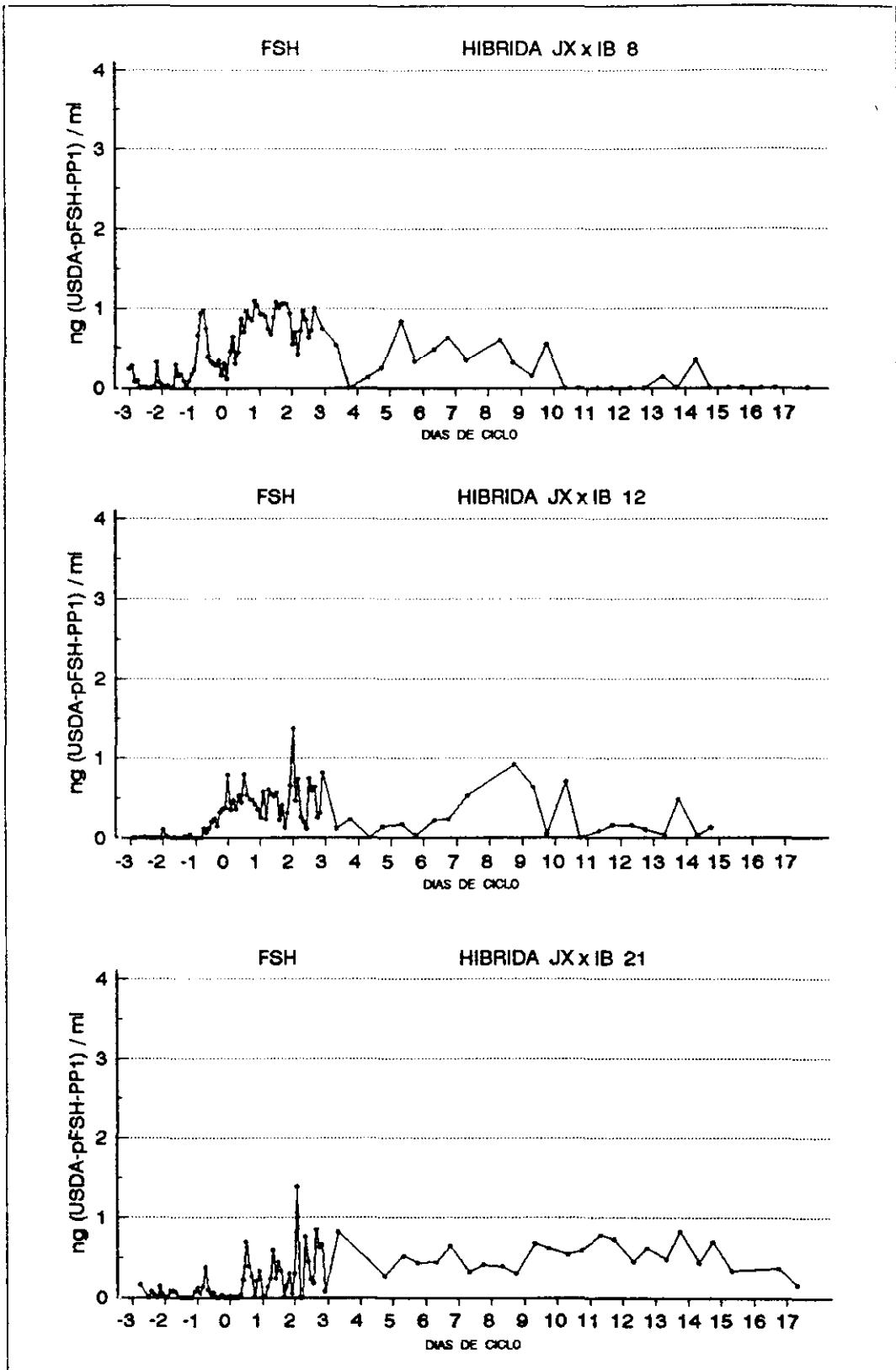


Fig.4.26 Niveles plasmáticos de FSH durante el ciclo estral de las cerdas híbridas 8, 12 y 21. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)



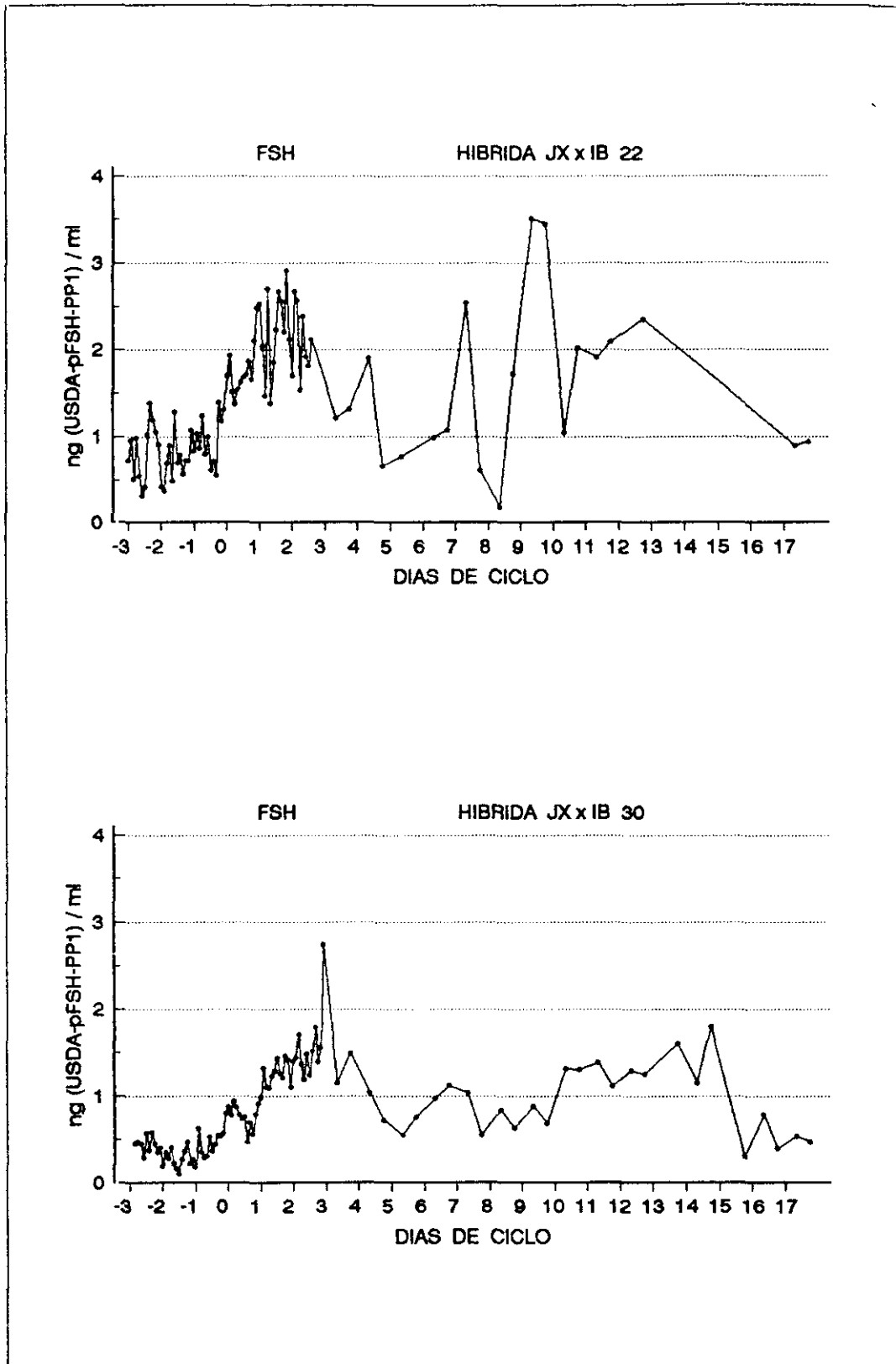


fig. 4.27 Niveles plasmáticos de FSH durante el ciclo estral de la cerdas híbridas 22 y 30. (día 0: Máximo nivel del pico preovulatorio de LH)

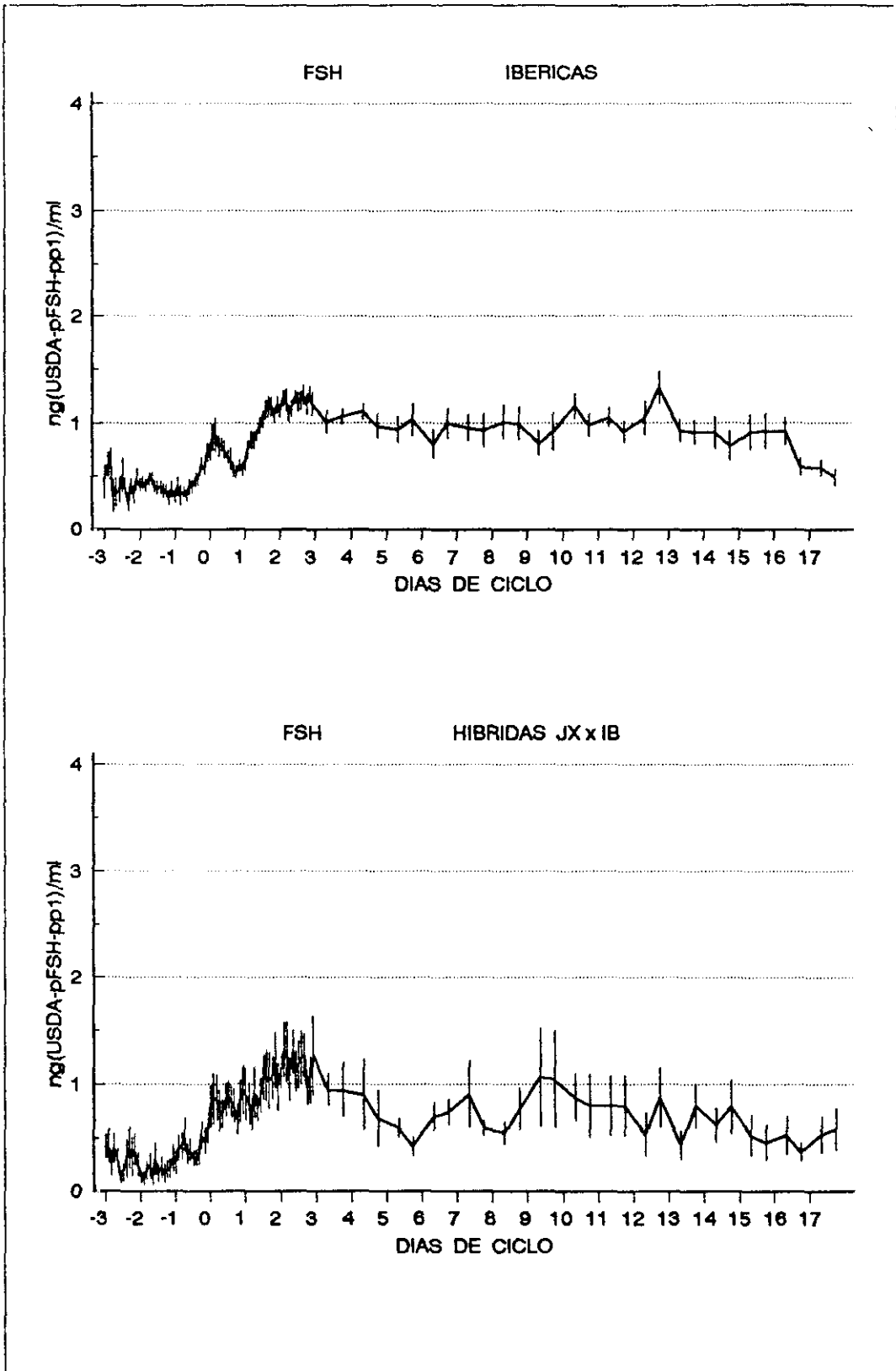


Fig. 4.28. Niveles plasmáticos medios ( $\pm$  E.S.) de FSH durante el ciclo estral.

