

CATEGORIAS FOLICULARES ASOCIADAS AL COMPORTAMIENTO DE MONTA EN EL CONEJO DE CARNE:  
EFECTOS SOBRE LAS ESTRUCTURAS UTERINAS.

M.Plá  
M.Baselga  
F.García  
J.Deltoro

Cátedra de Fisiogenética de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.  
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA. C/ Camino de Vera, 14. VALENCIA, 22. SPAIN.

INTRODUCCION

Actualmente se acepta plenamente la acción trófica de los esteroides sexuales sobre las estructuras uterinas. En base a ello se intenta establecer la relación existente entre la presencia y número de determinadas categorías foliculares -asociadas a la manifestación o no del comportamiento de monta- con el grado de desarrollo del útero y algunas de sus estructuras histológicas.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 60 conejas, nulíparas y primíparas, de formato medio, adaptadas a jaulas con suelo de rejilla y alojadas en condiciones de ambiente controlado, con 16 horas de iluminación diaria. La entrada en reproducción se realiza a los cuatro meses y medio de edad. Después de un parto, no se presentan las conejas al macho sino hasta transcurridos 10 días del mismo.

Las conejas utilizadas en esta experiencia fueron presentadas al macho, anotando si aceptaban o no la monta, sacrificándolas a continuación y extirpándoles el aparato reproductor. Los cuernos uterinos fueron separados entre sí y del resto de las estructuras, pesándose a continuación cada uno de ellos, habiéndose eliminado previamente el mesometrio.

Tanto los ovarios como los cuernos uterinos se fijaron y conservaron en formalina(10%) hasta su procesado.

De cada coneja se obtienen seis muestras, tres por cuerno uterino, correspondientes respectivamente a las zonas oviductal, media y cervical de cada uno de ellos. Utilizando un microtomo de congelación se obtienen cortes de  $10\mu$  de espesor, perpendiculares al eje longitudinal del cuerno uterino, para todas las muestras, que se tiñen con solución hidroalcohólica de eosina al 4%. Las secciones son observadas en un microscopio provisto de objetivo 2'5X y cuyo ocular se sustituyó por una pantalla circular de 10X sobre la que se adapta un retículo cuyas divisiones se corresponden a 0.1 mm. de la preparación.

Para cada sección y sobre las líneas mesometrial-antimesometrial y su perpendicular, se obtienen una serie de medidas que permiten definir, en cada sección, la superficie del miometrio, así como la altura de la mucosa, como media de las medidas obtenidas en cada sección, consideradas las crestas endometriales.

Los ovarios se incluyen en parafina, obteniendo tiras de cortes seriados de  $40\mu$  de espesor, de los cuales se toma un corte de cada siete, constituyendo con ellos una nueva serie, reducida, de cortes seriados para cada ovario, a la que se aplica una tinción diferencial de hematoxilina-eosina.

Cada una de las series reducidas es observada bajo microscopio, anotando de todas las secciones de cada folículo, el diámetro máximo y mínimo. Se considera como diámetro del folículo la media de los diámetros máximo y mínimo de la sección del mismo en que dicha media alcanza su máximo valor.

Se establece una partición en 30 categorías (con intervalos de 0.05 mm. entre cada una) de todos los folículos cuyo diámetro medio máximo antes calculado, sea igual o superior a 0.5 mm., siendo la última categoría aquella que agrupa a los folículos con un diámetro medio máximo superior a los 1'95 mm.

Careciendo de un analizador de imágenes, el grosor del corte y la selección de uno de cada siete cortes, vino condicionado por el gran número de los mismos y el número relativamente elevado de conejas utilizadas en la experiencia. Por ello no ha sido posible diferenciar entre folículos atrésicos y no atrésicos en base a la presencia o no de núcleos picnóticos en las células de la granulosa.

