

**PLAN DE MEJORA DE LA AGRUPACIÓN CAPRINA
CANARIA. DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA PARA
EL CONTROL DE LA PATERNIDAD A TRAVÉS DEL
MANEJO REPRODUCTIVO.**

Javier Mata González

**TESIS DOCTORAL
Departamento de genética.
Universidad de Córdoba
Año 2001**

D. Juan Vicente Delgado Bermejo, Profesor Titular de la Universidad de Córdoba.

INFORMA:

Que el trabajo titulado “ **Plan de mejora de la Agrupación caprina canaria. Desarrollo de la metodología para el control de la paternidad a través del manejo reproductivo**” realizado bajo mi dirección por D. Javier Mata González, reúne las condiciones exigidas y el rigor científico para su defensa como Tesis Doctoral.

Para que conste a los efectos oportunos firmo el presente informe en Córdoba, a once de septiembre de mil novecientos noventa y nueve.

Dr. D. Juan Vicente Delgado Bermejo.
Profesor Titular de la Universidad de Córdoba

**A Luci, a mi madre, a Pablo
y, como no, a Sabina.**

AGRADECIMIENTOS

Supongo que cada tesis encierra un mundo particular de sensaciones encontradas que van desde la más desatada de las euforias, hasta la más profunda desesperanza, pasando por un razonable optimismo o la lógica duda sobre el sentido de todo el asunto. Posiblemente mi caso sea el paradigma extremo de lo dicho ya que soy un doctorando a todas luces atípico, que lee su tesis veinte años después de licenciarse y cuando hace más de diez que soy profesor titular de escuela universitaria. ¿Entonces por qué?. Pues bien, gracias o... ¿mejor por culpa?, de Juan Vicente Delgado Bermejo, Juanvi para entendernos, que en una de sus múltiples visitas a Tenerife, hace ya ocho años, me sugirió una línea de investigación aplicada, que me pareció interesantísima, encaminada a conseguir el control genealógico de los rebaños de caprino, en el marco del plan de mejora de la Agrupación Caprina Canaria. Después de un par de encuentros más ya teníamos esbozado el planteamiento metodológico y casi sin darnos cuenta empezamos a trabajar.

Ahora que lo pienso ha sido largo el camino, desde aquel día lejano. Fue necesario encontrar el tiempo y los apoyos necesarios para avanzar, a partir de mi formación ecléctica de profesor de escuela universitaria, y ahí es donde tengo que hablar de las personas que me ayudaron.

En primer lugar a Angeles Camacho y a Basilio Martín, mis compañeros de trabajo, con los que siempre pude contar para que asumieran mis obligaciones docentes cada vez que yo necesité ausentarme, y fueron muchas.

A Marichu Fresno y a Juan Capote, investigadores del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, que pusieron a mi disposición todo el material animal de la Finca el Pico para que yo organizara los lotes de animales, las pautas de cubriciones, las extracciones de sangre, etc.. y también fueron muchas. También gracias a Coe, porque siempre sabía donde estaba todo y de donde venía cada cabra y que le había pasado a cada baifo. Y por supuesto por el trato cordial y amistoso que siempre me dispensaron.

A Baldomero, profesor de la Escuela de Capataces Agrícolas de Tacoronte, por permitir que durante dos años le organizara las pautas de cubriciones del rebaño de cabras de la Escuela y por creer en lo que le estaba proponiendo.

A Antonio Molina por su ayuda en el tratamiento estadístico de los primeros datos y por su saber estar.

Gracias especiales quiero darle a Juanma Afonso, profesor titular de genética de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, que sin conocerlo de nada se prestó a tutelarme en mis primeros pasos en genética molecular y rutina de laboratorio. Para mi fue todo un descubrimiento por su gran capacidad de trabajo, por su paciencia, por su entrega a algo que teóricamente ni le iba ni le venía, porque nunca se venía abajo aunque todo saliera mal. Tal vez ya me haya olvidado de aspectos técnicos que aprendí con el, pero hay otros aspectos humanos que no olvidaré jamás. Gracias Juanma.

A Amparo y a José Luis Vega, porque cuando ya pensaba que, por motivos ajenos a todos, no iba a ser posible terminar con la parte experimental de microsatélites, se ofrecieron desinteresadamente para dar el empujón humano y técnico necesario para concluirla.

A Luis Bermejo por que ha sido quien ha sufrido mi ineptitud informática y siempre ha estado ahí, antes de que el desaguizado fuera irreversible.

Y por supuesto a Juanvi y a Esperanza, que han sido mucho más que un director de tesis y su señora. De ellos he recibido no sólo el apoyo científico y el aliento para seguir, sino también cosas tan pragmáticas y de agradecer como alojamiento en régimen de pensión completa cada vez que me tuve que desplazar a Córdoba, de forma que siempre me sentí como en casa y lo mejor es que, a pesar de todo, somos estupendos amigos. Me podría extender mucho aquí, pero a buen entendedor con pocas palabras basta.

A todos muchas gracias.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA.	5
2.1. Introducción.	5
2.2. Generalidades de la Agrupación Caprina Canaria.	6
2.3. Desarrollo del programa de mejora de la A.C.C.	8
2.4. Aspectos reproductivos de interés en la especie caprina.	10
2.4.1. La actividad sexual en el macho.	10
2.4.2. Caracterización del ciclo estral.	12
2.4.3. Estacionalidad reproductiva en la hembra.	14
2.4.4. Efecto macho.	16
2.4.5. Duración de la gestación en caprino y factores de variación.	17
2.4.5.1. Raza.	18
2.4.5.2. Epoca de parto.	19
2.4.5.3. Edad o número de parto.	20
2.4.5.4. Tipo de parto.	21
2.4.5.5. Sexo de las crías.	22
2.4.5.6. Peso de las crías al parto.	22
2.5. Pautas de manejo reproductivo en A.C.C.	23
2.6. Marcadores genéticos estructurales y su utilización en determinación de filiaciones dudosas.	25
2.6.1. Introducción.	25
2.6.2. Microsatélites.	27
2.6.2.1. Microsatélites descritos en caprino.	28
2.6.3. Extracción de DNA.	30
2.6.4. La reacción en cadena de la polimerasa,	31
2.6.5. Detección de los polimorfismos.	32
2.7. Base estadística aplicada a las pruebas de paternidad mediante microsatélites.	33
3. MATERIAL Y METODOS.	36
3.1. Análisis de la duración de gestación en la Agrupación Caprina Canaria.	36
3.1.1. Material animal.	36
3.1.2. Estructuración de los datos.	36