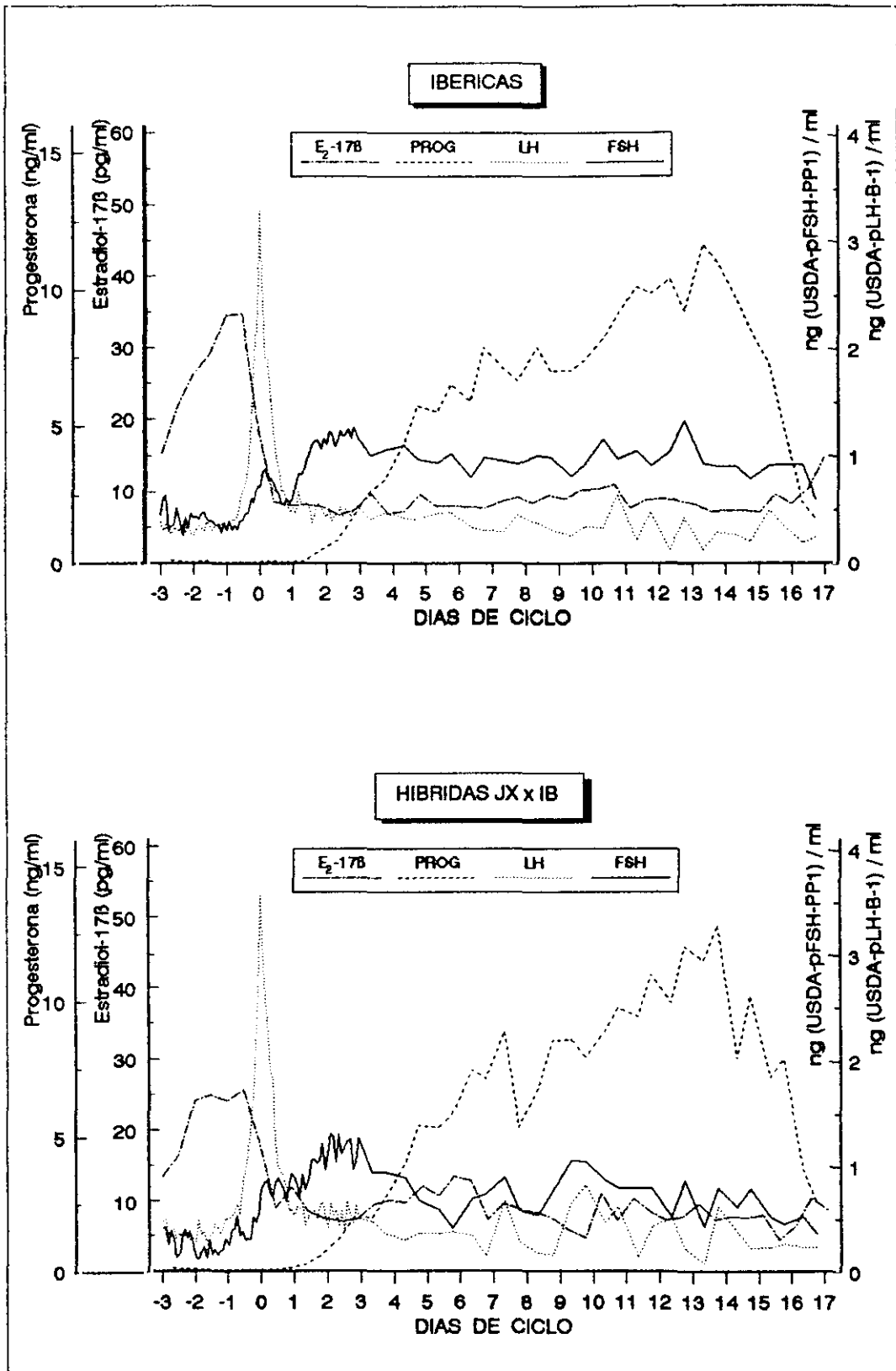


Fig. 4.29 Niveles plasmáticos de progesterona, estradiol-17β, LH y FSH durante el ciclo estral en la cerda ibérica y su cruce con la raza Jixing black.

## **DISCUSSION**

## 5. DISCUSION

### 5.1 Edad al inicio de la pubertad

En las cerdas de raza Ibérica, la edad media del inicio de la pubertad ( $210 \pm 16'04$  días), determinada a través del verraco, es similar a la encontrada en otras razas occidentales (Bazer y col., 1988a; Dalin y Einarsson, 1986; Bolet y col., 1986).

En todos los estudios consultados sobre la edad de aparición de la pubertad en cerdas de razas chinas de alta prolificidad y sus híbridas, comparándolas con razas occidentales, obtienen una edad significativamente mas precoz para las razas orientales, al igual que en sus híbridas (Legault y Caritez, 1982, 1983; Cheng, 1983; Shiging y col., 1983; Prunier y Chopineau, 1990; Canope y col., 1990).

En nuestro estudio, coincidimos con estos resultados, al haber obtenido una edad media de las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica, al inicio de la pubertad, frente al verraco ( $133'6 \pm 10'86$  días) significativamente menor ( $p < 0'01$ ) que en las cerdas Ibéricas ( $210 \pm 16'04$  días).

Determinando el inicio de la pubertad a través de los niveles plasmáticos de progesterona, igualmente, se obtuvo una edad significativamente menor ( $p < 0'01$ ) en las cerdas híbridas JX x IB, que en las cerdas Ibéricas ( $131'4 \pm 8'46$  vs  $212'1 \pm 9'86$  días). Es de destacar, que la reacción de inmovilidad frente al verraco, tan solo la demostraron 5 de 10 cerdas

Ibéricas, pese a tener funcionalidad ovárica, como lo demuestran los niveles plasmáticos de progesterona.

## 5.2 Duración del ciclo estral y celo

La duración media del ciclo estral en nuestro estudio, es prácticamente igual en las dos líneas estudiadas. Otros estudios con razas chinas y sus híbridas, coinciden con nuestro trabajo sin encontrar diferencias significativas al compararlas con razas occidentales (Rombauts y col., 1982; Cheng, 1983; Biggs y col., 1990), aunque Bazer y col., (1988a) describen una duración del ciclo estral en las cerdas chinas algo mas corto que en las razas occidentales, pero sin haber diferencias significativas.

En cuanto a la duración del celo, considerandolo como el tiempo en que la hembra permanece receptiva frente al macho, nuestros resultados indican una tendencia a ser mayor en las cerdas JX x IB frente a las cerdas Ibéricas ( $2'63 \pm 0'58$  vs  $2'33 \pm 0'66$  días), aunque sin ser significativo.

Estos resultados, coinciden con los obtenidos por otros autores (Rombauts y col., 1982; Bazer y col., 1988a) al describir una mayor duración del periodo de celo para las cerdas chinas y sus híbridas, en comparación con las razas occidentales, pero sin llegar a ser significativas las diferencias, aunque Ellendorf y col., (1988), si encontraron un periodo mayor (75 vs 44 horas) entre la cerda Meishan y la cerda Large White, en la duración del celo ( $p < 0'001$ ).

### 5.3 Niveles plasmáticos de progesterona

En general, los niveles plasmáticos de progesterona obtenidos durante el ciclo estral, tanto en cerdas Ibéricas como en su cruce con la cerda Jiaxing black, coinciden con los perfiles descritos por la mayoría de autores (Masuda y col., 1967; Stabenfeldt y col., 1969; Tillson y col., 1970; Edqvist y Lamm, 1971; Henricks y col., 1972; Guthrie y col., 1972; Van de Wiel y col., 1981; Henderson y col., 1985; Martínez y col., 1985).

La variación que existe entre los valores alcanzados por la progesterona durante el ciclo estral, descritos por otros autores (Stabenfeldt y col., 1969; Guthrie y col., 1972), puede ser debida a las distintas técnicas utilizadas. Igualmente, el momento en que se producen las variaciones de la curva de progesterona, pueden diferir de otros trabajos, ya que en nuestro estudio, el ciclo estral, está normalizado al nivel máximo del pico preovulatorio de LH, mientras que otros autores han definido el día 0 del ciclo estral, al primer día en que la cerda muestra la reacción de inmovilidad frente al verraco.

El tiempo que tardan en comenzar los cuerpos lúteos su actividad desde que se produce el máximo nivel del pico preovulatorio de LH, al igual que el tiempo que tardan en alcanzar los niveles altos, es algo menor en las cerdas Ibéricas que en las híbridas JX x IB ( $44'85 \pm 5'59$  vs  $62'16 \pm 9'11$  y  $54'7 \pm 6'36$  vs  $68'16 \pm 10'08$ ), pero sin existir diferencia significativa.

Parvizi y col., (1976), describen el inicio del aumento de los niveles de progesterona, a las 48 horas después del pico preovulatorio de LH, coincidiendo con Niwa y col. (1981), Van de Wiel y col., (1981), trabajando con cerdas de razas occidentales y con Martínez y col., (1985a), en cerdas Ibéricas. Nuestros resultados obtenidos a través de las rectas de regresión, en las cerdas Ibéricas, coinciden con los de estos autores ( $44'85 \pm 5'59$  horas), mientras que en las cerdas híbridas JX x IB, este periodo es algo más largo ( $68'16 \pm 10'08$  horas), lo que significaría una ovulación más tardía respecto al pico preovulatorio de LH.

En las dos líneas estudiadas, hemos observado un descenso de los niveles plasmáticos hacia el día 7 del ciclo, siendo más pronunciado en las cerdas JX x IB. Dicho descenso ha sido también descrito por otros autores (Parvizi y col., 1976; Van de Wiel y col., 1981 y Martínez y col., 1985a).

Los niveles de progesterona durante la meseta de la curva, fueron más altos en las cerdas híbridas JX x IB, así como el nivel máximo, aunque sin llegar a ser significativo. Esto podría ser debido a un número de cuerpos lúteos mayor en las cerdas JX x IB, si hubiera una correlación entre los niveles plasmáticos de progesterona y la cantidad de C.L. como describen Guthrie y col., (1974) y Webel y col., (1975), aunque Wetteman y col., (1980) aseguran que no existe ningún tipo de correlación entre ambos parámetros.

El máximo nivel alcanzado por la progesterona, fue de  $11'62 \pm 0'59$  ng/ml en las cerdas Ibéricas y de  $12'83 \pm 0'92$  ng/ml en el cruce con la cerda Jiaxing black. Este nivel coincide con



el obtenido por Martinez y col., (1985a) en cerdas Ibéricas y es mas bajo que el publicado en otros trabajos (Van de Wiel y col., 1981; Henderson y col., 1985), lo cual puede ser debido a la técnica utilizada como indicamos anteriormente.

La mayoría de los autores, obtienen este nivel máximo entre los días 12 y 14 del ciclo estral, al igual que en nuestro estudio. Desde este punto, los niveles de progesterona descienden bruscamente, tardando en alcanzar el nivel basal  $49'52 \pm 10'73$  horas en las cerdas Ibéricas y  $52'48 \pm 7'65$  horas en las cerdas JX x IB.

La actividad del cuerpo lúteo tendía a ser más larga en las cerdas Ibéricas (14'04 días) frente a las híbridas (13'74 días), esto significaría una fase folicular más larga en las cerdas híbridas JX x IB, pudiendo influir en la selección de folículos.

#### 5.4 Niveles plasmáticos de estradiol-17 $\beta$

Los niveles plasmáticos de estradiol-17 $\beta$ , aumentaron antes de producirse la descarga preovulatoria de LH, en todos los animales de nuestra experiencia. El valor medio de estos niveles, alcanzó el máximo  $20 \pm 4$  y  $25'5 \pm 6'18$  horas previas al nivel máximo del pico preovulatorio de LH en cerdas Ibéricas y JX x IB respectivamente, siendo de  $31'24 \pm 2'4$  pg/ml en las cerdas Ibéricas y de  $24'99 \pm 0'73$  pg/ml en las cerdas JX x IB, habiendo diferencia significativa ( $p < 0'05$ ) entre ambos valores.