RESULTADOS Y DISCUSION

a) desarrollo uterino

Para contrastar la posible existencia de un grado de desarrollo diferencial entre cuernos uterinos de cada una de las conejas, e incluso entre los diferentes tramos a nivel de cada cuerno uterino, se tomaron un total de seis muestras, correspondientes tres a cada uno de los tramos superior, medio e inferior de cada uno de los dos cuernos uterinos. Sobre los datos de las conejas que montaron y sobre los correspondientes a las que habían rechazado la monta, se realizó por separado un análisis de varianza, cuyos resultados se muestran en la tabla I. Así pudo contrastarse la hipótesis de no existencia de diferencias significativas entre las seis

TABLA I. ANOVA sobre las variables SUPERFICIE DEL MIOMETRIO (SMIO) y ALTURA DE LA MUCOSA (MUCOSA). En conejas que MONTAN y en conejas que NO MONTAN

|        | MONTAN |      | NO MONTAN |      |
|--------|--------|------|-----------|------|
|        | F      | IP   | F         | IP   |
| SMIO   | 0.21   | 0.96 | 0.20      | 0.96 |
| MUCOSA | 0.12   | 0.99 | 0.02      | 1.00 |

F- F de Snedecor ; IP= Probabilidad de cola

muestras tomadas, lo que permitió utilizar como valor global del desarrollo de las estructuras histológicas uterinas para cada coneja, la media de las seis medidas antes citadas.

Se utilizó además como valor del peso uterino, la suma de los pesos de ambos cuernos uterinos disecados.

En la tabla II se comparan los valores medios del peso uterino, de la superficie miometrial y de la altura de la mucosa entre las conejas que montan y las que no. Se observa que en todos los casos las diferencias son significativas estadísticamente. Ello es esperable si se considera que la aceptación de la monta está ligada a determinados niveles y tipos de estrógenos circulantes (BEYER Y McDONALD, 1973), estrógenos que ejercen una acción trófica sobre las estructuras uterinas (CLAUBERG, 1930).

TABLA II. MEDIAS (M) y COEFICIENTES DE VARIACION (CV), de PESO UTERINO (PEUT), SMIO, y MUCOSA, en conejas que MONTAN, NO MONTAN y GLOBAL.

|        | MONTAN             |      | NO MONTAN |      | GLOBAL  |      |
|--------|--------------------|------|-----------|------|---------|------|
|        | M                  | CV   | M         | CV   | M       | CV   |
| PEUT   | 5946.41            | 0.54 | 4258.43   | 0.54 | 5018.02 | 0.60 |
| Prob-t | ----- 0.0215 ----- |      |           |      |         |      |
| SMIO   | 747.93             | 0.52 | 489.30    | 0.56 | 605.68  | 0.59 |
| Prob-t | ----- 0.0040 ----- |      |           |      |         |      |
| MUCOSA | 14.39              | 0.35 | 11.15     | 0.43 | 12.61   | 0.41 |
| Prob-t | ----- 0.0136 ----- |      |           |      |         |      |

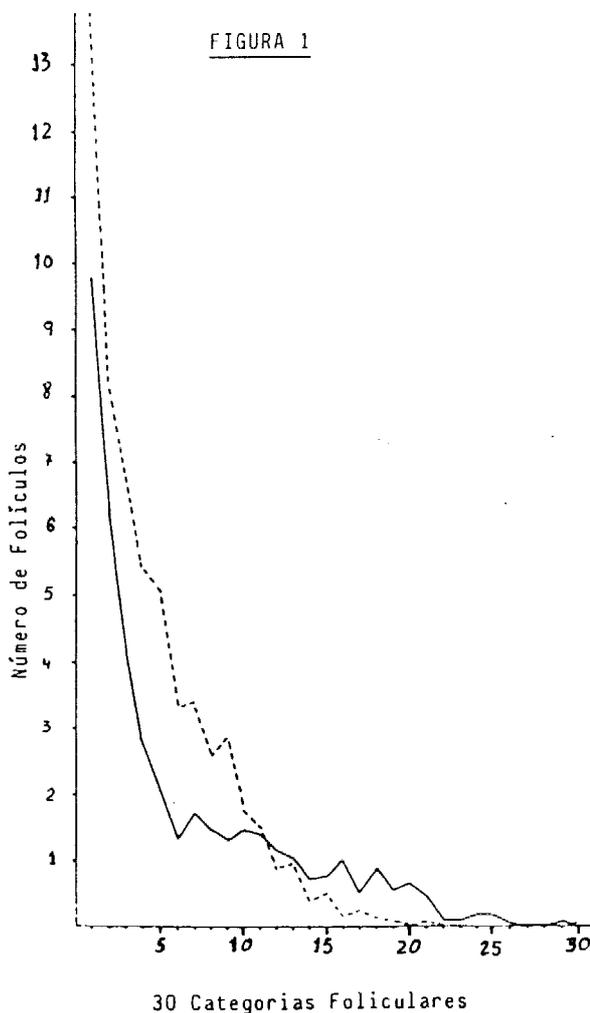
Otro punto de interés ha sido comprobar el alto grado de correlación entre el peso del útero y el desarrollo del miometrio, reflejado por su superficie, tanto en conejas que montan como en las que no montan, así como en el global de las conejas (tabla III). Las correlaciones entre el resto de las variables es de menor entidad.