3.1.3. Procesamiento de los datos.	38
3.2. Cálculo de los intervalos de confianza.	42
3.3. Estructura de las distintas pautas de manejo reproductivo.	43
3.3.1. Pautas propuestas para valorar la fertilidad y la secuencia de partos en lotes de hembras donde se ha utilizado el efecto macho.	43
3.3.1.1. Material animal.	44
3.3.1.2. Procesamiento de los datos.	45
3.3.1.2.1. Metodología estadística usada para el estudio de las pautas de manejo aplicadas a los lotes.	45
3.3.1.2.2. Asociación de la distribución de las cubriciones observadas y las esperadas teniendo en cuenta el efecto macho.	46
3.3.2. Modelo para la valoración de la fertilidad y la secuencia de partos sin la intervención del efecto macho.	48
3.4. Marcadores microsatélites. Estudio del contenido de información polimórfica (PIC) y cálculo de la probabilidad de exclusión combinada (PEC). Metodología experimental.	48
3.4.1. Origen, recogida y conservación de las muestras.	49
3.4.2. Extracción del DNA.	49
3.4.3. Amplificación de los microsatélites mediante la PCR.	50
3.4.3.1. Microsatélites usados.	51
3.4.3.2. Condiciones de la PCR.	51
3.4.4. Detección del producto de la amplificación en geles de acrilamida, usando fluorocromos y secuenciador automático.	54
3.4.5. Elaboración del gel.	54
3.4.6. Electroforesis vertical en secuenciador automático.	55
3.4.6.1. Detección y tipificación de los microsatélites	57
3.4.7. Metodología estadística para el tratamiento de los resultados.	58
3.4.7.1. Cálculo de las frecuencias alélicas.	58
3.4.7.2. Determinación del contenido de información polimórfica (PIC).	58
3.4.7.3. Determinación de la probabilidad de exclusión.	59
3.5. Diseño de un modelo piloto para la comprobación de la eficacia en las asignaciones.	59
3.5.1. Material animal.	60
3.5.2. Metodología experimental.	60
4. RESULTADOS.	61

4.1. Análisis de la duración de la gestación en la Agrupación Caprina Canaria.	61
4.1.1. Estadísticos descriptivos	61
4.1.2. Factores de variación.	63
4.1.2.1. Anovas multifactoriales.	63
4.1.2.2. Anovas simples.	65
4.1.3. Intervalos de confianza.	65
4.2. Pautas de manejo reproductivo.	66
4.2.1. Distribución de los partos de cada lote de hembras a lo largo del tiempo.	66
4.2.2. Efecto del manejo global del lote de animales sobre la fertilidad de las hembras.	75
4.2.3. Efecto del manejo de cada macho sobre la fertilidad de las hembras.	78
4.2.4. Efecto macho en cada lote, en función de la fertilidad obtenida.	79
4.2.5. Efecto del manejo en dos lotes sin efecto macho.	83
4.3. Estudio de los marcadores microsatélites descritos. Estadísticos descriptivos de interés.	87
4.3.1. Frecuencias alélicas.	87
4.3.2. Contenido de información polimórfica (PIC) y probabilidad de exclusión (PE).	89
4.4. Resultados del modelo piloto planteado.	90
4.4.1. Resultados de las asignaciones de paternidad en función de los marcadores microsatélites.	91
5. DISCUSIÓN.	95
5.1. Problemas de base en la mejora genética caprina.	95
5.2. Estudio de la duración de la gestación en la A.C.C.	97
5.2.1. Estadísticos descriptivos.	97
5.2.1.1. Factor tipo étnico.	98
5.2.1.2. Factor año y época de parto.	99
5.2.1.3. Factor tamaño de la camada.	100
5.2.1.4. Factor edad-número de parto.	100
5.2.1.5. Factor sexo de las crías.	101
5.2.1.6. Estudio de los factores de variación.	101
5.2.2. Intervalos de confianza.	103
5.3. Análisis de las pautas de manejo reproductivo.	104

5.3.1. Análisis del manejo de los lotes con efecto macho	104
5.3.1.1. Valoración de la fertilidad global	105
5.3.1.2. Distribución de la secuencia de partos.	106
5.3.1.3. Análisis del efecto del manejo global del lote sobre la fertilidad de las hembras	109
5.3.1.4. Análisis del efecto del manejo de cada macho sobre la fertilidad de las hembras.	110
5.3.1.5. Análisis del efecto macho en cada lote en función de la fertilidad obtenida y de la secuencia de partos observada y esperada.	111
5.3.2. Análisis del manejo de los lotes sin efecto macho.	112
5.4. Análisis del estudio de marcadores microsatélites en la A.C.C.	114
5.5. Análisis de los resultados obtenidos de las asignaciones de paternidad en el modelo piloto.	117
5.6. Consideraciones finales.	120
6. CONCLUSIONES.	121
6.1. Estudio de la duración de la gestación en la A.C.C.	121
6.2. Manejo reproductivo.	121
6.3. Marcadores microsatélites.	122
7. BIBLIOGRAFÍA	123

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables morfológicas (Capote y cols., 1992).....	7
Tabla 2. Prolifidad y peso al nacimiento en la A.C.C. (López y cols.,1990)	7
Tabla 3. Producción de leche por tipos raciales en la A.C.C. (litros/210 días. Un ordeño al día) (Fresno, 1993).	7
Tabla 4. Caracterización del ciclo estral de la cabra de la A.C.C. (González y cols., 1994 b)...	14
Tabla 5. Duración de la gestación en distintas razas caprinas.....	19
Tabla 6. Número de hembras por tipo racial.	37
Tabla 7. Número de hembras por tipo de parto.	37
Tabla 8. Sexo de las crías por tipo de parto.	37
Tabla 9. Número de hembras en función de la edad/número de parto.....	38
Tabla 10. Niveles de ANOVA multifactorial de efecto fijo.	39
Tabla 11. Niveles de variación en función del código hijos	42
Tabla 12. Manejo reproductivo con alternancia de machos.	44
Tabla 13. Manejo reproductivo usando un solo macho.....	44
Tabla 14. Código de manejo en los lotes experimentales.....	45
Tabla 15. Pauta de manejo reproductivo en el lote sin efecto macho.	48
Tabla 16. Características de los microsatélites usados en tres reacciones multiplex.	51
Tabla 17. Condiciones de amplificación específicas para cada marcador.....	54
Tabla 18. Pares de bases de los fragmentos de GeneScan-350.	58
Tabla 19. Manejo reproductivo del modelo piloto.	60
Tabla 20. Estadísticos descriptivos para la totalidad de población muestreada	61
Tabla 21. Estadísticos descriptivos por niveles para los factores analizados.	61
Tabla 22. Prueba a posteriori de Scheffe. Modelo de ANOVA multifactorial con interacciones doble y triple.	64
Tabla 23. Coeficientes determinativos de los distintos factores de variación significativos.....	65
Tabla 24. Coeficiente determinativo para el factor código hijos.	65
Tabla 25. Límites de confianza para la duración de gestación.....	66
Tabla 26. Límites de confianza para la duración de gestación, valorando el tipo racial. Medias parciales.	66
Tabla 27. Límites de confianza para la duración de gestación, valorando el mes de cubrición. Medias parciales	66
Tabla 28. Pauta de manejo y distribución de partos Lote A. 21 hembras.....	67
Tabla 29. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote B. 17 hembras.....	67
Tabla 30. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote C. 15 hembras.....	68
Tabla 31. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote D. 13 hembras.....	69
Tabla 32. Pauta de manejo y distribución de partos Lote E. 12 hembras.....	70
Tabla 33. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote F. 12 hembras.	71
Tabla 34. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote G. 10 hembras.	71
Tabla 35. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote H. 14 hembras.....	72
Tabla 36. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote I. 27 hembras.	73
Tabla 37. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote J.18 hembras.	73
Tabla 38. Fertilidades medias por lote en función del código de manejo.	75
Tabla 39. Estadísticos descriptivos para la fertilidad global.	77
Tabla 40. Análisis de la varianza para las fertilidades medias obtenidas con un macho y con dos	77
Tabla 41. Matriz de correlación entre fertilidad, número de hembras y tiempo de estancia del primer macho.....	77
Tabla 42. Matriz de correlación entre fertilidad, número de hembras y tiempo total de estancia de machos por lote.	77
Tabla 43. Fertilidades obtenidas de acuerdo con el manejo al que sido sometido cada macho.	78
Tabla 44. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los primeros machos independientemente del tiempo de estancia con las hembras.....	79
Tabla 45. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los primeros machos cuyo tiempo de estancia con las hembras ha sido de 7 días.	79
Tabla 46. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los primeros machos cuyo tiempo de estancia con la hembras ha sido de 21 días.	79
Tabla 47. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los segundos machos, cuyo tiempo de estancia con las hembras ha sido, en todos los casos, de 21 días.	79