Henricks y col., (1972) observaron un nivel máximo de estrógenos plasmáticos, 48 horas antes de producirse la máxima

concentración de LH en el primer día del estro, lo cual es un periodo mas largo, respecto a nuestros resultados. Guthrie y col., (1972) también encontraron el máximo nivel de  $E_2$  los días -2 y -1, sin embargo, Van de Wiel y col., (1981), encontraron unas concentraciones máximas de  $E_2$  en un periodo de 8-15 horas antes del máximo de LH, tiempo inferior al de nuestro estudio.

Aunque el máximo nivel de  $E_2$  fue mas elevado en las cerdas Ibéricas, la duración de estos niveles altos fue mayor en cerdas JX x IB ( $85'71 \pm 11'54$  vs  $78'86 \pm 3'57$  horas), aunque la diferencia no llega a ser significativa. Durante el resto del ciclo estral, no se encontraron aumentos del nivel, al igual que describen otros autores (Henricks y col., 1972; Guthrie y col., 1972; Henderson y col., 1985).

La relación entre las concentraciones de estrógenos y la tasa de ovulación puede ser importante para determinar los mecanismos de feedback sobre las gonadotropinas que influyen en el desarrollo folicular y subsiguiente tasa de ovulación. Se han encontrado perfiles similares de LH durante el periodo ovulatorio en razas de ovejas (Land, 1976; Cahill y col., 1981) y en líneas genéticas porcinas (Ogata, 1979) con diferente tasa de ovulación. Sin embargo, Land, (1976) y Cahill y col., (1981) publicaron un pico de estrógenos mayor durante el proestro, en las razas de mayor tasa de ovulación.

Land, (1976), sugirió que la secreción de LH en ovejas de alta fecundidad, es menos sensible a los efectos del feedback positivo de los estrógenos, lo que podría explicar, si así sucediera, el nivel más alto encontrado en las cerdas Ibéricas de nuestro estudio.

Kelly y col., (1988), obtuvieron valores similares de estradiol antes y después del pico preovulatorio de LH, en un estudio realizado entre cerdas de alta prolificidad y cerdas control, siendo incluso más altos los niveles en las cerdas control, aunque sin ser significativo.

### 5.5 Niveles plasmáticos de hormona luteinizante

Los niveles plasmáticos de LH, se elevan durante el estro, alcanzando un nivel medio máximo de  $3'3 \pm 0'44$  y  $3'57 \pm 0'33$  ng/ml en las cerdas Ibéricas y JX x IB respectivamente. Esta amplitud del pico preovulatorio de LH, varía según los autores, dependiendo de la técnica utilizada para realizar la determinación de los niveles y la hormona utilizada como estándar.

Igualmente, la secreción de LH es de carácter pulsátil y dependiendo de la intensidad en la toma de muestras, podrán obtenerse unos resultados u otros. Así, Van de Wiel y col., (1981) describen unos niveles máximos entre  $4'2$  y  $5'9$  ng/ml tomando una muestra de sangre cada hora y Ellendorff y col., (1988) describen un nivel máximo de  $27'4$  ng/ml en la cerda Meishan y de  $11'16$  ng/ml en la cerda Large White, realizando una toma cada 20 minutos.

Como podemos observar, no hay diferencias entre las dos razas estudiadas, ni tampoco con el punto de cruce entre las rectas de regresión correspondientes a la parte ascendente y descendente del pico, que nos indica la tendencia de esos niveles.

Ogata, (1979) y Kelly y col., (1988), en sus respectivos trabajos, comparando niveles de LH durante el pico preovulatorio, en dos líneas genéticas de cerdas con alta y baja tasa de ovulación, tampoco encontraron diferencias significativas, aunque los niveles de las cerdas con mayor tasa de ovulación, siempre fueron más altos que los de las cerdas control, coincidiendo con nuestros resultados.

El patrón de secreción de LH durante el inicio de la fase folicular puede ser más importante que el pico preovulatorio de LH en la regulación de la tasa de ovulación. La frecuencia de los pulsos aumenta y su amplitud disminuye durante los 3 días siguientes a la luteolisis (Foxcroft y Van de Wiel, 1982), en el momento en que los folículos destinados a ovular son seleccionados en la cerda (Clark y col., 1975, 1982; Dailey y col., 1975).

En el presente trabajo no hemos podido confirmarlo por no ser el objeto de nuestro estudio ya que hubiéramos tenido que realizar un número de muestras mayor durante el periodo referido.

En cuanto a la duración del pico preovulatorio de LH, igualmente influye el tiempo entre las tomas de sangre, pero al ser una descarga de varias horas de duración, el error cometido es menor que si midieramos la pulsatilidad de la secreción de LH durante otra fase del ciclo estral donde los pulsos son mas cortos en tiempo y amplitud, como se puede observar en el trabajo de Diekman y col., (1991), en el que se describen una duración de los picos de LH de 90 minutos,

tomando muestras de sangre cada 2 minutos entre los días 8 y 10 del ciclo estral.

Así, en el presente trabajo, realizando tomas de sangre cada dos horas, la duración del pico de LH fue de  $27'9 \pm 2'14$  y  $27'21 \pm 2'58$  horas, en las cerdas Ibéricas y JX x IB respectivamente, siendo similar a la duración obtenida por otros autores (Wilfinger, 1974; Van de Wiel y col., 1981; Martínez y col., 1985b).

El tiempo necesario para llegar al máximo nivel del pico de LH, en nuestro estudio, es menor que para volver al nivel basal, produciéndose un pico ligeramente asimétrico en ambas razas. Estos resultados, coinciden con los obtenidos por Van de Wiel y col., (1981) y con Wilfinger, (1974) en que el tiempo necesario para descender los niveles plasmáticos de LH desde su máximo nivel hasta el nivel basal, es significativamente mayor que para ascender. Sin embargo, Martínez y col., (1985b) describen una descarga preovulatoria de LH, en la que el tiempo necesario para ascender es mayor que el tiempo en descender de nuevo al nivel basal en cerdas LW.

Existen diferentes criterios con el momento en que se produce la descarga preovulatoria de LH, respecto a la demostración de celo por parte de la cerda. En el presente trabajo, el 53'85% de las cerdas Ibéricas tuvieron el máximo nivel de LH el día anterior a la aparición del celo, presentándolo el 46'15% el mismo día. En las cerdas híbridas JX x IB, el máximo nivel de LH se produjo el día anterior al celo en el 15'39% de las cerdas; en el 76'92% coincidió con el día de celo y el 7'69% el día después.

Niswender y col., (1970), publicaron que el pico de LH coincide con el principio del estro mientras que para Tilton y col., (1982), el pico de LH varía entre 2 horas antes a 22 horas después del principio del estro. Ziecik y col., (1982), publicaron que el pico de LH ocurrió en 7 de 14 cerdas entre 8 y 32 horas antes del principio del estro. El pico de LH puede así variar entre 32 horas antes a 22 horas después del principio del estro.

En el trabajo de Helmond y col., (1986), el pico de LH ocurrió de media  $10 \pm 13$  horas después del principio del estro con un rango de 20 horas antes a 32'5 horas después del principio del estro. El intervalo entre el pico de LH y la ovulación fué de  $42 \pm 5$  horas, con un rango de 18 - 76 horas.

Martínez y col., (1985b) obtuvieron en el 62'5% de cerdas LW, el pico de LH antes del estro lo que sucedió desde 24 horas antes hasta 13 horas después del comienzo del celo. En cerdas de raza Ibérica, en el 87'5 %, el pico de LH se produjo antes del celo ocurriendo desde 28 horas hasta 8 horas después del celo.

Como se puede observar, hay una clara variabilidad en cuanto a la presentación del pico preovulatorio de LH con respecto a la aparición del celo. Si bien, en la mayoría de las cerdas podemos considerar que coinciden, es importante tener en cuenta la existencia de un número de cerdas, en las cuales el pico de LH puede estar adelantado o retrasado respecto a la aparición de los síntomas de celo, para determinar el momento más adecuado de realizar la inseminación artificial o cubrición de la cerda, ya que la ovulación se va a producir a las 36 -

40 horas desde la descarga preovulatoria de LH (Liptrap y Raeside, 1966).

### 5.6 Niveles plasmáticos de FSH

La hormona folículo estimulante, tiene una secreción bastante fluctuante de acuerdo con los distintos trabajos de la bibliografía. En general, se describen valores más altos (Rayford y col., 1974; Van de Wiel y col., 1981) que en nuestro estudio, debido a la diferente pureza de la hormona utilizada para realizar los análisis.

En ambas líneas genéticas estudiadas, se produce un primer aumento de FSH, coincidiendo con el pico preovulatorio de LH, lo cual ya ha sido descrito por otros autores (Wilfinger, 1974; Rayford y col., 1974; Van de Wiel y col., 1981). Esta primera elevación, alcanza valores similares en las dos líneas de cerdas, comenzando de 4 a 6 horas del inicio de la descarga preovulatoria de LH.

Un segundo aumento, se produce sobre los días 1 y 2 del ciclo, constituyendo el pico secundario de FSH, teniendo un valor medio similar en las dos líneas de 1'16 vs 1'313 ng/ml, en IB y JX x IB, respectivamente. Este pico secundario, comienza de 24 a 30 horas después del máximo nivel del pico preovulatorio de LH, coincidiendo con otros autores (Van de Wiel y col., 1981; Kelly y col., 1988).

Entre los dos picos de FSH, en las cerdas Ibéricas se produce un descenso de los niveles, teniendo un valor medio de  $0'73 \pm 0'13$  ng/ml, mientras que en las cerdas híbridas JX x IB,

se mantienen a un nivel medio de  $0'83 \pm 0'08$  ng/ml ( $p < 0'05$ ). Van de Wiel y col., (1981), encontraron los niveles de FSH plasmática elevados durante los días 1 a 3 del ciclo estral , coincidiendo con niveles bajos de LH, al igual que en nuestro trabajo.

La idea de mecanismos de control separados para las gonadotropinas, ha sido apoyada por la identificación de una sustancia proteica gonadal (inhibina), que suprime selectivamente la secreción de FSH en la rata (Schwartz y Channing, 1977), oveja (Cummins y col., 1983; Tsonis y col., 1983) y cerda (Redmer y col., 1985).

Los folículos ováricos de raza Boorola Merina, contienen menos inhibina que los de las ovejas Merinas utilizadas como control (Cummins y col., 1983), sugiriendo que la tasa de ovulación alta de esta raza prolífica, puede ser debida a un menor feedback negativo de la inhibina sobre la secreción de FSH. Habría que investigar si existe una diferencia de inhibina en el contenido del líquido folicular de las cerdas Ibéricas y la híbrida Jiaxing x Ibérica.



## **CONCLUSIONES**

## 6. CONCLUSIONES

1. Las cerdas híbridas Jiaxing-black x Ibérica, son más precoces en alcanzar la pubertad que las cerdas de raza Ibérica, con una diferencia media de  $80'7 \pm 1'4$  días, ( $p < 0'01$ ).

2. No existen diferencias significativas en la duración del ciclo estral y el periodo de celo entre las cerdas de raza Ibérica y su cruce con la raza Jiaxing-black.

3. El nivel medio, de los máximos valores de estradiol-17 $\beta$  plasmático durante el inicio de la fase folicular del ciclo estral, es más alto en las cerdas Ibéricas que en las híbridas Jiaxing x Ibérica, ( $p < 0'05$ ).

4. El nivel medio de FSH plasmática, alcanzado entre la descarga preovulatoria y el pico secundario, es más elevado en las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica que en las cerdas de raza Ibérica, ( $p < 0'05$ ).