TABLA III. CORRELACIONES de PEUT, SMIO y MUCOSA

|        |           | GLOBAL |        |        |
|--------|-----------|--------|--------|--------|
|        |           | PEUT   | SMIO   | MUCOSA |
| PEUT   | MONTAN    | /      | 0.9256 | 0.7211 |
|        | NO MONTAN |        |        |        |
| SMIO   | MONTAN    | 0.9030 | /      | 0.7801 |
|        | NO MONTAN | 0.9460 |        |        |
| MUCOSA | MONTAN    | 0.7155 | 0.8323 | /      |
|        | NO MONTAN | 0.6832 | 0.6784 |        |

b) poblaciones foliculares

En la figura 1 se representa el número de folículos correspondientes a cada una de las categorías antes citadas, en las conejas que montan y que no montan, observándose un mayor número de folículos, en las categorías de menor tamaño, en el grupo de conejas que no aceptaron la monta frente a las que lo hicieron. Tales diferencias se amortiguan en las

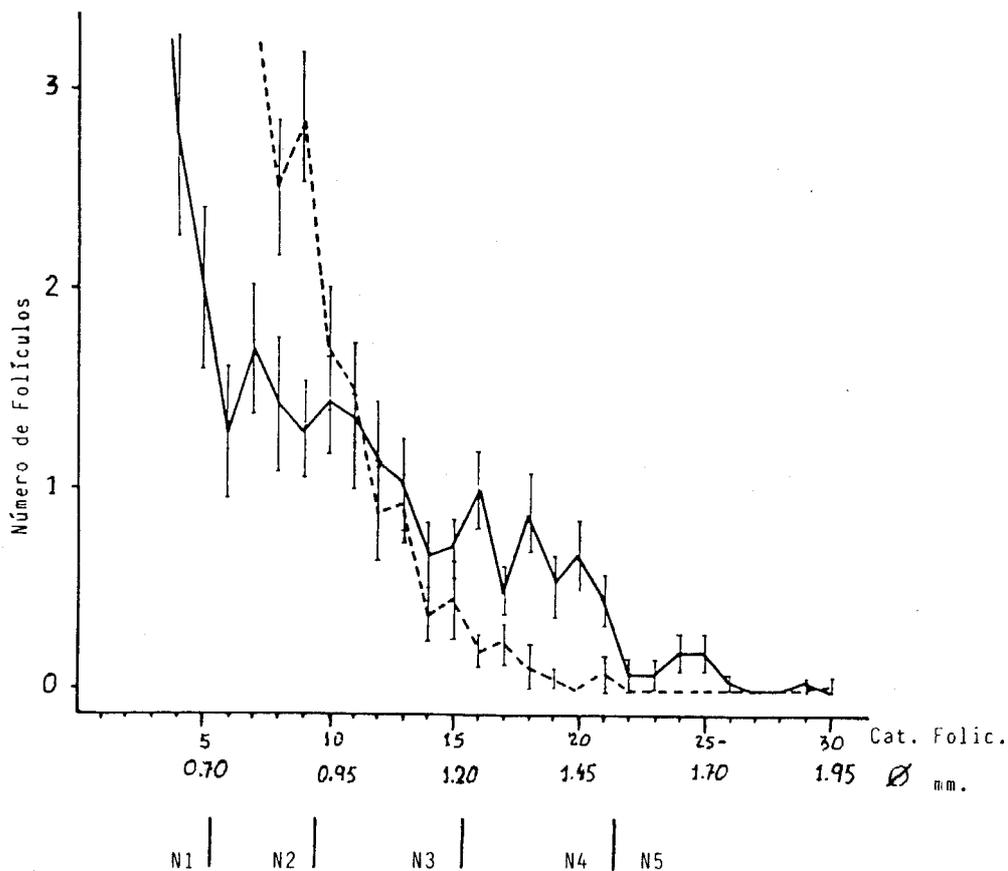


categorías de tamaños medios (categorías 10 a 15), mientras que, a partir de ésta última se cambian las tornas en favor de las conejas que montaron. En las categorías correspondientes a los folículos de tamaño superior a 1.5 mm. (categoría 21) sólo una coneja de las que no aceptaron la monta presenta un único folículo.