Tabla 48. Matriz de correlación entre tiempo de estancia de los primeros machos, número de hembras y fertilidad obtenida.	79
Tabla 49. Test de asociación entre fertilidad observada y fertilidad esperada de las hembras cubiertas por los primeros machos en los primeros 6 días.	80
Tabla 50. Test de asociación de las fertilidades observadas y esperadas para los distintos lotes.	81
Tabla 51. Test de asociación entre la fertilidad esperada y la observada del Lote Suma.	83
Tabla 52. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote X sin efecto macho.	84
Tabla 53. Pautas de manejo y distribución de partos. Lote Y sin efecto macho.	85
Tabla 54. Alelos y frecuencias alélicas encontrados para el total de la base muestral de los tres tipos de la A.C.C.	88
Tabla 55. Contenido de información polimórfica, probabilidad de exclusión y probabilidad de exclusión conjunta de los microsatélites estudiados.	89
Tabla 56. Secuencia de partos del modelo piloto.	90
Tabla 57. Alelos presentes de cada microsatélite en los animales del modelo piloto.	91
Tabla 58. Configuración de las estructuras familiares y macho que queda excluido especificándose en cada caso los marcadores excluyentes.	93
Tabla 59. Número de veces que un marcador excluye en el modelo piloto.	94
Tabla 60. Número de alelos descritos para la A.C.C., la raza caprina Celtibérica y para ganado bovino.	115
Tabla 61. Resultados obtenidos por Bragança y cols. (1999).	116

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1. Histograma de frecuencias para la variable duración de gestación en la totalidad de la muestra	63
Gráfico 2. Distribución secuencial de partos en función del manejo 20 – 10 – 21	69
Gráfico 3. Distribución secuencial de partos en función del manejo 7 – 7 – 21	72
Gráfico 4. Distribución secuencial de partos en función de manejo con un solo macho	74
Gráfico 5. Representación de la fertilidad obtenida en los dos manejos con dos machos (1 y 2) y la media de los manejos con uno (3).....	76
Gráfico 6. Representación de la fertilidad media obtenida con uno y con dos machos.	76
Gráfico 7. Distribución secuencial de partos en función de manejo 21 – 10 – 21 sin efecto macho	86
Gráfico 8. Evolución progresiva de la probabilidad de exclusión de la batería de marcadores.	90
Gráfico 9. Representación de una estructura familiar para un marcador genérico.	93

INDICE DE PROTOCOLOS

Protocolo 1. Extracción de DNA a partir de sangre entera.	50
Protocolo 2. Preparación de la reacción de PCR.	52
Protocolo 3. Elaboración de un gel de poliacrilamida para su utilización en secuenciador automático.....	54
Protocolo 4. Preparación de la mezcla para electroforesis vertical en secuenciador automático.	55

1. INTRODUCCIÓN, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

Históricamente la explotación caprina ha ocupado un lugar destacado en el marco agrario del Archipiélago Canario. Este hecho, a lo largo del tiempo, se ha traducido en la presencia de una cabaña caprina numéricamente importante en todas las islas, y en una sólida cultura ganadera pastoril tradicional vinculada a esta especie. Fruto de esto, habiéndose seguido por parte del cabrero unos criterios de selección masal e individual empírica, nos encontramos actualmente con un colectivo de animales peculiares, adaptados a las distintas características orográficas y climáticas de Canarias y con una marcada aptitud para la producción láctea.

A partir de este sustrato ganadero existente y catalizado por una serie de circunstancias y cambios socioeconómicos generales y particulares, vinculados con el sector, acaecidos en los últimos veinte años, se inicia una transformación palpable del mismo. Así se asiste a una intensificación paulatina de los esquemas productivos con tendencia a la estabulación permanente, al aporte de concentrados en la alimentación, a la mecanización del ordeño, al inicio de la aplicación de técnicas reproductivas, etc, lo cual ha implicado para el ganadero un incremento importante de los costos de producción y por tanto un necesario cambio en los planteamientos básicos de la actividad.

De forma paralela y sinérgica a este proceso se inician, desde ciertas entidades públicas canarias, trabajos de investigación científica y técnica relacionados con el ganado caprino local, en los que primeramente se involucra la Unidad de Producción Animal, Pastos y Forrajes del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias y en los que actualmente se encuentran involucrados, en mayor o menor medida, la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, el Centro Superior de Ciencias Agrarias de la Universidad de La Laguna, al cual pertenezco, y distintos Cabildos Insulares. Otros centros nacionales y extranjeros se han interesado en la Agrupación Caprina Canaria (A.C.C.) prestando su apoyo y colaboración para el estudio y tipificación de la misma, destacando dentro de ellos el Departamento de Genética de la Facultad de Veterinaria de La Universidad de Córdoba y la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona.

A lo largo de este tiempo y como consecuencia de ésta dedicación, se ha conseguido caracterizar la A.C.C. desde los puntos de vista morfológico, inmunogenético y productivo, de forma que se admiten tres tipos étnicos diferenciados; Majorero, Palmero y Tinerfeño (Proyecto INIA-8141).

En los estudios morfológicos se han valorado 14 variables continuas y discontinuas y en los inmunogenéticos cinco variables sanguíneas.

A nivel productivo, respecto a la carne, se ha estudiado la prolificidad, el crecimiento y el rendimiento a la canal y respecto a la leche, principal producción de esta agrupación racial, se la ha estudiado de forma exhaustiva cuantitativa y cualitativamente, en ambas producciones valorando los factores de variación ambientales, de manejo y genéticos que inciden en las mismas.

Sentadas estas premisas de definición y caracterización del colectivo animal, se plantea, posteriormente, el Desarrollo de las Bases del Plan de Mejora de la Producción Láctea en la A.C.C. (Proyecto INIA-93043).

Es dentro de la optimización tecnológica y metodológica para conseguir los objetivos del Plan de Mejora donde se encuentra ubicada esta tesis doctoral.