5. El nivel medio de FSH plasmática durante la fase luteínica y en los días previos a la descarga preovulatoria, es más alto en las cerdas Ibéricas que en las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica, ( $P < 0'01$ ).

6. El nivel medio de LH plasmática, antes, durante y después de la descarga preovulatoria y el nivel medio de progesterona plasmática durante la meseta de la curva, tienden a ser más altos en las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica, respecto a las cerdas Ibéricas, sin llegar a tener significación.

## **RESUMEN**

## 6. RESUMEN

La existencia de cerdas una prolificidad mayor, ha provocado el interés hacia el estudio de su fisiología reproductiva, intentando averiguar todos los factores que influyen.

Siendo la híbrida Jiaxing x Ibérica una cerda con prolificidad alta en comparación a la cerda Ibérica, cuya prolificidad baja es característica, nos da la oportunidad de iniciar el estudio comparativo entre estas dos líneas genéticas, determinando la edad al inicio de la pubertad y los niveles plasmáticos de progesterona, estradiol-17 $\beta$ , LH y FSH durante el ciclo estral.

Se ha trabajado con un total de 20 cerdas de raza Ibérica y 20 cerdas Jiaxing x Ibérica. La pubertad se determinó a través de los niveles plasmáticos de progesterona, con 10 cerdas de cada raza, realizando una toma de sangre semanal desde los 92 días de edad en las cerdas Ibéricas y los 64 días en las híbridas JX x IB. También se determinó por la aparición de la reacción de inmovilidad frente al verraco. De cualquier forma, las cerdas híbridas JX x IB fueron mas precoces sexualmente que las cerdas Ibéricas ( $p < 0.01$ ).

La duración media del ciclo estral fue similar en ambas líneas, siendo de  $19.48 \pm 0.23$  días (media  $\pm$  E.S.) en las cerdas Ibéricas y de  $19.77 \pm 0.42$  días en las cerdas híbridas JX x IB. El periodo de celo, tuvo una duración de  $2.33 \pm 0.66$  días en las cerdas Ibéricas y de  $2.63 \pm 0.58$  días en las cerdas Jiaxing x Ibérica. Aunque no hay diferencias significativas,

ambos parámetros tienden a durar más tiempo en las cerdas híbridas JX x IB.

Se ha utilizado un segundo grupo de cerdas primíparas compuesto por 10 cerdas Ibéricas y 10 cerdas híbridas JX x IB, sincronizadas con un progestágeno y canuladas para la obtención de sangre. Las muestras de sangre se recogieron cada 2 horas, desde los 3 días anteriores al segundo celo post-tratamiento, hasta el tercer día del ciclo, continuando con 2 tomas de sangre cada día, hasta el día 17 del ciclo en que se volvieron a recoger cada 2 horas hasta el tercer día posterior al celo (3º posterior al tratamiento con progestágeno).

La detección de celo, fue realizada mediante verracos. Tres de las 20 cerdas, fueron desechadas del experimento; una de la raza Ibérica por no demostrar celo y dos híbridas JX x IB, por fallar la cánula al principio de la toma de muestras. En cada toma de sangre se recogían 10 ml en un tubo heparinizado, centrifugándose y congelando el plasma a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. Todas las hormonas estudiadas fueron determinadas por radioinmunoanálisis.

Los niveles plasmáticos de progesterona, comenzaron a aumentar a partir del día 2 en las dos líneas (día 0 = máximo nivel del pico preovulatorio de LH), alcanzando el máximo nivel aproximadamente los días 12 - 13, con un valor de  $11'62 \pm 0'59$  vs  $12'83 \pm 0'92$  ng/ml en las cerdas IB y JX x IB respectivamente.

El tiempo de actividad luteal fue de 14'04 y 13'74 días en las cerdas Ibéricas e híbridas JX x IB respectivamente. No se

encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados, aunque los niveles siempre tendieron a ser más elevados en las cerdas híbridas JX x IB.

Los niveles plasmáticos de estradiol-17 $\beta$ , alcanzaron su máximo nivel a las  $20 \pm 4$  vs  $25'5 \pm 6'18$  horas en las cerdas Ibéricas e híbridas JX x IB respectivamente, con un valor medio de  $31'24 \pm 2'4$  pg/ml (IB) y  $24'99 \pm 0'73$  pg/ml (JX x IB) siendo diferentes significativamente ( $p < 0'01$ ). La duración de este aumento de los niveles fue de  $78'86 \pm 3'57$  horas (IB) y  $85'71 \pm 11'54$  horas (JX x IB).

La descarga preovulatoria de LH, tuvo una duración media de  $27'9 \pm 2'14$  horas (IB) y  $27'21 \pm 2'58$  horas (JX x IB), alcanzando una amplitud máxima media de  $3'3 \pm 0'24$  ng/ml en las cerdas Ibéricas y de  $3'57 \pm 0'33$  ng/ml en las híbridas JX x IB. Tanto el nivel máximo del pico preovulatorio de LH como el nivel medio durante el resto del ciclo, tiende a ser mas alto en las cerdas híbridas JX x IB, pero sin llegar a ser significativa la diferencia.

El momento de producirse la descarga preovulatoria de LH respecto al celo, en mas del 50% de cerdas Ibéricas, tuvieron el celo después de haberse producido el pico de LH, siendo en mas del 60% de las cerdas híbridas JX x IB, coincidentes el pico de LH con el primer día de celo.

Los niveles plasmáticos de la hormona folículo estimulante, comienzan a elevarse, coincidiendo con la descarga preovulatoria de LH en ambas líneas estudiadas. Durante el día 1 y 2 del ciclo se produce el pico secundario de FSH siendo los

valores medios similares ( $1'16 \pm 0'07$  vs  $1'13 \pm 0'12$  ng/ml) en IB y JX x IB. El nivel medio entre el pico preovulatorio y el pico secundario fue mas alto en las cerdas híbridas JX x IB ( $0'73 \pm 0'13$  vs  $0'83 \pm 0'08$  ng/ml; siendo  $p < 0'05$ ).

En el periodo anterior al pico preovulatorio ( $0'4 \pm 0'08$  vs  $0'29 \pm 0'1$  ng/ml) y durante el resto del ciclo ( $0'93 \pm 0'17$  vs  $0'7 \pm 0'19$  ng/ml), los niveles medios estuvieron más elevados en las cerdas Ibéricas que en las cerdas híbridas Jiaxing x Ibérica, ( $p < 0'01$ ).

## SUMMARY

The existence of sows with a higher prolificacy has raised an increasing interest towards their reproductive physiology, trying to study all factors with influence on it.

Jiaxing x Iberian crossbreed sows have a higher prolificacy than the Iberian breed sows. This gave us the opportunity to start a comparative study of these two genetic lines setting up age at onset of puberty and plasmatic levels of progesterone, estradiol 17B, LH and FSH during estrus.

A total of 20 Iberian (IB) and 20 Jiaxing x Iberian (JX x IB) crossbreed gilts and sows has been used in this study. Onset of puberty was determined, in 10 animals of each line, through plasmatic levels of progesterone. Blood samples were taken once a week from day 92 of age in the Iberian group and from day 64 in the crossbreed group. Puberty was also studied setting up appearance of the standing reflex in presence of a boar. In both ways, JX x IB crosssbreed females were sexually more precocious than Iberian ones ( $p < 0.01$ ).

Average lenght of estrus cycle was similar in both groups, with  $19.48 \pm 0.23$  days in Iberian gilts vs  $19.77 \pm 0.42$  in JX x IB crossbreed ones. Length of heat was  $2.33 \pm 0.66$  days in Iberian gilts vs  $2.63 \pm 0.58$  in JX x IB females. No significant difference was found but both parameters tended to be longer in JX x IB crossbreed.

A second group of primiparous sows, 10 of each line, was synchronized with an oral progestagen and canulated. Blood



samples were collected every 2 hours, starting 3 days before onset of second estrus after progestagen treatment, till third day of cycle. From that moment samples were taken twice a day till day 17 of cycle, when the 2 hours collection schedule was restarted, finishing the third day after onset of the third estrus after synchronization.

Heat behaviour was detected with presence of a boar. Three gilts were rejected from the experimental design, 1 Iberian did not show estrus and 2 JX x IB crossbreed because a canulation failure at the beginning of sample collection. Each blood sample consisted in 10 ml. collected into an heparinized tube. After centrifugation, plasma was frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  till analysis took place. The four hormones studied were analyzed by means of Radioimmunoassay.

Plasmatic levels of Progesterone started to increase on day 2 in both genetic lines studied (day 0 = maximum preovulatory LH level detected), and maximum level was achieved on day 12-13 of the cycle, with a value of  $11.62 \pm 0.59$  vs  $12.83 \pm 0.92$  ng/ml in the Iberian and the JX x IB group respectively.

Luteal activity length was 14.04 days for Iberian sows and 13.74 days for JX x IB crossbreeds. We didn't find significant differences regarding progesterone parameters studied, but a tendency to higher levels in JX x IB females was observed.

Plasmatic levels of Estradiol 17 $\beta$  achieved their highest values after  $20 \pm 4$  hours in the Iberian group vs  $25.5 \pm 6.18$  h. in the JX x IB hybrid one, with a mean average of  $31.24 \pm 2.4$  pg/ml vs  $24.99 \pm 0.73$  pg/ml respectively. These values were

statistically different ( $p < 0.01$ ). Length of the level increase was  $78.86 \pm 3.57$  hours in the Iberian group and  $85.71 \pm 11.54$  hours in the JX x IB hybrid group.

Preovulatory LH surge had a mean average length of  $27.9 \pm 2.14$  hours (IB) and  $27.21 \pm 2.58$  (JX x IB), reaching a maximum amplitude of  $3.3 \pm 0.24$  ng/ml in the Iberian group and  $3.57 \pm 0.33$  ng/ml in the hybrid one. Both the preovulatory surge and the mean average level during the cycle tended to be higher in the JX x IB crossbreed sows, but without significant difference.

More than 50% of Iberian sows had the preovulatory LH surge after onset of estrus behaviour. More than 60% of JX x IB hybrid sows had this LH surge during the first day of estrus.

Plasmatic levels of follicle stimulanting hormone started to raise at the same time than LH surge in both groups. During days 1 and 2 of cycle, the secondary surge of FSH took place, with similar values,  $1.16 \pm 0.07$  ng/ml for Iberian sows and  $1.13 \pm 0.12$  ng/ml for JX x IB crossbreed. Mean level between preovulatory and secondary surge was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in JX x IB hybrid sows ( $0.83 \pm 0.08$  ng/ml) than in Iberian sows ( $0.73 \pm 0.13$  ng/ml).

Mean FSH levels before preovulatory surge ( $0.4 \pm 0.08$  vs  $0.29 \pm 0.1$  ng/ml) and during the rest of the estrus cycle ( $0.93 \pm 0.17$  vs  $0.7 \pm 0.19$  ng/ml) were higher in the Iberian sows in comparison with the Jiaxing x Iberian sows, ( $p < 0.01$ ).

## **BIBLIOGRAFIA**

## 7. BIBLIOGRAFIA

Ainsworth, L.; Baker, R.D. y Armstrong, D.T. (1975). "Preovulatory changes in follicular fluid prostaglandin F levels in swine". Prostaglandins, 9, 915-925.

Ainsworth, L.; Tsang, B.K.; Downey, B.R. y Marcus, G.J. (1990). "The synthesis and actions of steroids and prostaglandins during follicular maturation in the pig". J. Reprod. Fert., supl. 40, 137-150.

Andersson, A.M. y Einarsson, S. (1980). "Studies on oestrus and ovarian activity during five successive oestrus cycles in gilts". Acta Vet.Scand., 21, 677-688.

Anonyme (1975). "Heredity of some quantitative traits in new Hwei Ying swine". Act.Genet.Sin., 2,4.