Para mayor claridad, en la figura 2, se presenta la parte de la figura 1 correspondiente a las categorías foliculares con menos de tres folículos en promedio. En dicha figura se representan asimismo los errores típicos de las medias del número de folículos de cada una de las categorías foliculares consideradas.

En base a dichas figuras, se estableció una agrupación de las anteriores categorías foliculares, basada en las diferencias ya comentadas, entre las que aceptan, o no, la monta, quedando finalmente establecidas las cinco categorías siguientes:

FIGURA 2



- CATEGORIA N1 :Folículos con diámetro menor o igual a 0.7 mm.
- CATEGORIA N2 :Folículos con diámetro mayor que 0.7mm y menor o igual que 0.9mm
- CATEGORIA N3 :Folículos con diámetro mayor que 0.9mm y menor o igual que 1.2mm
- CATEGORIA N4 :Folículos con diámetro mayor que 1.2mm y menor o igual que 1.5mm
- CATEGORIA N5 :Folículos con diámetro superior a 1.5mm

En la figura anterior ,dichas categorías, se encuentran acotadas por flechas verticales.

La tabla IV recoge el número medio de folículos, en las conejas que montan y en las que no montan, para cada una de las cinco categorías.No se ha realizado una prueba de significación de diferencias de medias dado que la agrupación en estas categorías se ha hecho en función de dichas diferencias.

TABLA IV. MEDIAS(M) y COEFICIENTES DE VARIACION(CV) de las CATEGORIAS FOLICULARES N1,N2,N3,N4 y N5.

|    | MONTAN |      | NO MONTAN |      | GLOBAL |      |
|----|--------|------|-----------|------|--------|------|
|    | M      | CV   | M         | CV   | M      | CV   |
| N1 | 25.07  | 0.58 | 40.03     | 0.52 | 33.30  | 0.59 |
| N2 | 5.74   | 0.92 | 12.36     | 0.59 | 9.38   | 0.74 |
| N3 | 6.37   | 0.66 | 5.88      | 0.67 | 6.10   | 0.66 |
| N4 | 4.00   | 0.92 | 0.70      | 2.99 | 2.18   | 1.52 |
| N5 | 0.59   | 2.00 | 0.03      | 5.75 | 0.28   | 2.98 |

En el apartado siguiente pretendemos relacionar las categorías foliculares con el desarrollo de las estructuras uterinas, a efectos de obtener información sobre la función secretora de esteroides de las distintas categorías. En relación con ello, es necesario conocer previamente las correlaciones entre el número de folículos en las distintas categorías, lo que se recoge en la tabla V.

TABLA V. CORRELACIONES de N1, N2, N3, N4 y N5.

|    |           | GLOBAL  |         |         |         |         |
|----|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|
|    |           | N1      | N2      | N3      | N4      | N5      |
| N1 | MONTAN    |         |         |         |         |         |
|    | NO MONTAN |         | 0.5782  | -0.2162 | -0.3779 | -0.2833 |
| N2 | MONTAN    | 0.4216  |         |         |         |         |
|    | NO MONTAN | 0.5329  |         | -0.3766 | -0.4979 | -0.3068 |
| N3 | MONTAN    | -0.0205 | -0.0906 |         |         |         |
|    | NO MONTAN | -0.3307 | -0.6060 |         | -0.1278 | -0.2220 |
| N4 | MONTAN    | 0.2093  | -0.4060 | -0.3622 |         |         |
|    | NO MONTAN | -0.3136 | -0.3222 | 0.7940  |         | 0.3071  |
| N5 | MONTAN    | -0.2954 | -0.2887 | -0.3604 | 0.1857  |         |
|    | NO MONTAN | -0.1886 | -0.1031 | -0.0859 | 0.1984  |         |