La identificación de los animales, precisa y sin errores, es parte fundamental en todo proceso en el que se acumule información para hacer una posterior valoración de los individuos en función de la misma. Lo que *a priori* parece una premisa elemental, ha revelado ser uno de los puntos críticos en los planes de mejora de caprino, especialmente en lo relativo al control genealógico. En este sentido, en Canarias, concurren factores de diversa índole que agravan más aún el problema, pudiéndose destacar los siguientes :

- ✓ Manejo extensivo de grandes rebaños con monta natural libre y varios sementales.
- ✓ Hábitos arraigados de manejo reproductivo en animales estabulados que, aun cuando practican monta natural dirigida, usan simultánea o consecutivamente más de un semental para la cubrición, incluso cuando se trata de pequeños lotes de hembras.

- ✓ Nula difusión práctica de técnicas reproductivas como la sincronización de celos y la inseminación artificial.

En esta tesis se aborda el problema del control de paternidad a corto y medio plazo, planteándose prácticas de manejo en la cubrición basadas en la alternancia de machos que, por un lado, nos garanticen la paternidad con un porcentaje mínimo de error y por otro se interpongan en la menor medida posible con los hábitos de manejo e intereses del ganadero, complementándose, en los casos de duda, con la determinación de la paternidad mediante el uso de marcadores genéticos estructurales.

El problema del control de paternidad quedaría prácticamente resuelto incorporando además el uso, lo más generalizado posible, de sincronización de celos e inseminación artificial, aunque estos aspectos quedan fuera de los objetivos de este trabajo.

En base a lo expuesto y buscando no sólo resultados científicos, sino su aplicación en el marco del desarrollo del sector caprino, se plantean los siguientes objetivos:

Objetivos generales:

1. Sentar las bases para proponer, aprovechando y mejorando la estructuración de los núcleos de control lechero y de las asociaciones de ganaderos, unas pautas viables de manejo en la cubrición, que faciliten el control de paternidades.
2. Establecer una infraestructura que permita, a un costo razonable, resolver los problemas de paternidades inciertas mediante marcadores genéticos.
3. Tener identificados genéticamente a todos los machos de referencia del plan de mejora.

Objetivos específicos :

1. Conocer la duración de la gestación de la A.C.C. en sus tres tipos, Majorera, Palmera y Tinerfeña, estimando los estadísticos descriptivos para esta variable.
2. Determinar la influencia de los principales factores de variación que afectan a la duración de gestación.
3. Proponer un intervalo de confianza para la duración de gestación que permita, mediante unas pautas de manejo reproductivo basada en la alternancia de machos y a través de las fechas de cubrición y de parto, determinar las paternidades del mayor número posible de animales con un porcentaje suficiente de certidumbre. En este sentido hay que tener en cuenta que en ningún caso debe resultar alargada la paridera ni reducida la fertilidad.
4. Optimizar una técnica operativa para la determinación de la paternidad a posteriori en animales de filiación dudosa, mediante la utilización de una batería concreta de microsatélites del DNA.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA.

2.1. Introducción.

La especie caprina, aunque capaz de desenvolverse en distintos habitats, normalmente se encuentra localizada en los entornos geográficos áridos, con pocos recursos pastables, y en los trópicos (Gall, 1981; Devendra y Coop, 1982; Hatcher, 1984), vinculada además a los países en vías de desarrollo (Devendra, 1991) donde la producción de leche y carne con grandes animales es en muchos casos ineficiente, ya que la especie humana compite por los recursos nutritivos disponibles (McDowell y Bove, 1977). Caracterizándose, en estos casos, por una orientación productiva cárnica o mixta, con un planteamiento zootécnico basado en el aprovechamiento máximo del propio animal y de unos recursos pobres y escasos en el marco de una economía de subsistencia (Devendra y Burns, 1970), lo cual en muchos casos conduce al sobrepastoreo y éste a la ruptura del frágil equilibrio de los ecosistemas áridos (French, 1970; Boza, 1990; Mata y Bermejo, 1999 a, b), todo ello favorecido por la capacidad de la cabra para desenvolverse en zonas degradadas (Devendra, 1978), en parte gracias a su demostrada capacidad ramoneadora (Wilkinson y Stark, 1987; Ramírez 1994). Si a esto le unimos un peso específico relativo bajo en el contexto de la ganadería mundial, es fácil comprender el porqué del secular atraso, a nivel de valoración, investigación y divulgación científica, de ésta especie respecto a otras especies de interés zootécnico.

No obstante en los últimos 20 años, y en gran medida a merced de la explotación intensiva del ganado caprino como productor de leche se ha asistido a un despegue técnico y científico importante que ha afectado en mayor o menor medida a los planteamientos generales tradicionales de la actividad (Ruvuna y cols., 1988), siendo ésta la especie ganadera que ha experimentado mayor crecimiento en los últimos 20 años (FAO, 1995).

En España actualmente coexisten los dos esquemas productivos, la explotación extensiva, numéricamente más importante orientada hacia la producción cárnica y la dedicada a la producción láctea, numéricamente menos

importante pero de gran interés económico, representada principalmente por las razas Murciano-granadina, Malagueña, y la Agrupación Caprina Canaria (A.C.C.) (Falagán, 1987; Herrera y cols., 1984; Herrera y Subires, 1988; Capote, 1989; Capote y cols., 1992).

2.2. Generalidades de la Agrupación Caprina Canaria.

En Canarias, los productos derivados de la cabra han sido tradicionalmente fundamentales en el marco de la economía rural incluso en épocas prehistóricas (Fresno y cols., 1992; Capote y cols., 1993).

En la actualidad el ganado caprino aporta alrededor del 30% del producto final ganadero y éste a su vez viene a ser un 26% del producto final agrario (C.A.P.A., 1999) . Estos datos, aunque relevantes, por si mismos no aportan una referencia clara de la importancia que tiene en nuestros días la explotación caprina en Las Islas para lo cual hay que hacer una lectura más amplia que matice las frías referencias económicas y porcentuales, así tenemos que:

- ✓ La población está constituida por unos 260.000 ejemplares (C.A.P.A. 1999), que constituyen el 7% de la población caprina española. Sin embargo su aportación a nivel de producción de leche es del 15 % del total nacional, la cual prácticamente en su totalidad se transforma en queso, bien sea mediante elaboración artesanal o industrial (Clavijo J.J., 1990; Darmanin y cols., 1991), con el valor añadido que esto implica, representando el valor de la leche de cabra el 70% del total del valor de la leche producida en Las Islas (C.A.P.A. 1999).
- ✓ Canarias tiene una densidad de 219 Hab./km², habiendo islas, como Fuerteventura, donde es mayor la población caprina que la humana. Dado que la elaboración del queso es artesanal en un 75% (Fresno y cols., 1996) y que la comercialización suele ser directa, es muy amplio el colectivo social implicado en mayor o menor medida en todo el proceso, sobre todo en el medio rural.
- ✓ Se cuenta con una agrupación racial autóctona ,altamente productiva, presente en las siete islas, adaptada a las distintas zonas y entornos microclimáticos y formada por tres grupos étnicos; Majorero, Palmero y Tinerfeño, diferenciados y caracterizados a nivel morfológico (Serrano y cols.,1989; Capote y cols., 1998; Capote y cols., 1992), también desde

el punto de vista bioquímico (García, 1989; García-Casas y cols., 1992), de producción cárnica, habiéndose valorando la prolificidad y el peso al nacimiento (López 1990; López y cols., 1992b; Fabelo y cols., 1992; Mata y cols., 1997), así como el crecimiento de acuerdo con los distintos tipos de lactancia utilizados (López y cols., 1992a; López y cols., 1992c; López y cols., 1993a; López y cols., 1993b) y de producción láctea, habiéndose valorando tanto la cantidad como la calidad de la leche (Martín y cols., 1990; Martín y cols 1991; Fresno y cols., 1992a; Fresno y cols., 1992b; Fresno 1993) (Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3)