Archibong, A.E.; England, D.C. y Stormshak, F. (1987). "Ovulation and embryonic survival in pubertal gilts treated with gonadotropin releasing hormone". J. Anim. Sci., 65, 752-755.

Ashworth, C.J.; Haley, C.S.; Aitken, R.P. y Wilmut, I. (1990a). "Embryo survival and conceptus growth after reciprocal embryo transfer between chinese Meishan and Landrace x Large White gilts". J.Reprod.Fert., 90, 595-603.

Ashworth, C.J.; Haley, C.S.; Aitken, R.P. y Wilmut, I. (1990b). "Comparative aspects of embryo survival and conceptus growth in Meishan and Large White gilts". Symposium sur le porc chinois. Toulouse, 5-6 Julio. Francia.

Baker, L.N.; Ulberg, L.C.; Grummer, R.H. y Casida, L.E. (1954). "Inhibition of heat by progesterone and its effect on subsequent fertility in gilts". J. Anim. Sci., 13, 648-657.

Baker, R.D. y Coggins, E.G. (1968). "Control of ovulation rate and fertilization in prepubertal gilts". J. Anim. Sci., 27, 1607-1610.

Baker, R.D.; Downey, B.R. y Brinkley, H.J. (1973). "Induction of ovulation in pigs with gonadotrophin releasing hormone". J. Anim. Sci., 37, 1376-1379.

Baker, R.D. y Rajamahendran, R. (1973). "Induction of estrus, and fertilization in prepuberal gilts by a single injection of PMSG, HCG and PMSG:HCG combination". Can. J. Anim. Sci., 53, 693-694.

Bazer, F.W.; Thatcher, W.W.; Martinat-Botte, F.; Terqui, M. (1987). "Conceptus and uterine development in Large White (LW) and prolific chinese Meishan (MS) gilts". J. Anim. Sci., 65 (Supl. 1), 381 (Abstr.).

Bazer, F.W.; Thatcher, W.W.; Martinat-Botte, F. y Terqui, M. (1988a). "Sexual maturation and morphological development of the reproductive tract in Large White and prolific Chinese Meishan pigs". J. Reprod. Fert., 83, 723-728.

Bazer, F.W.; Thatcher, W.W.; Martinat-Botte, F. y Terqui, M. (1988b). "Conceptus development in Large White and prolific Chinese Meishan pigs". J. Reprod. Fert., 84, 37-42.

Bazer, F.W.; Harney, J.P.; Martinat-Botte, F.; Terqui, M.; Dubois, D.H. y Lacroix, M.C. (1989). "Secretion of prostaglandins (PG)<sub>2</sub> (PGF) and E<sub>2</sub>(PGE) by chinese Meishan (MS) and Large White (LW) gilts". J.Anim.Sci. 67 (Suppl. 1), 321 (Abstr.).

Bidanel, J.P. y Legault, C. (1986). "Experimental and prospective aspects of the utilization of prolific Chinese pig breeds in Europe". 37<sup>th</sup> Annual Meeting of the EAAP, Budapest, 1-4 Septiembre.

Bidanel, J.P.; Caritez, J.C. y Legault, C. (1990). "Ten years of experiments with chinese pigs in France. 1. Breed evaluation". Pig News and Information, 11, 345-348.

Biggs, C.; Hunter, M.G.; Craigon, J.; Wilmut, I.; Tilton, J.E. y Foxcroft, G.R. (1990). "A comparison of preovulatory follicles in Meishan and Large White pigs". Symposium sur le porc chinois. Toulouse 5-6 Julio. Francia.

Bolet, G.; Martinat-Botte, F.; Locatelli, A.; Gruand, J.; Terqui, M. y Berthelot, F. (1986). "Components of prolificacy in hyperprolific Large White sows compared with the Meishan and Large White breeds". Génét. Sél. Evol., 18, 333-342.

Bolt, D.J.; Rollins, R. y Guthrie, H.D. (1981). "Development of a porcine FSH radioimmunoassay". J. Anim. Sci., 53, supl. 1, 298.

Britt, J.H.; Armstrong, J.D.; Cox, N.M. y Esbenshade, K.L. (1985). "Control of follicular development during and after lactation in sows. J. Reprod. Fert., supl. 33, 37-54.

Cahill,L.P.; Sammande,J.; Ravult,J.P.; Blanc,M.; Thimonier,J.; Mariana,J.C. y Mauleon,P. (1981). "Hormonal and follicular relationships in ewes of high and low ovulation rates". J. Reprod. Fert., 62, 141.

Caldwell,B.V.; Moor,R.M.; Wilmut,I.; Polge,C. y Rowson,L.E.A. (1969). "The relationship between day of formation and functional life span of induced corpora lutea in the pig". J. Reprod. Fert., 18, 107-113.

Camous,S.; Prunier,A. y Pelletier,J. (1985). "Plasma prolactin, LH, FSH and estrogen excretion patterns in gilts during sexual development". J. Anim. Sci., 60, 1308-1317.

Canope,I.; Depois,E. y Mandonnet,N. (1990). "Study on the use of chinese pigs in crossbreeding with native breeds in Guadeloupe". Symposium sur le porc chinois. Toulouse 5-6 Julio. Francia.

Casida,L.E. (1935). "Prepubertal development of the pig ovary and its relation to stimulation with gonadotrophic hormones". Anat. Rec., 61, 389-396.

Cheng,P. (1983). "A highly prolific pig breed of China - The Taihu pig. I y II parte". Pigs news and information, 4, 407-425.

Cheng,P. (1984). "A highly prolific pig breed of China - The Taihu pig. III y IV parte". Pigs news and information, 5, 13-18.

Christenson,R.K.; Pope,C.E.; Zimmerman,V.A. y Day,B.N. (1970). "Synchronization of ovulation in superovulated gilts". J. Anim. Sci., 31, 219 (Abstr.).

Christenson,R.K.; Pope,C.E.; Zimmerman-Pope,V.A. y Day,B.N. (1973). "Synchronization of estrus and ovulation in superovulated gilts". J. Anim. Sci., 36, 914-918.

Christenson,R.K. y Teague,H.S. (1975). "Synchronization of ovulation and artificial insemination of sows after lactation". J. Anim. Sci., 41, 560-563.

Christenson,R.K.; Ford,J.J. y Redmer,D.A. (1985). "Maturation of ovarian follicles in the prepubertal gilt". J. Reprod. Fert., supl. 33, 21-36.

Clark,J.R.; Edey,T.N.; First,N.L.; Chapman,A.B. y Casida,L.E. (1973). "The effects of four genetic groups and two levels of feeding on ovulation rate and follicular development in pubertal gilts". J. Anim. Sci., 36, 1164-1169.

Clark,J.R.; First,N.L.; Chapman,A.B. y Casida,L.E. (1975). "Ovarian follicular development during the estrous cycle in gilts following electrocautery of follicles". J. Anim. Sci., 4, 1105-1111.

Clark,J.R.; Kelly,C.A.; Orr,D.E. y Tribble,L.F. (1979). "Folliculogenesis in swine: effects of follicle-cautery on subsequent ovulation rate and estrous cycle length". J. Anim. Sci., 49, supl. 1, 11 (Abstr.).



Clark, J.R.; Brazier, S.G.; Wiginton, L.M.; Stevenson, G.R. y Tribble, L.F. (1982). "Time of ovarian follicle selection during the porcine oestrous cycle". *Theriogenology*, 18, 697-709.

Coleman, D.A. y Dailey, R.A. (1979). "Effect of time of unilateral ovariectomy in gilts". *J. Anim. Sci.*, 49, supl. 1, 136, (Abstr.).

Colenbrander, B.; Kruip, A.M.; Dieleman, S.J. y Wensing, C.J.G. (1977). "Changes in serum LH concentrations during normal and abnormal sexual development in the pig". *Biology of reproduction*, 17, 506-513.

Colenbrander, B.; Macdonald, A.A.; Elsaesser, F.; Parvizi, N. y Van de Wiel, D.F.M. (1982). "Response of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone to luteinizing hormone releasing hormone in the fetal pig". *Biol. Reprod.*, 27, 556-561.

Cummins, L.J.; O'Shea, T.; Bindon, B.M.; Lee, V.W.K. y Findlay, J.K. (1983). "Ovarian inhibin content and sensitivity to inhibin in Booroola and control strain Merino ewes". *J. Reprod. Fert.*, 67, 1.

Curnock, R.M.; Day, B.N. y Dziuk, P.J. (1976). "Embryo transfer in pigs: A method for introducing genetic material into primary specific-pathogen-free herds". *Am. J. Vet. Res.*, 37, 97-98.

Dailey, R.A.; Clark, J.R.; First, N.L.; Chapman, A.B. y Casida, L.E. (1972). "Effects of high and low feeding at two stages of the

estrous cycle on follicular development in gilts from four genetic groups". J. Anim. Sci., 35, 1210-1215.

Dalin, A.M. y Einarsson (1986). "Sexual maturity and anoestrus in gilts". Pig News and Information, 7, 299-302.

Davis, D.L.; Knight, J.W.; Killian, D.B. y Day, B.N. (1980). "Control of estrus in gilts with a progestagen". J. Anim. Sci., 49, 1506-1509.

Day, B.N.; Neill, J.D.; Oxenreider, S.L.; Waite, A.B. y Lasley, J. (1965). "Use of gonadotrophins to synchronize estrous cycles in swine". J. Anim. Sci., 24, 1075-1079.

Day, B.N.; Longenecker, D.E.; Jaffe, S.C.; Gibson, E.W. y Lasley, J.F. (1967). "Fertility of swine following superovulation". J. Anim. Sci., 26, 777.

Day, B.N. y Longenecker, D.E. (1968). "Synchronization of estrus and superovulation in swine with ICI 33828 and pregnant mare serum". VI Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif., Paris vol. II: 1419.

Diekman, M.A.; Green, M.L.; Fears, T.E.; Malayer, J.R. y Kuczek, T. (1991). "Effect of sampling interval on serum concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin in prepubertal, ovariectomized and cycling gilts". Biol. Reprod., 45, 755-763.

Diehl, J.R. y Day, B.N. (1974). "Effect of prostaglandin  $F_2\alpha$  on luteal function in swine". J. Anim. Sci., 39, 392-396.

Dobao,M.T.; Rodrigañez,J.; Silió,L. y Toro,M.A. (1987). "Utilization of crosses with Jiaxing breed under production conditions of Iberian pig". 38<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association of Animal Production.

Dobao,M.T.; Rodrigañez,J.; Silió,L.; y Toro,M.A. (1988a). "Mejora de la prolificidad de cerdos ibéricos mediante cruzamiento con la raza Jiaxing". Anaporc, 74, 17-20.

Dobao,M.T.; Rodrigañez,J.; Silió,L.; Toro.M.A. y De Pedro,E. (1988b). "Genética de la prolificidad en el cerdo ibérico: revisión de metodologías y resultados". Investigación Agraria. Producción y Sanidad Animales, 3, 109-134.

Dobao,M.T.; Rodrigañez,J.; Silió,L. y Toro,M.A. (1990). "Utilization of Jiaxing crosses under the extensive management of Iberian pigs". Symposium sur le porc chinois. Toulouse 5-6 Julio. Francia.

Downey,B.R. y Ainsworth,L. (1980). "Reversal of indomethacin blockade of ovulation in gilts by prostaglandins". Prostaglandins, 19, 17-22.

Du Mesnil du Buisson,F. (1954). "Posibilité d'ovulation et de fécondation chez la truie avant la puberté". Annls. Endocr., 15, 333-340.

Dziuk,P.J. (1960). "Influence of orally administered progestin on estrus and ovulation in swine". J. Anim. Sci., 19, 1319-1320.

Dziuk, P.J. y Baker, R.D. (1962). "Induction and control of ovulation in swine". J. Anim. Sci., 21, 697-699.

Dziuk, P.J. (1964). "Response of sheep and swine to treatments for control of ovulation". Proc. Conf. Estrus Cycle Control in Domestic Animals. USDA Miscellaneous Publication, 1005, 50-57.