En el análisis que considera el conjunto de los animales, se observa que, salvo entre la categoría N1 con la N2, cualquier otra categoría presenta coeficientes de correlación negativos con las categorías que le siguen en tamaño, con la excepción de la categoría N4, que presenta un coeficiente de correlación positivo, aunque muy bajo, con la categoría N5. Tendencia que se manifiesta asimismo al considerar los animales que montan y que no montan por separado. El hecho de que, por lo general, las correlaciones tengan valores bajos permitirá independizar la información que, en el apartado siguiente, obtengamos sobre la acción de las categorías en relación con las estructuras uterinas.

c) poblaciones foliculares y estructura del útero

Hemos observado (apartado-a-) diferencias altamente significativas en el desarrollo de estructuras uterinas entre las conejas que montaron y las que no. Asimismo (apartado-b-) hemos podido detectar también diferencias significativas en algunas de las categorías foliculares establecidas por nosotros, entre los grupos de conejas citados. Sólo resta contrastar cuales de dichas categorías foliculares son las determinantes del desarrollo uterino. Para ello se realizaron, siguiendo la técnica de la regresión lineal múltiple STEPWISE, los análisis correspondientes a peso uterino, superficie del miometrio y desarrollo de la mucosa, en los grupos de conejas que montan, en los que no montan y en el conjunto de ambos. Los resultados se muestran en la tabla VI.

En dicha tabla, se observa que casi exclusivamente es la categoría N4 la que determina el desarrollo de dichas estructuras en todos los grupos estudiados, alcanzando, siempre, el nivel de significación del 99%.

En general, y para las tres variables consideradas, puede observarse que las pendientes de las rectas de regresión son sistemáticamente mayores en las conejas que no montan, que en las que aceptan la monta. La explicación de este fenómeno creemos se debe al hecho de que, en ningún mamífero, el crecimiento de ningún órgano es de tipo indefinido, por lo que el peso del útero así como el desarrollo de las estructuras histológicas deben tender, asintóticamente, hacia su valor máximo.

TABLA VI. REGRESION STEPWISE . VARIABLES DEPENDIENTES : PEUT , SMIO , MUCOSA  
 VARIABLES INDEPENDIENTES : N1,N2,N3,N4,N5. En conejas que MONTAN,  
 NO MONTAN y GLOBAL.

|           | Y      | B       | N1 | N2    | N3   | N4     | N5 | SE      | R      | Sig. |
|-----------|--------|---------|----|-------|------|--------|----|---------|--------|------|
| MONTAN    | PEUT   | 3100.77 |    |       |      | 711.41 |    | 1935.80 | 0.6541 | 1    |
|           | SMIO   | 420.08  |    |       |      | 81.96  |    | 255.86  | 0.5896 | 1    |
|           | MUCOSA | 11.46   |    |       |      | 0.74   |    | 4.27    | 0.2906 | 1    |
| NO MONTAN | PEUT   | 3628.25 |    |       |      | 904.16 |    | 1332.17 | 0.6737 | 1    |
|           | SMIO   | 411.64  |    |       |      | 111.42 |    | 151.44  | 0.7082 | 1    |
|           | MUCOSA | 13.07   |    | -0.21 |      | 0.97   |    | 3.99    | 0.3587 | 1    |
| GLOBAL    | PEUT   | 3483.81 |    |       |      | 702.69 |    | 1662.55 | 0.6672 | 1    |
|           | SMIO   | 414.99  |    |       |      | 87.34  |    | 205.59  | 0.6695 | 1    |
|           | MUCOSA | 8.90    |    |       | 0.27 | 0.94   |    | 4.09    | 0.3819 | 1    |

SE=Error Standard ; R=Coefficiente de Determinacion ; Sig.=Nivel de Significación.