Tabla 1. Variables morfológicas (Capote y cols., 1992)

Variable	Majorera	Palmera	Tinerfeña
Alzada a la cruz	70,20	66,20	68,50
Diámetro longitudinal	70,50	69,50	73,10
Perímetro torácico	96,50	92,60	97,07
Perímetro de la caña	9,37	9,12	9,45
Longitud de la cabeza	21,93	18,73	22,55
Cornamenta predominante	Aegagrus	Espiral heterónima	Prisca
Capa predominante	Compuesta	Rojiza	(1)
Pelo predominante	Corto	Medio	(2)
Perfil predominante	Recto	Recto	Recto

(1) Compuesta en el subtipo de zonas áridas, negra o castaña en el subtipo de zonas húmedas.

(2) Corto en el subtipo de zonas áridas, largo en el subtipo de zonas húmedas.

Tabla 2. Prolificidad y peso al nacimiento en la A.C.C. (López y cols., 1990)

Tipo racial	Prolificidad	Peso al nacimiento (Kg.)
Tinerfeño	1,82	3,30
Majorero	1,83	3,32
Palmero	1,48	3,77

Tabla 3. Producción de leche por tipos raciales en la A.C.C. (litros/210 días. Un ordeño al día) (Fresno, 1993).

Fuente datos	Tinerfeña	Majorera	Palmera
Núcleos de control lechero (Tenerife)	347,2	546,2	362,6
Estación Experimental (Tenerife)	496,7	419,4	432,4

- ✓ Los quesos, variados y característicos de cada isla (Fresno y cols., 1992; Fresno y cols., 1996), constituyen un producto muy demandado en el mercado local, sin que exista competencia externa y al cual se le augura un futuro aun más prometedor (Arroyo y González, 1993), máxime desde que la A.C.C. ha sido declarada oficialmente exenta de brucelosis (Decisión 97/315/CEE). En este sentido hay que tener en cuenta también el esfuerzo conjunto de los ganaderos y la administración para el acondicionamiento de las queserías artesanales, de acuerdo con el Real decreto 1679/1994, modificado el 1/3/96 (Real decreto 402/1996), por el que se establece las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, tratada térmicamente y productos lácteos, que entró en vigor el 1/1/98, y que garantizará aun más la calidad del producto.

Todos estos aspectos, muy someramente esbozados, conforman una realidad ganadera peculiar que hace que el subsector caprino sea el más importante económica y socialmente dentro del sector pecuario isleño, así como el más emblemático en el marco de la identidad rural canaria.

2.3. Desarrollo del programa de mejora de la A.C.C.

Los intentos de arranque y consolidación de un programa de mejora de la A.C.C. se remontan a 1985, cuando en el Boletín Oficial del Estado de 6 de Julio (Nº 161) aparece publicada la Orden de 25 de Abril de 1985, en la que se aporta la reglamentación específica del Libro Genealógico y de comprobación de rendimientos para la Agrupación Caprina Canaria.

A lo largo del tiempo y hasta nuestros días, el desarrollo de iniciativas relacionadas con este programa se ha caracterizado por su irregularidad y su falta de coordinación entre ellas, agravadas estas circunstancias por la condición de islas. Gran parte del problema subyace ya en sus inicios, debido a la premura y a la falta de infraestructura con la que se publica la reglamentación del Libro Genealógico, dado que precisamente a partir de 1985 es cuando se empiezan a hacer estudios sólidos sobre aspectos tan importante como la propia caracterización de la A.C.C. y sus tipos raciales, cuestión que no se concluye hasta fechas muy recientes (Capote y cols., 1998). Así mismo son posteriores los estudios básicos encaminados a caracterizar las

producciones lácteas (Fresno, 1993) y cárnicas (López y *cols.*, 1992; López y *cols.*, 1993a y 1993b). Por otro lado también es relativamente reciente la elaboración de programas informáticos para la calificación morfológica de los animales (Delgado y *cols.*, 1996), así como para la gestión del Libro y del control de rendimientos de la A.C.C. (Delgado y *cols.*, 1998). Al margen de los aquí escuetamente citados son muchos más los trabajos, posteriores a 1985, existentes que, de una manera u otra, aportan información complementaria y sugerencias de interés en el marco de la caracterización y la mejora de la A.C.C.

Es en las Jornadas Técnicas sobre el Desarrollo del Programa de Mejora Genética de la Agrupación Caprina Canaria celebradas en Valsequillo (Gran Canaria) en 1999, donde, por primera vez, se celebra una reunión coordinada y a gran escala en la que están presentes prácticamente todas las entidades y personas en mayor o menor medida implicadas en la mejora genética de la A.C.C. Aquí se analizan y se abordan los problemas pasados y presentes del Plan de Mejora, así como se aportan propuestas concretas para su desarrollo práctico (Delgado, 1999), sugiriéndose un modelo de organización federada en las que intervengan las asociaciones de ganaderos de cada isla y los Cabildos Insulares, haciéndose especial hincapié en la reestructuración de la normativa existente, de acuerdo con los conocimientos que hoy tenemos sobre la A.C.C., de forma que se admita la existencia de tres secciones dentro del Libro (Majorera, Tinerfeña y Palmera) que garanticen el mantenimiento de la variabilidad genética de la Agrupación, actualizándose los niveles mínimos productivos y valorándose la morfología mamaria de las hembras (Capote, 1999). Por otro lado se analizan y se proponen alternativas definidas respecto a los puntos débiles en la gestión de los registros productivos (Fresno y *cols.*, 1999) y respecto al control genealógico mediante el manejo reproductivo y la utilización de marcadores genéticos (Mata, 1999; Zamorano, 1999), aspectos estos que han demostrado ser claves en el desarrollo cotidiano del Plan de Mejora, porque inciden directamente sobre la fiabilidad y por tanto sobre la validez de los datos.

Es en esta línea de colaboración y consenso, no exenta de dificultades, sobre la que se apoya lo que esperamos sea el arranque definitivo del Plan de Mejora Genética de la Agrupación Caprina Canaria, dentro del cual se ubican los estudios de esta Tesis.

2.4. Aspectos reproductivos de interés en la especie caprina.

Dentro de este apartado se revisan temas concretos relacionados con la reproducción de esta especie y que son de utilidad en el marco del presente trabajo.

2.4.1. La actividad sexual en el macho.

La adquisición de la madurez sexual está marcada por eventos de comportamiento sexual, junto con la intensificación de las secreciones hormonales, el arranque de la espermatogénesis y de las secreciones de las glándulas accesorias y finalmente por la formación de los primeros eyaculados. Estos hechos están acompañados por el crecimiento armónico de glándulas y órganos vinculados a la función reproductiva, estableciéndose una correlación directa entre actividad sexual y peso testicular (Corteel, 1994).