Dziuk, P.J.; Polge, C. y Rowson, L.E.A. (1964). "Intra-uterine migration and mixing of embryos in swine following egg transfer". J. Anim. Sci., 23, 37-42.

Dziuk, P.J. y Polge, C. (1965). "Fertility in gilts following induced ovulation". Vet. Rec., 77, 236-239.

Dziuk, P.J. y Gelbach, G.D. (1966). "Induction of ovulation and fertilization in the immature gilt". J. Anim. Sci., 25, 410-413.

Dziuk, P.J. (1973). En: Handbook of Physiology. (R.O. Greep ed.), Section 7, vol. II, part 1, 143-152.

Edqvist, L.E. y Lamm, A.M. (1971). "Progesterone levels in plasma during the oestrous cycle of the sow measured by a rapid competitive protein binding technique". J. Reprod. Fert., 25, 447-449.

Eiler, H. y Nalbandov, A.V. (1977). "Sex steroids in follicular fluid and blood plasma during the estrous cycle of pigs". Endocrinology, 100, 331-338.

Ellendorff, F.; Martinat-Botte, F. y Signoret, J.P. (1988). "Duration of oestrus and preovulatory LH in the high fertility Meishan pig". 11<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Dublin (Ireland) p. 24.

Elsaesser, F.; Ellendorff, F.; Pomerantz, D.K.; Parvizi, N. y Smidt, D. (1976). "Plasma levels of luteinizing hormone, progesterone, testosterone and 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone in male and female pigs during sexual maturation". J. Endocr., 68, 347-348.

Elsaesser, F.; Parvizi, N. y Ellendorff, F. (1978). "Steroid feedback on luteinizing hormone secretion during sexual maturation in the pig". J. Endocr., 78, 329-342.

Elsaesser, F. y Foxcroft, G.R. (1978). "Maturational changes in the characteristics of estrogen-induced surges of luteinizing hormone in immature domestic gilts". J. Endocr., 78, 455-456.

Elsaesser, F. y Parvizi, N. (1979). "Estrogen feedback in the pig: sexual differentiation and the effect of prenatal testosterone treatment". Biol. Reprod., 20, 1187-1193.

Epstein, H. (1969). "Domestic animals of China". Commonwealth Agricultural Bureaux.

Erickson, G.F. y Hsueh, A.J.W. (1978). "Stimulation of aromatase activity by follicle stimulating hormone in rat granulosa cells in vivo and in vitro". Endocr., 102, 1275-1281.

Erickson,G.F.; Magoffin,D.A.; Dyer,C.A. y Hafeditz,C. (1985). "The ovarian androgen producing cells: A review of structure/function relationships". *Endocr. Rev.*, 6, 371-399.

Esbenshade,K.L.; Paterson,A.M.; Cantley,T.C. y Day,B.N. (1982). "Changes in plasma hormone concentrations associated with onset of puberty in the gilt". *J. Anim. Sci.*, 54, 320-324.

Espey,L.L: (1980). "Ovulation as an inflammatory reaction-a hypothesis". *Biol. Reprod.*, 22, 73-106.

Evans,G.; Dobias,M.; King,G.J. y Armstrong,D.T. (1981). "Estrogen, androgen and progesterone biosynthesis by theca and granulosa of preovulatory follicles in the pig". *Biol. Reprod.*, 25, 673-682.

Falck,B. (1959). "Site of production of estrogen in rat ovary as studied in microtransplants". *Acta Physiol. Scand.*, 47, 94-101.

Fang,B.Q.; J.F.Hu; D.X.Huang; D.M.Pei; J.L.Tan; P.S.Zhang (1980). "Studies on reproductive traits in Erhualian pigs. 3. The development of sexual behaviour and reproductive function of gilts". *Animal Husbandry and Veterinary Medicine, China*, 12, 12-15.

First,N.L.; Stratman,F.W.; Rigor,E.M. y Casida,L.E. (1963). "Factors affecting ovulation and follicular cyst formation in sows and gilts fed 6-methyl-17-acetoxypregesterone". *J. Anim. Sci.*, 22, 66-71.

Foxcroft,G.R. y Van de Wiel,D.F.M. (1982). "Endocrine control of the oestrus cycle". En: Control of Pig Reproduction. Eds. D.J.A. Cole y G.R. Foxcroft. pp 161-178. Buterworth, Londres.

Foxcroft,G.R. y Hunter,M.G. (1985). "Basic physiology of follicular maturation in the pig". J. Reprod. Fert., supl. 33, 1-19.

Fraker,P.J. y Speck,J.C.Jr. (1978). "Protein and cell membrane iodinations with a sparingly soluble chloromide, 1,3,4,6-tetrachloro-3 $\alpha$ , 6 $\alpha$ -diphenylglycoluril". Biochem. Biophys. Res. Commun., 80, 840.

García Ruvalcaba,J.A.; Sánchez,R.; Sebastián,J.J.; Del Palacio,M.; Alías,E. y Martín Rillo,S. (1988). "Estudio comparativo entre dos tipos de tratamiento para la sincronización del celo en cerdas nulíparas con un derivado de la nortestosterona (SH 45249)". Anaporc, 65, 22-27.

Gerrits,R.J.; Fahning,M.L.; Meade,R.J. y Graham,E.F. (1963). "Effect of synchronization of estrus on fertility in gilts". J. Anim. Sci., 21, 1022.

Gerrits,R.J. y Johnson,L.A. (1965). "Synchronization of estrus in gilts fed two levels of ICI 33828 and the effect of fertility, embryo survival and litter size". J. Anim. Sci., 24, 917-918.

Groves,T.W. (1967). "Methallibure in the synchronization of oestrus in gilts". Vet. Rec., 80, 470-475.

Guthrie,H.D.; Henricks,D.M. y Handlin,D.L. (1972). "Plasma estrogen, progesterone and luteinizing hormone prior to estrus and during early pregnancy in pigs". Endocrinology, 91, 675-679.

Guthrie,H.D.; Henricks,D.M.; y Handlin,D.L. (1974). "Plasma hormone levels and fertility in pigs induced to superovulate with PMSG". J. Reprod. Fert., 41, 361.

Guthrie,H.D. y Polge,C. (1976). "Luteal function and oestrus in gilts treated with a synthetic analogue of prostaglandin  $F_2\alpha$  (ICI-79939) at various times during the oestrus cycle". J.Reprod. Fert., 48, 423-425.

Guthrie,H.D. (1977). "Induction of ovulation and fertility in prepubertal gilts". J. Anim. Sci., 45, 1360-1367.

Guthrie,H.D.; Pursel,V.G. y Forbish,L.T. (1978). "Attempts to induce conception in lactating sows". J. Anim. Sci., 47, 1145.

Guthrie,H.D. (1979). "Fertility after estrous cycle control using gonadotropin and prostaglandin  $F_2\alpha$  treatment of sows". J.Anim. Sci., 49, 1.

Guthrie,H.D. y Rexroad,C.E.Jr. (1980). "Progesterone secretion and prostaglandin F release in vitro by endometrial and luteal tissue of cyclic pigs". J. Reprod. Fert., 60, 157-163.

Guthrie,H.D. y Bolt,D.J. (1983). "Changes in plasma estrogen, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and 13,14-



dihydro-15 keto-prostaglandin  $F_2\alpha$  during blockade of luteolysis in pigs after human chorionic gonadotropin treatment". *J. Anim. Sci.*, 57, 993-1000.

Guthrie,H.D.; Pursel,V.G.; Bolt,D.J. y Nachman,R.J. (1984). "Effect of gonadotropin-releasing hormone, stage of sexual maturation and 6-methoxybenzoxazolinone on plasma gonadotropins, ovarian development and uterine weight in prepuberal gilts". *Theriogenology*, 22, 683-692.

Guthrie,H.D. y Bolt,D.J. (1985). "Pituitary and ovarian hormone secretion and ovulation in gilts injected with gonadotropins during and after oral administration of progesterone agonist (altrenogest)". *Biology of Reproduction*, 33, 679-689.

Haley,C.S. y Lee,G.J. (1990). "Genetic components of litter size in Meishan and Large White pigs and their crosses". *Proc. 4<sup>th</sup> Wld. Congr. Genetics Applied to Livestock Production*, Edinburgh. Vol. XV, 458-461.

Haley,C.S.; Ashworth,C.J.; Lee,G.J.; Wilmut,I.; Aitken,R.P. y Ritchie,W. (1990). "British studies of the genetics of prolificacy in the Meishan pig". *Symposium sur le porc chinois*. Toulouse 5-6 Julio. Francia.

Hallford,D.M.; Wetteman,R.P.; Turman,E.J. y Omtvedt,I.T. (1975). "Luteal function in gilts after prostaglandin  $F_2\alpha$ ". *J. Anim. Sci.*, 41, 1706-1710.

Haney, A.F. y Schomberg, D.W. (1978). "Steroidal modulation of progesterone secretion by granulosa cells from large porcine follicles: a role for androgens and estrogens in controlling steroidogenesis". *Biol. Reprod.*, 19, 242-248.

Haney, A.F. y Schomberg, D.W. (1981). "Estrogen and progesterone production by developing porcine follicles in vitro: evidence for estrogen formation by theca". *Endocrinology*, 109, 971-977.

Helmond, F.; Aanink, A. y Oudenaarden, C. (1986). "Periovulatory hormone profiles in relation to embryonic development and mortality in pigs". En: *Embryonic mortality in farm animals*. Editores: J.M. Sreenan y M.G. Diskin.

Henderson, R.; Stolba, A.; Döbeli, M. y Kündig, H. (1985). "Attempts to develop a simple, objective test for oestrus in sows". *J. Agric. Sci.*, 105, 129-133.

Henricks, D.M.; Guthrie, H.D. y Handlin, D.L. (1972). "Plasma estrogen, progesterone and luteinizing hormone levels during the estrous cycle in pigs". *Biology of reproduction*, 6, 210-218.

Hsueh, A.J.W.; Adashi, E.Y.; Jones, P.B.C. y Welsh, T.H. Jr. (1984). "Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells". *Endocr. Rev.*, 5, 76-127.

Hudson, K.E. y Hillier, S.G. (1985). "Catechol oestradiol control of FSH-stimulated granulosa cell steroidogenesis". *J. Endocr.*, 106, R1-R4.

Hughes, P.E. y Cole, D.J.A. (1976). "Reproduction in the gilt. 2. Influence of gilt age at boar introduction on the attainment of puberty". *Anim. Prod.*, 23, 89-94.

Hughes, P.E. (1982). "Factors affecting the natural attainment of puberty in the gilt". *Control of Pig Reproduction*, (eds. D.J.A.Cole y G.R.Foxcroft), pp. 117-138.

Hunter, R.H.F. (1964). "Superovulation and fertility in the pig". *Anim. Prod.*, 6, 189-194.

Hunter, R.H.F. (1966). "The effect of superovulation on fertilization and embryonic survival in the pig". *Anim. Prod.*, 8, 457-465.

Hunter, R.H.F.; Cook, B. y Baker, T.G. (1976). "Dissociation of responses to injected gonadotropin between the Graafian follicle and oocyte in pigs". *Nature, Lond.*, 260, 156-158.

Ireland, J.J. (1987). "Control of ovarian follicular growth and development". *J. Reprod. Fert.*, supl. 34, 39-54.

Johansson, E.D.B. (1969). "Progesterone levels in peripheral plasma during the luteal phase of the normal human menstrual cycle measured by a rapid competitive protein binding technique". *Acta Endocr., Copenh.*, 61, 592.

Jonasson, J.A. y Richards, J.S. (1980). "Granulosa cell desensitisation; effects of gonadotropins on antral and preantral follicles". *Endocr.*, 106, 1786-1794.