A la vista de nuestros resultados, es el número de folículos de la categoría N4 el que define, al menos en parte, el desarrollo uterino. Puesto que en las conejas que no montan, dicho número de folículos es mucho más reducido que en las que aceptan, sería razonable pensar que la mayor pendiente de las rectas de regresión del grupo de las que no montan sea un fiel reflejo de su acción en la primera etapa del desarrollo cíclico uterino adulto, ocurriendo lo contrario en las conejas que aceptan la monta, más próximo ya, su útero, al grado de desarrollo máximo. Como resumen de los resultados obtenidos, la categoría N4 se presenta como esencialmente importante en los diversos aspectos estudiados. En primer lugar, respecto a la aceptación de la monta, es la categoría de folículos de tamaño superior a 1.2mm que ha sido definida como diferenciadora de los grupos de conejas que aceptan o no la monta. BEYER y McDONALD (1973), demostraron que el comportamiento a la monta estaba asociado a determinados niveles y tipos de estrógenos circulantes segregados por los folículos antrales. THIBAUT y LEVASSEUR (1979) indican la posibilidad de que en la generalidad de las especies de mamíferos, las tasas segregadas de estradiol y progesterona a lo largo de la fase de crecimiento de los folículos antrales mantiene un paralelismo con el incremento de tamaño folicular. En conejas, NICOSIA et al. (1975) observan que el contenido intrafolicular de estrógenos y progesterona aumenta, a medida que se incrementa el tamaño de los folículos normales antrales, aunque, en su trabajo sólo miden folículos de hasta 1mm de diámetro. SAWYER y EVERETT (1959)-citado por YASCHINE et al. (1967)-, utilizando conejas ovariectomizadas a las que administran esteroides, encuentran que, aunque los estrógenos por sí solos pueden inducir el estro, su acción es fuertemente mejorada si se administra también progesterona. Lo que conduce a pensar que la progesterona desempeña un cierto papel en cuanto al comportamiento de monta en conejas. LEFEVRE y CAILLOL (1978), observaron un mayor contenido intrafolicular de estrógenos y progesterona en los folículos con antro de las conejas que montan, que en los de aquellas que no aceptan al macho, por lo que cabe esperar, en este caso, que la tasa circulante total de estrógenos y progesterona sea mayor en el primer grupo de conejas que en el segundo.

#### CONCLUSIONES

En nuestros resultados, la clase N4 parece ser la responsable, por su rango de tamaños y por su cuantía, de que se alcancen los niveles de estrógenos y progesterona necesarios para la manifestación del comportamiento de monta. Los folículos de la categoría N5 muy posiblemente actúen en el mismo sentido pero, dada su escasa variación numérica, hace que su significación como clase sea irrelevante.

Razonando de forma análoga a como lo hemos hecho para el comportamiento de monta, respecto al peso

uterino, superficie del miometrio y altura de la mucosa, se racionaliza la significación de la clase N4 detectada en la regresión lineal múltiple STEPWISE.

Finalmente, indicar que nuestros resultados, desde el punto de vista de las funciones estudiadas, no justifican la separación de la clase N5 de la N4.

#### RESUMEN

60 conejas de formato medio, nulíparas y no nulíparas, se presentaron al macho sacrificándose a continuación. Se hizo un estudio de las poblaciones foliculares definiendo unas categorías foliculares, de entre las cuales, los folículos superiores a 1.2mm, ejercen un notable efecto tanto sobre el peso del útero como sobre sus elementos estructurales, siendo dicho efecto diferencial para las conejas que montaron y las que rechazaron el macho.

#### SUMMARY

60 medium size does, nulliparous and no-nulliparous, were presented to the buck and slaughtered afterwards. A follicular populations study was made defining several follicular categories. Follicles upper than 1.2mm. exercise a remarkable effect on the uterus weight and on its structural elements being this effect differential between the does which accepted the buck and those which refused it.

#### BIBLIOGRAFIA

- BEYER, C.; McDONALD, P. 1973. Hormonal control of sexual behaviour in the female rabbit. *Advances in Reproductive Physiology* 6, 185-219.
- CLAUBERG, C. 1930. *Zbl. Gynäk.* 54. 2757-2770.
- LEFEVRE, B.; CAILLOL, M. 1978. Relationship of estrus behaviour with follicular growth and sex steroid concentration in the follicular fluid in the domestic rabbit. *Ann. Biol. anim., Bloch. Biophys.* 18(6). 1435-1441.
- NICOSIA, S.V.; EVANGELISTA, I.; BATTÀ, S.K. 1975. Rabbit ovarian follicles. I. Isolation technique and characterization at different stages of development. *Biol. Reprod.* 13, 423-447.
- THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M.-C. 1979. *La fonction ovarienne chez les mammifères.* Masson.
- YASCHINE, T.; MENA, F.; BEYER, C. 1967. Gonadal hormones and mounting behavior in the female rabbit. *Am. Jour. Phys.* 213(4), 867-872.