A nivel testicular el crecimiento tiene lugar en tres fases sucesivas a distintos ritmos y de distinta duración; una primera fase de crecimiento lento desde el nacimiento hasta los 60 – 180 días, en función de la raza (Skinner 1970; Mehta y cols 1992), una segunda fase de crecimiento muy rápido, que viene a durar alrededor de 90 días, independientemente de la duración de la primera fase y que coincide con altos niveles de testosterona en sangre y por tanto con una actividad sexual marcada (Douma, 1978), comparable a la del animal adulto (Walkden- Brown y cols. 1992) y una tercera fase de crecimiento lento y estabilización. Skinner (1970), trabajando con la raza Boer, sitúa el inicio del primer ciclo espermatogénico hacia el día 84, coincidiendo también con el inicio de la fase de crecimiento exponencial del testículo, siendo la duración del ciclo completo de al menos 56 días, observándose a los 140 días espermatozoides maduros en el epidídimo. No obstante los porcentajes de espermatozoides anormales en los primeros eyaculados es muy elevado (Skalet y cols., 1988).

Ya en animales adultos son la época del año, la raza y el propio individuo los factores más importantes que inciden en la cantidad y en la calidad del semen producido (Corteel, 1994), aunque también las altas temperaturas provocan una disminución significativa de la cantidad y la calidad del semen recogido, agravándose más aún este hecho si la humedad ambiental es también elevada

(Murugayah, 1992).

Al igual que sucede en la hembra, la estacionalidad de la actividad sexual en los machos cabríos difiere respecto a si nos encontramos en zonas ecuatoriales o tropicales, donde las variaciones estacionales son pocas o ninguna (Devendra y Burns, 1970; Chemineau, 1986) o en zonas templadas donde hay una marcada estacionalidad, siendo la época reproductiva la de otoño-invierno (Corteel, 1973; Delgadillo y cols., 1991; Ahmad y Noakes, 1995).

En el caso de la Agrupación Caprina Canaria, Lorenzo y cols. (1997) valoran tanto la actividad sexual, basándose en signos de comportamiento de los machos, como aspectos cuantitativos y cualitativos del semen a lo largo del año. Respecto a la actividad sexual hay que señalar que presentan actividad a lo largo de todo el año aunque ésta no sea uniforme, siendo primavera – verano la época donde los animales se muestran más activos, lo cual coincide plenamente con el manejo reproductivo tradicional llevado a cabo por el ganadero canario, que suele elegir los meses de mayo, junio y julio para aparear a sus animales. En lo referente a calidad seminal se valoró el volumen, la motilidad masal y la motilidad individual, apreciándose diferencias significativas en el volumen y la motilidad individual de los espermatozoides siendo ésta mayor y mejor en verano y primavera. Esta observación difiere de las citadas por otros autores, para otras latitudes, que concluyen que precisamente durante la primavera las características, usualmente valoradas del semen, son peores (Nelson y cols., 1987; Roca y cols., 1992; Mellado, 1994).

En cuanto a la capacidad fecundante de los machos en monta natural son pocas y ambiguas las referencias que tratan este tema, estando normalmente referidas a la relación macho/hembras y al porcentaje de concepción que se obtiene durante el tiempo concreto que dure la época de apareamientos, siendo además muy dispares los datos aportados. Carnevali y cols. (1994) con una relación 1/14, trabajando con hembras que inicialmente estaban en anoestro obtienen un 90,7% de celos pero sólo un 53,8 de gestaciones. Zygoyiannis y cols. (1989) someten a un grupo de 33 hembras a un tratamiento previo de sincronización de celos con esponjas impregnadas con progesterona durante 17 días y una aplicación de entre 300 y 500 u.i. de PMSG dos días antes de retirar las esponjas, posteriormente se introducen dos machos durante tres días obteniéndose un 72,7% de fertilidad. Robles y cols (1994) utilizan 20 cabras de raza criolla con un solo macho durante un mes

encontrándose una fertilidad de un 70%; estos autores en su discusión comentan que estos resultados están dentro del rango de los datos citados por otros autores mexicanos. Mellado (1994), en un extenso y exhaustivo trabajo, establece, para machos adultos bien nutridos, proporciones de 1/50-60 con empadres de 3-4 semanas y fertilidades que rondan el 70%, siendo el número de montas por día muy variable en función del número de cabras en celo y del propio semental, llegándose hasta 18 cubriciones diarias. Fowler (1984) refiriéndose a ganado ovino considera normales y adecuadas relaciones de entre 1/33 a 1/100, de forma que menos de 30 ovejas por macho genera competencia entre machos cuando están juntos y más de 100 provocan competencia entre ovejas en celo molestando a los machos, no obstante en este caso no se aportan datos sobre el tiempo en que estarían juntos machos y hembras ni sobre las fertilidades obtenidas.

Un aspecto de gran interés es el de las interacciones entre los machos cuando se introducen juntos en un colectivo de hembras. En el caso del ganado ovino las interacciones y la competencia aumentan conforme aumenta el número de machos, también cuando empiezan a disminuir las hembras en celo y en ambos casos las interacciones se incrementan cuanto más reducido es el corral. Los moruecos dominantes son más eficientes cuando hay machos subordinados presentes, a la vez que los machos sumisos son menos activos en presencia de los dominantes que cuando están solos (Fowler 1984).

Respecto a la A.C.C., Febles (1995), trabajando con 28 machos del tipo tinerfeño estima entre 7 y 10 el número de cubriciones diarias que hace un animal, estableciendo la existencia de preferencias de los machos por determinadas hembras de forma que con frecuencia repiten sobre las mismas, lo cual coincide con las observaciones hechas para ovino por Tilbrook (1984), también establece que la interacción antagónica entre machos estimula la conducta sexual del dominante e inhibe la del sumiso.

2.4.2. Caracterización del ciclo estral.

La cadena de acontecimientos que se repiten ordenadamente y que conducen a periodos estrales o celos regulares, durante los cuales la hembra es receptiva y fértil, reciben el nombre de ciclo estral.

La pubertad o inicio de la actividad cíclica se sitúa normalmente alrededor de

los seis meses de edad (Gracia y cols. 1992, Shah y cols. 1997), considerándose la aparición del primer celo un criterio simple y objetivo para centrarla (Corteel, 1994). En función de esto Agrawal y cols. (1992) observan, trabajando con razas hindúes, una gran variabilidad en la aparición de la pubertad directamente relacionada con el peso medio de la raza, de forma que las razas pequeñas son sensiblemente más precoces que las medianas o grandes. También observan diferencias importantes vinculadas con el sistema de explotación y la nutrición, lo cual coincide con las observaciones hechas por Mata y cols. (1999a; 1999b) para animales de la A.C.C., siendo más tardía la pubertad en las hembras sometidas a sistemas extensivos, con poca o ninguna suplementación alimenticia (Mellado, 1994). Otro factor importante que afecta es la fecha de parto, especialmente en cabras con marcado anoestro estacional, ya que si éste coincide con el inicio teórico de la actividad cíclica, la pubertad se retrasará (Amoah y Bryant, 1984).