Karlbom, I.; Einarsson, S. y Edqvist, L.E. (1982). "Attainment of puberty in female pigs: clinical appearance and patterns of progesterone, oestradiol-17 $\beta$  and LH". *Anim. Reprod. Sci.*, 4, 301-312.

Kelly, C.R.; Socha, T.E. y Zimmerman, D.R. (1988). "Characterization of gonadotropic and ovarian steroid hormones during the periovulatory period in high ovulating select and control line gilts". *J. Anim. Sci.*, 66, 1462-1474.

Kirsch, J.D.; Tilton, J.E.; Ziecik, A.; Weigl, R.; Schaffer, T. y Williams, G.L. (1985). "Effects of various mating stimuli on pituitary release of luteinizing hormone in the gilt". *Dom. Anim. Endocr.*, 2, 99-104.

Knox, R.V.; Naber, C.H. y Zimmerman, D.R. (1991). "Follicle-stimulating hormone (FSH) during the secondary surge in gilts as influenced by administration of porcine follicular fluid (pFF)". *J. Anim. Sci.*, 69, 761-769.

Kraeling, R.R.; Dziuk, P.J.; Pursel, V.G.; Rampacek, G.B. y Webel, S.K. (1981). "Synchronization of estrus in pigs with allyl trenbolone (RU-2267)". *J. Anim. Sci.*, 52, 4.

Lahlou-Kassi, A. y Mariana, J.C. (1984). "Ovarian follicular growth during the oestrous cycle in two breeds of ewes of different ovulation rate, the D'Man and the Timahdite". *J. Reprod. Fert.*, 72, 301-310.

Land,R.B. (1976). "The sensitivity of the ovulation rate of Finnish Landrace and Blackface ewes to exogenous oestrogen". J. Reprod. Fert., 48, 217.

Lee,C.Y. (1978). "Adenylate cyclase of porcine granulosa cells: Differential responses to gonadotropins during follicle maturation". Endocrinology, 103, 1153-1158.

Lee,C.Y. y Takahashi,H. (1977). "Follicle-stimulating hormone receptors in rat ovaries; decrease in numbers of binding sites associated with luteinization". Endocr., 101, 869-875.

Lee,J.H.; Park,C.S. y Lee,K.S. (1985). "Studies on the change of sex hormone levels throughout the estrous cycle and pregnancy in the gilts". Res. Rept. R.D.A., 27, 1-8.

Legault,C. (1978). "Particularités zootechniques des porcs élevés en république populaire de China". Bull. Tech. Inf., (I.N.R.A.), 327, 115-125.

Legault,C. y Gruand,J. (1981). "Effets additifs et non-additifs des gènes sur la précocité sexuelle, le taux d'ovulation et la mortalité embryonnaire chez la jeune truie". Journées de la Recherche Porcine en France, 13, 247-254.

Legault,C. y Caritez,J.C. (1982). "Premier bilan de l'expérimentation sur le porc chinois en France. 1. Performances de reproduction en race pure et en croisement". Journées recherche porcine en France, 14, 127-136.

Legault, C. y Caritez, J.C. (1983). "L'experimentation sur le porc chinois en France. I. Performances de reproduction en race pure et en croisement". *Génet. Sél. Evol.*, 15, 225-240.

Legault, C. (1985). "Selection of breeds, strains and individual pigs for prolificacy". *J.Reprod.Fert.*, suppl. 33:151-166.

Lindner, H.R.; Amsterdam, A.; Salomon, Y.; Tsafiriri, A.; Nimrod, A.; Lamprecht, S.A.; Zor, U. y Koch, Y. (1977). "Intraovarian factors in ovulation; determinants of follicular response to gonadotrophins". *J. Reprod. Fert.*, 51, 215-235.

Liptrap, R.M. y Raeside, J.E. (1966). "Luteinizing hormone activity in blood and urinary oestrogens excretion by the sow at oestrous and ovulation". *J. Reprod. Fert.*, 11, 439.

Lischinsky, A. y Armstrong, D.T. (1983). "Granulosa cell stimulation of thecal androgen synthesis". *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 61, 472-477.

Loeken, M.R. y Channing, C.P. (1985). "Direct evidence for de-novo synthesis of LH receptors in cultured pig granulosa cells in response to FSH". *J. Reprod. Fert.*, 73, 343-351.

Longenecker, D.E. y Day, B.N. (1968). "Fertility level of sows superovulated at post-weaning estrus". *J. Anim. Sci.*, 27, 709.

Lunaas, T. (1962). "Urinary oestrogens levels in the sow during oestrous cycle and early pregnancy". *J. Reprod. Fert.*, 4, 13-20.

Lutz, J.B.; Rampacek, G.B.; Kraeling, R.R. y Pinkert, C.A. (1984). "Serum luteinizing hormone and estrogen profiles before puberty in the gilt". *J. Anim. Sci.*, 58, 686-691.

Malmgren, L.; Karlberg, K. y Göranson, L. (1983). "Synchronization of oestrus in gilts with a progestin [Oxolven (SA 45249)]". *Nord. Vet. Med.*, 35, 360-363.

Martin Rillo, S.; Pursel, V.G.; García Casado, P.; Sánchez Sánchez, R.; Sebastián Poza, J.J. y Pintado, B. (1989). "Cultivo de embriones de porcino en primeros estadios de desarrollo". *Forum Internacional sobre reproducción animal*, 8, 9 y 10 Nov., 126-128.

Martinat-Botté, F.; Bariteau, F.; Scheid, J.P. y Mauleon, P. (1980). "Use of progestagen (RU-2267) for oestus control in gilts". *I.P.V.S. Copenhagen. Dinamarca.* p. 47.

Martinat-Botté, F.; Bariteau, F.; Badouard, B. y Terqui, M. (1985). "Control of pig reproduction in a breeding programme". *J. Reprod. Fert., Suppl.* 33, 211-228.

Martinat-Botté, F.; Bazer, F.W. y Terqui, M. (1989). "Embryonic survival mechanism in chinese Meishan and hyperprolific Large White (LWh) gilts". *Proc. 3<sup>rd</sup> Int. Conf. Pig Reprod.*, Abstr. 45, 11-14 Abril.

Martinez García, E.; Pérez García, T.; Tapia Hompanera, A.; Pérez Marcos, C.; Sebastián, J.J.; Gómez Brunet, A. y Martin Rillo, S. (1985). "Estudio de los niveles plasmáticos de progesterona

durante el ciclo estral en cerdas Ibéricas y Large White". *Medicina Veterinaria*, 2, 209-217.

Martinez García,E.; Tapia Hompanera,A.; Pérez Marcos,C.; Sebastian,J.J.; Martin Rillo,S. y Gómez Brunet,A. (1985). "Niveles plasmáticos de LH durante el ciclo estral en la cerda Ibérica y LW. (Pico preovulatorio de LH)". *Medicina Veterinaria*, 2, 333-349.

Masuda,H.; Anderson,L.L.; Henricks,D.M. y Melampy,R.M. (1967). "Progesterone in ovarian venous plasma and corpora lutea of the pig". *Endocrinology*, 80, 240-246.

May,J.V. y Schomberg,D.W. (1984). "Developmental coordination of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin (hCG) receptors and acute hCG responsiveness in cultured and freshly harvested porcine granulosa cells". *Endocr.* 114, 153-163.

Mayer,P. y Schütze,E. (1977). "A new progestin (SA 45249) for cycle control in pigs. Communication, I: Hormonal activities and dosage. IV: Analysis of hormonal blood levels". *Theriogenology*, 8, 357-366.

McLaren,D.G. (1990). "Potential of chinese pig breeds to improve pork production efficiency in the U.S.A.". *Animal breeding Abstracts*, 58, 347-369.

Nakano,R.; Akahori,T.; Katayama,K. y Tojo,S. (1977). "Binding of LH and FSH to porcine granulosa cells during follicular maturation". *J. Reprod. Fert.*, 51, 23-27.



Neill, J.D. y Day, B.N. (1964). "Relationship of developmental stage to regression of corpus luteum in swine". *Endocrinology*, 74, 355-360.

Nellor, J.E. (1960). "Control of estrus and ovulation in gilts by orally effective progestational compounds". *J. Anim. Sci.*, 19, 412-420.

Nellor, J.E.; Ahrenhold, J.E.; First, N.L. y Hoefler, J.A. (1961). "Control of estrus and ovulation in gilts by orally effective progestational compounds". *J. Anim. Sci.*, 20, 22-30.

Niswender, G.D.; Reichert, L.E. y Zimmerman, D.R. (1970). "Radioimmunoassay of serum levels of luteinizing hormone throughout the estrous cycle in pigs". *Endocrinology*, 87, 576.

Niwa, T.; Kanematsu, S.; Yanaka, T.; Hashizume, T. y Yamanaka, H. (1981). "Estrus behaviours and plasma levels of luteinizing hormone, progesterone and estradiol-17 $\beta$  in sows". *Bull. Lab. A.I., Iwate University*, 2, 25-31.

Ogata, Y. (1979). "Physiological characterization of ovulation rate in swine selected for high ovulation rate". Tesis doctoral. Universidad de Nebraska, Lincoln.

O'Reilly, P.J.; Mc Cormack, R. y O'Mahoney, K. (1979). "Oestrus synchronization and fertility in gilts using a synthetic progestagen (allyl trenbolone) and inseminated with fresh stored or frozen semen". *Theriogenology*, 12, 131-137.

Oxender,W.D.; Colenbrander,B.; Van de Wiel,D.F.M. y Wensing,C.J.G. (1979). "Ovarian development in fetal and prepubertal pigs". Biol. Reprod., 21, 715-721.

Parlow,A:F;; Anderson,L.L. y Melampy,R.M. (1964). "Pituitary follicle stimulating hormone and luteinizing hormone concentrations in relation to reproductive stages of the pig". Endocrinology, 75, 365.

Parvizi,N.; Elsaesser,F.; Smidt,D. y Ellendorff,F. (1976). "Plasma luteinizing hormone and progesterone in the adult female pig during the oestrous cycle, late pregnancy and lactation and after ovariectomy and pentobarbitone treatment". J. Endocr., 69, 193-203.

Paterson,A.M. (1982). "The controlled induction of puberty". En: Control of Pig Reproduction, pp 139-159. Eds. D.J.A. Cole y G.R. Foxcroft. Butterworths, Londres.

Pelletier,J.; Carrez-Camous,S: y Theiry,J.C. (1981). "Basic neuroendocrine events before puberty in cattle, sheep and pigs". J. Reprod. Fert., supl. 30, 91-102.

Pérez García,T.; Martin Rillo,S.; Martinez García,E. (1982). "Control del ciclo sexual de cerdas nulíparas mediante el uso de un derivado de la nortestosterona (SH 45249)". Zootechnia, 31, 97-104.

Pérez García,T.; Martin Rillo,S. y Martinez García,E. (1984). "Control del ciclo sexual en cerdas nulíparas con alil tremblona". Zootechnia, 33, 172-176.

Phillips,R.; Hsu,T.Y. (1944). "Chinese swine and their performances compared with modern and crosses between chineses and modern breeds". J. Hered., 35, 365-379.

Polge,C. (1965). "Effective synchronization of oestrus in pigs after treatment with ICI compound 33828". Vet. Rec., 77, 232-236.

Polge,C. (1966). "Recent advances in controlled breeding of pigs". Outlook on Agriculture, 5, 44-48.

Polge,C.; Day,B.N. y Groves,T.W. (1968). "Synchronization of ovulation and artificial insemination in pigs". Vet. Rec., 83, 136-142.

Pond,W.G.; Hansel,W.; Dunn,J.A.; Bratton,R.W. y Foote,R.H. (1965). "Estrous cycle synchronization and fertility in gilts fed progestational and estrogen compounds". J. Anim. Sci., 24, 536-540.

Pope,C.E.; Vincent,C.K. y Thrasher,D.M. (1968). "Effect of ICI 33828 and PMS on reproduction in gilts". J. Anim. Sci., 27, 303 (Abstr.).