Una vez que se la actividad cíclica se ha regularizado la duración habitual del ciclo está comprendida entre 18 y 22 días (Shelton, 1978; Song y cols. 1984; Singh y cols.; 1985 Chemineau, 1986), aunque haya que destacar el hecho, en cabras estacionales, de ciclos de duración anormal al inicio de la estación reproductiva (Camp y cols. 1983). También la brusca presencia de machos en épocas de no reproductivas provoca la aparición frecuente de ciclos cortos (Chemineau, 1983; Restall, 1992), con baja fertilidad.

La duración media del estro es de 36 horas, con un amplio rango que va desde las 24 horas a las 48 horas, teniendo lugar la ovulación al final o después del mismo (Prasad, 1980; Rao y Bhattacharyya, 1980; Greyling y Van Niekerk, 1990) y alrededor de las 21 horas después del pico preovulatorio de LH (Mori y Kano, 1984). Sevaraju y cols. (1997), trabajando con cabras de raza Malabari y sometiéndolas a distintos tratamientos y pautas hormonales con progestágenos comprueban un alargamiento significativo de la duración del estro respecto a las hembras no tratadas. Por otro lado Romano (1993), comparando grupos de hembras a los que se les introduce machos recelas provistos de mandil, con otros en los que los machos son fértiles, determina el efecto que tiene la cubrición sobre la duración del periodo de celo, observando que éste se acorta significativamente después de la cópula, sin que este hecho afecte ni la tasa ni el momento de ovulación (Romano y cols. 1997), así como que no se mantiene una relación directa entre el número de coitos y el acortamiento de la duración del estro (Romano, 1994).

En cuanto al reinicio de la actividad cíclica después del parto Setiadi y cols. (1997) dan cifras medias de 56 días para cabras de raza Jamunapari, con un índice de concepción del 50% que asciende hasta un 70% en el segundo celo. En este sentido Delgadillo y cols. (1998) observan en cabras Criollas diferencias importantes en el anoestro postparto, en función principalmente de la época de parto, variando desde 200 días para cabras paridas en enero hasta 50 días para las paridas en octubre, sin embargo el momento del destete no repercutió de forma significativa en el reinicio de la actividad cíclica, aún cuando el estudio comparó animales destetados a los dos días con animales a los que se les retiraron las crías a los noventa días de nacidos.

Respecto al ciclo estral en la cabra de la Agrupación Caprina Canaria, Gonzalez y cols. (1994 a,b,c) abordan tanto la caracterización en si misma como los cambios anatomofisiológicos que tienen lugar a lo largo del ciclo, haciendo una sincronización previa con progestágenos a todos los animales analizados, aportándose los datos que aparecen reflejados en la Tabla 4.

Tabla 4. Caracterización del ciclo estral de la cabra de la A.C.C. (González y cols., 1994 b)

	Duración
Retirada de progestágeno – inicio de celo	58,9 +/- 19,1 horas
Retirada de progestágeno – ovulación	100,8 +/- 16,8 horas
Inicio de celo – ovulación	40,8 +/- 4,8 horas
Periodo de celo	50,0 +/- 12,8 horas
Ovulación – final de celo	7,2 +/- 12,0 horas
Ciclo completo	22,4 +/- 2,0 días

Tal y como se observa la duración de ciclo obtenida se encuentra en el límite superior de las observadas en otras razas caprinas. La tasa de ovulación observada fue de 1,64 +/- 0.7 óvulos, lo cual concuerda con las altas prolificidades establecidas para la A.C.C. (López, 1990; Mata y cols., 1997).

2.4.3. Estacionalidad reproductiva en la hembra.

En general se admite que la cabra presenta una actividad cíclica estacional

afectada por el fotoperiodo (Shelton, 1978), así como que la época de actividad reproductiva coincide con el descenso de éste (días cortos) (Corteel, 1973), como consecuencia de la pérdida paulatina de sensibilidad hipotalámica a la retroalimentación negativa de los estrógenos foliculares que tiene lugar en días largos, lo cual estimula la secreción de gonadotropinas (Mori y cols. 1984; Mori y cols. 1987; Cheminau y cols. 1988). En este sentido los niveles de síntesis y secreción de melatonina por parte de la glándula pineal actúan como un paso intermedio entre las influencias luminosas externas y las modificaciones en la sensibilidad hipotalámica (Maeda y cols. 1984; Maeda y cols. 1988). Sin embargo en razas tropicales y subtropicales, adaptadas a zonas donde las diferencias de duración del fotoperiodo a lo largo del año son menores, se observa actividad prácticamente a lo largo de todo el año, (Shelton, 1978; García y Gall, 1981; Cheminau, 1986; Cheminau, 1989), aunque influenciada puntualmente por otros factores ambientales menos regulares como las temperaturas y el régimen de lluvias (Sands y McDowell, 1978; Prasad y Bhattacharyya, 1979; Lee y cols. 1985) o bien la presencia de machos (González, 1976; Ott y cols. 1980; Chemineau, 1985). No obstante es el componente genético el responsable final de la estacionalidad, ya que determina la sensibilidad de una u otra raza a los factores ambientales, observándose que cabras de origen europeo introducidas en el trópico mantienen su estacionalidad a lo largo de generaciones (Carmenate, 1977; Chemineau, 1989, Chemineau y cols. 1992) e incluso en sus cruces con razas locales (González y cols. 1974) (citado por Gall). También dentro de los mismos grupos raciales (Saanen y Alpina), animales criados en zona tropical y en ambientes idénticos, han puesto en evidencia importantes variaciones individuales en la duración del anoestro estacional (Corteel, 1994a).

En cuanto a las raza lecheras españolas peninsulares nos encontramos que para la Murciano-Granadina se admite un anoestro estacional de febrero a mayo (Falagan y cols. 1989). En el caso de la Malagueña nos basamos en observaciones que centran la paridera en otoño e invierno con lo que las cubriciones tendrán lugar desde abril hasta julio (Aparicio y cols. 1982; Herrera y Subires, 1988), aunque es posible que este caso influya más el manejo que la propia estacionalidad de los animales.

Respecto a la A.C.C., tradicionalmente y de forma más o menos empírica, se ha considerado que eran animales poliéstricas continuas, confirmándose éste hecho posteriormente al hacer una caracterización rigurosa de la ciclicidad sexual de nuestra raza (González y cols., 1994a), aunque es habitual, sobre

todo en los sistemas extensivos y en los manejos más tradicionales, que la paridera se centre entre los meses de noviembre y enero, buscando por un lado la existencia de más recursos pastables y por otro un buen precio para la carne de las crías, debido a la cercanía de las fiestas navideñas. (Mayans y cols., 1992; Melián y cols., 1992; Machín y Santiago, 1997; Mata y Bermejo, 1999 a,b), sin que esto implique una estacionalidad marcada por condicionantes fisiológicos.