Pope,C.E.; Christenson,R.K.; Zimmerman-Pope,V.A. y Day,B.N. (1972). "Effect of number of embryos on embryonic survival in recipient gilts". J. Anim. Sci., 35, 805-808.

Prunier,A.; Caritez,J.C. y Bonneau,M. (1987). "Developpement de l'appareil génital des porcs mâles et femelles et évolution

de la teneur en androsténone du tissu adipeux des verrats de races européenne ou chinoise". Ann. Zootech., 36, 49-58.

Prunier,A. y Chopineau,M. (1990). "Sexual maturation of Meishan gilt". Symposium sur le porc chinois. Toulouse 5-6 Julio. Francia.

Pursel,V.G.; Elliott,D.O.; Newman,C.W. y Staigmiller,R.B. (1981). "Synchronization of estrus in gilts with allyl trenbolone: Fecundity after natural service and insemination with frozen semen". J. Anim. Sci., 52, 130.

Ray,D.E. y Seerley,R.W. (1966). "Oestrus and ovarian morphology in gilts following treatment with orally effective steroids". Nature, Lond., 211, 1102-1103.

Rayford,P.L.; Brinkley,H.J.; Young,E.P. y Reichert,L.E.Jr. (1974). "Radioimmunoassay of porcine FSH". J. Anim. Sci., 39, 348-354.

Redmer,D.A. y Day,B.N. (1981). "Ovarian activaty and hormonal patterns in gilts fed allyl trenbolone". J. Anim. Sci., 53, 1088-1094.

Redmer,D.A.; Christenson,R.K.; Ford,J.J. y Day,B.N. (1985). "Effect of follicular fluid treatment on follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and compensatory ovarian hypertrophy in prepuberal gilts". Biol. Reprod., 32, 111.

Ritzhaupt, L.K.; Nowak, R.A.; Calvo, F.O.; Khan, I.M. y Bahr, J.M. (1986). "Adenylate cyclase activity of the corpus luteum during the oestrous cycle of the pig". *J.Reprod. Fert.*, 78, 361-366.

Rojanasthien, S.; Henriksson, A.; Seguin, B.E. y Einarsson, S. (1988). "Utero-ovarian vein catheterization in the pig: Blood levels of oestradiol-17 $\beta$  and progesterone during follicular and early luteal phases in the gilt". *J. Vet. Med. A*, 35, 24-30.

Rolland, R. y Hammond, J.M. (1975). "Demonstration of specific receptor for prolactin in porcine granulosa cells". *Endocr. Res. Commun.*, 2, 281-298.

Rombauts, P.; Mazzari, G. y Du Mesnil du Buisson, F. (1982). "Premier bilan de l'experimentation sur le porc chinois en France. 2. Estimation de composantes de la prolificité: taux d'ovulation et survie foetale". *Journées recherche porcine en France*, 14, 137-142.

Ruixiang, W. (1990). "Reproductive characteristics of the Fengjing pigs". *Symposium sur le porc chinois. Toulouse 5-6 Julio. Francia.*

Runsheng, C. (1987). "Development of the Sanjiang White breed of pigs". *Pig News and Information*, 8, 309-313.

Schilling, E y Cerne, F. (1972). "Induction and synchronization of oestrus in prepubertal gilts and anoestrus sows by PMS/HCG-compound". *Vet. Rec.*, 91, 471-474.

Schutze, E. y Mayer, P. (1977). "A new progestin (SA 45249) for cycle controls in pigs. Communication II: Duration of treatment and effectiveness as and estrous cycle synchronizer". *Theriogenology*, 8, 379-388.

Schwartz, N.B. y Channing, C.P. (1977). "Evidence for ovarian "inhibin": Suppression of the secondary rise in serum follicle stimulating hormone levels in proestrous rats by injection of porcine follicular fluid". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 721.

Sellier, P. y Legault, C. (1986). "The chinese prolific breeds of pigs: examples of extreme genetic stocks". *Exploiting new technologies in animal breeding: genetic developments / edited by C. Smith, King y McKay. Oxford University*, pp 153-162.

Shiging, X.; Wang, S.H.; Wong, J.Q.; Hua, Y.G.; Chang, G.C.; Zhu, H.Z.; Chen, Z.W. (1983). "Studies on age of sexual maturity of Jiaying black gilts". *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 14, 99-104.

Siebers, J.W.; Peters, F.; Zenzes, M.T.; Schmidtke, J. y Engel, W. (1977). "Binding of human chorionic gonadotrophin to rat ovary during development". *J. Endocr.*, 73, 491-496.

Simmen, R.C.M.; Simmen, F.A.; Ko, Y.; Bazer, F.W. (1989). "Differential growth factor content of uterine luminal fluids from Large White and prolific Meishan pigs during the estrous cycle and early pregnancy". *J. Anim. Sci.*, 67, 1538-1545.

Stabenfeldt, G.H.; Akins, E.L.; Ewing, L.L. y Morrissette, M.C. (1969). "Peripheral plasma progesterone levels in pigs during the oestrous cycle". *J. Reprod. Fert.*, 20, 443-449.

Stevenson, J.S. y Davis, D.L. (1981). "Estrous synchronization in gilts fed allyl trenbolone 14 or 18 days beginning 0 to 21 days post-estrus". *Am. Soc. Anim. Sci.*, 1981. Ann. Meeting 53, (supl. 1), 368.

Stoklosowa, S.; Gregoraszczyk, E. y Channing, C.P. (1982). "Estrogen and progesterone secretion by isolated cultured porcine thecal and granulosa cells". *Biol. Reprod.*, 26, 943-952.

Stratman, F.W. y First, N.L. (1965). "Estrus inhibition gilts fed a dithiocarbamoylhydrazine (ICI 33828)". *J. Anim. Sci.*, 24, 930.

Terqui, M.; Bazer, F.W. y Martinat-Botté, F. (1990). "Mechanism involved in the high prolificacy of the Meishan breed". *Symposium sur le porc chinois. Toulouse 5-6 Julio. Francia.*

Tillson, S.A.; Erb, R.E. y Niswender, G.D. (1970). "Comparison of luteinizing hormone and progesterone in urine of domestic sows during the estrous cycle and early pregnancy". *J. Anim. Sci.*, 30, 795-805.

Tilton, J.E.; Foxcroft, G.R.; Ziecik, A.J.; Coombs, S.L. y Williams, G.L. (1982). "Time of the preovulatory LH surge in the gilt and sow relative to the onset of behavioral estrus". *Theriogenology*, 18, 227-236.

Tsang, B.K.; Ainsworth, L.; Downey, B.R. y Marcus, G.J. (1985). "Differential production of steroids by dispersed granulosa and theca interna cells from developing preovulatory follicles of pigs". *J. Reprod. Fert.*, 74, 459-471.

Tsang, B.K.; Arodi, J.; Li, M.; Ainsworth, L.; Sri Kandakumar, A. y Downey, B.R. (1988). "Gonadotropic regulation of prostaglandin production by ovarian follicular cells of the pig". *Biol. Reprod.*, 38, 627-635.

Tsonis, C.G.; Quigg, H.; Lee, V.W.K.; Leversha, L.; Trounson, A.O. y Findlay, J.K. (1983). "Inhibin in individual ovine follicles in relation to diameter and atresia". *J. Reprod. Fert.*, 67, 83.

Ulberg, L.C.; Grummer, R.H.; y Casida, L.E. (1951). "The effects of progesterone upon ovarian function in gilts". *J. Anim. Sci.*, 10, 665-671.

Van de Wiel, D.F.M.; Erkens, J.; Koops, W.; Elene vos y Van Landeghem, A.A.J. (1981). "Periestrous and midluteal time courses of circulating LH, FSH, prolactin, estradiol-17 $\beta$  and progesterone in the domestic pig". *Biology of reproduction*, 24, 223-233.

Veldhuis, J.D.; Klase, P.A. y Hammond, J.M. (1980). "Divergent effects of prolactin upon steroidogenesis by porcine granulosa cells in vitro: influence of cytodifferentiation". *Endocrinology*, 107, 42-46.



Veldhuis, J.D.; Klase, P.A. y Hammond, J.M. (1981). "Sex steroids modulate prolactin action in spontaneously luteinizing porcine granulosa cells in vitro". *Endocrinology*, 108, 1463-1468.

Wagner, J.F. y Seerley, R.W. (1961). "Synchronization of estrus in gilts with an orally active progestin". *J. Anim. Sci.*, 20, 980-981.

Webel, S.K.; Peters, J.B. y Anderson, L.L. (1970). "Control of estrus and ovulation in the pig by ICI 33828 and gonadotropins". *J. Anim. Sci.*, 30, 791.

Webel, S.K. y Rippel, R.H. (1975). "Ovulation in the pig with releasing hormones". *J. Anim. Sci.*, 41, 385.

Webel, S.K.; Reimers, T.J. y Dziuk, P.J. (1975). "The lack of relationship between plasma progesterone levels and numbers of embryos and their survival in the pig". *Biol. Reprod.*, 13, 177.

Webel, S.K. (1978). "Ovulation control in the pig". En: *Control of ovulation*, (D.G.Crichton, N.B.Haynes, G.R.Foxcroft y G.E.Lamming, Eds.), Cap. 23: , 421-434.

Welsh, T.H.Jr.; Jones, P.B.C.; Ruiz de Galarreta, C.M.; Fanjul, L.F. y Hsueh, A.J.W. (1982). "Androgen regulation of progestin biosynthetic enzymes in FSH-treated rat granulosa cells in vitro". *Steroids*, 40, 691-700.

Wetteman, B.P.; Johnson, R.K. y Ontvedt, I.T. (1980). "The relationship between plasma progesterone and LH and the numbers

of corpora lutea and embryos in purebred and crossbred gilts".  
J. Anim. Sci., 51, 1352.

Wilfinger, W.W. Jr. (1974). "Plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and prolactin in ovariectomized, hysterectomized and intact swine". Thesis doctoral.

Wilmut, I.; Haley, C.S.; Ashworth, C.J.; Aitken, R.P. y Ritchie, W. (1990). "Embryo development and embryo transfer in Meishan and Large White pigs". Proc. 4<sup>th</sup> Wld. Congr. Genetics Applied to Livestock Production. Edinburgh. Vol. XVI, pp. 347-350.

Wrathall, A.E. (1980). "Ovarian disorders in the sow". The veterinary bulletin, 50, 253-272.

Wu, M.C.; Hentzel, M.D. y Dziuk, P.J. (1987). "Relationship between uterine length and number of fetuses and prenatal mortality in pigs". J. Anim. Sci., 65, 762-770.

Xia, Z. (1976). "On the origins of chinese pigs following the pigs bones and pottery pigs unearthed in the ruins of Hemudu". WenWu (Historical Relics). N. 8.

Yun, W.L. (1988). "Pig breeds in China". Pig News and Information, 9, 407-413.

Zerobin, K. (1977). "A new progestin (SA 45249) for cycle control in pigs. Communication III: Confirmation of effectiveness in field trials". Theriogenology, 8, 379-388.

Zhang,W.C.; Wu,J.S. y Rempel,W.E. (1983). "Some performance characteristics of prolific breeds of pigs in China". Livestock Production Science, 10, 59-68.

Zhen-Ying,X. (1985). "On the biological and economical traits of ten chinese indigenous breeds of pigs". Pig News and Information, 6, 301-309.

Zhihua,J.; Yunshan,G. y Jian,Z. (1988). "Crossbreeding of pigs - its development and experimental results in China". Pig News and Information, 9, 257-263.

Zhilong,Z. (1990). "The characteristics of chinese pig breeds". Symposium sur le porc chinois. Toulouse 5-6 Julio. Francia.

Ziecik,A.; Krzymowska,H. y Tilton,J.E. (1982). "Porcine LH levels during the estrous cycle, gestation, parturition and early lactation". J. Anim. Sci., 54, 1221-1226.