2.4.4. Efecto macho.

La introducción súbita de machos en un colectivo de hembras que han estado aisladas durante un periodo de tiempo suficiente, no inferior a tres semanas provoca en éstas cambios importantes en su actividad cíclica, motivados por un incremento brusco de la frecuencia pulsátil y de los niveles de LH en sangre (Restall, 1992), que pueden ir desde una reanudación de la actividad, en cabras no cíclicas (Corteel y cols., 1982; Chemineau, 1985), en cuyo caso es muy elevada la aparición de los llamados ciclos cortos debidos a cuerpos lúteos de poca duración (Chemineau, 1983; Ott y cols., 1980), acompañados de ovulaciones y tasas medias de fertilidad, aunque menores a las observadas en los ciclos siguientes (Lorenzo y cols., 1996), hasta simplemente un adelantamiento en la aparición de celos, en cabras cíclicas, de forma que alrededor de un 65% de las cabras tienen manifestaciones estrales a los tres días de introducidos los machos (Chemineau, 1983), esto se explica debido a que en cabras que están en fase luteal avanzadas, los niveles de progesterona son bajos y no son capaces de bloquear la actividad hipotálamo-hipofisaria generada por el contacto con los machos; a estos animales habría que sumarle, además, las hembras que estuvieran en fase folicular (Gracia y cols., 1992). En caso de animales que se encuentren en anoestro profundo, la estimulación provocada por el efecto macho no es suficiente para hacer arrancar la actividad e inducir ovulaciones (Forcada y cols 1989).

El efecto macho constituye una herramienta barata, simple y eficaz de cara al manejo reproductivo vinculado principalmente a la monta natural (Chemineau y cols., 1993; Vitalkar y cols., 1998), aunque Montoro y cols. (1994), trabajando con ovejas de raza Manchega, utilizan el efecto macho como método de sincronización de celos asociado a la inseminación artificial con resultados superiores, en cuanto a fertilidad, respecto a métodos de sincronización que utilizan progestágenos y PMSG, debido principalmente al efecto negativo de los

progestágenos sobre el transporte espermático a lo largo del tracto genital. Diversos autores se han interesado en el estudio de la naturaleza de los estímulos que pueden alterar de forma tan importante la ciclicidad normal de las hembras y, en general, se admite que éstos son de naturaleza multisensorial, con una preponderancia importante de los estímulos olfatorios (Claus y cols.; 1990; Restall, 1992). Walkden-Brown y cols. (1993 a, b) analizan la complejidad de los estímulos y de las respuestas al efecto macho, observando que la exposición a estímulos olfatorios exclusivamente desencadena una respuesta menor que el pleno contacto animal, e incluso menor que la que se obtiene por simpatía entre hembras que se encuentran en celo y las que no lo están, también la propia capacidad de servicio y actividad del macho, así como el tiempo que permanezca con las hembras modula la respuesta de éstas, lo cual se traduce en variaciones significativas de la tasa de ovulación.

2.4.5. Duración de la gestación en caprino y factores de variación.

A priori, y desde el punto de vista de revisión bibliográfica, la variable duración de gestación en esta especie presenta una limitación inicial debido a la escasez de referencias existentes, así como a la general superficialidad de las mismas, principalmente en lo tocante a los factores de variación que inciden sobre ella. Consecuencia de esto y dado que los factores son prácticamente los mismos se ha considerado oportuno ampliar la revisión aportando datos de otras especies, fundamentalmente bovino, para disponer de una visión más exhaustiva del parámetro valorado.

Dentro de la misma especie, la duración del periodo gestacional es una variable fisiológica relativamente estable, si la comparamos con otras variables de interés zootécnico. No obstante hay factores tanto de índole genética como no genética que inciden afectándola, en mayor o menor medida, dentro de esta escasa variabilidad. Así tenemos principalmente la raza, tanto de la madre como del padre, época de parto, edad de la madre o número de parto, tipo de parto, sexo de las crías y peso de las crías.

2.4.5.1. Raza.

Analizando este factor, en general se estima que, más que en si mismo el hecho racial de una forma abstracta, interviene el tamaño corporal y el peso de la raza (Ricordeau, 1981), observándose una relación directa entre tamaño de la raza y duración de la gestación (Khan y cols., 1982; Gangwar y Yadav, 1986; Montsma y cols, 1988). No obstante, dado que el estímulo hormonal inicial desencadenante del parto proviene del feto (Hunter, 1982), la variación de la duración de la gestación desde este punto de vista depende más del genotipo del feto que del de la madre (Yerson y cols. 1972; Mishra y cols. 1983; Wray y cols. 1987; Nadarajah y cols., 1989). Surgie y Soma (1970) confirmaron esto para caprino mediante trasplantes de embriones de forma recíproca entre la raza Saanen (p.v. 50-60 kgr.) y la raza Nativa Enana Japonesa (p.v. 25-30 kgr.) dándose diferencias significativas en ambos casos, de forma que la gestación de fetos de la raza Enana Japonesa siempre fue sensiblemente más corta, independientemente de la raza materna

Las medias en las distintas razas oscilan entre 143 y 153 días (Ricordeau, 1981), aunque Singh y cols. (1987) obtienen 142,4 días de duración media de gestación para la raza Black Bengal y Otchere y Nimo (1975) dan cifras de 141,3 días para la raza West African Dwarf, así mismo Debenedetti y Lucaroni (1979) hablan de 154 días para la raza local de Umbría (Tabla 5).

El que el factor racial se revele como significativo o no desde el punto de vista que estamos tratando, va a depender en buena medida de las razas que se comparen entre sí. Así García y cols. (1976) encuentran diferencias significativas entre las razas Alpina y Nubia ; Sinha y Sahni (1982) y Gangwar y Yadav (1986) entre Jamnapari, Beetal, Barbari y Black Bengal ; Kanaujia y cols. (1987) entre Beetal, Black Bengal y sus cruces ; Santos y cols. (1992) entre el cruce Alpina x Moxoto y las razas Saanen, Anglo-nubia y Alpina. Por otro lado comparando Beetal con los cruces Alpina x Beetal y Saanen x Beetal las diferencias que aparecen no son significativas (Mehla y Mishra, 1980), igual sucede con las razas Malabar y los cruces Alpina x Malabar y Saanen x Malabar (Kuriakose y cols. 1983), con la raza Black Bengal y los cruces Black Bengal x Jamnapari y Black Bengal x Beetal (Singh y Singh, 1983) y con las razas East Africa y Galla y los cruces Toggenburg x East Africa , Toggenburg x Galla, Anglo Nubia x East Africa y Anglo Nubia x Galla (Ruvuna y cols. 1988).

Tabla 5. Duración de la gestación en distintas razas caprinas.

Raza	País	Duración media (días)	Fuente
West African Dwarf	Ghana	141,3	Otchere y Nimo (1975)
Black Bengal	India	142,3	Singh y cols. (1987)
Black Bengal	India	143,0	Ali y cols. (1973). (Cit. Gall 1981)
Blak Bengal	India	144,1	Verma y cols. (1991)
Surti	India	144,6	Deshpande y Mehta (1992)
Barbari	India	144,9	Gangwar y Yadav (1986)
Marwari	India	145,1	Deshpande y Mehta (1992)
Jamunapari	India	145,2	Gangwar y Yadav (1986)
Enana local	Japón	145,6	Surgie y Soma (1970)
Beetal	India	145,9	Gangwar y Yadav (1986)
Ganjam	India	146,3	Mohanty y cols. (1985)
Criolla	México	148,2	Carrera y Hernández (1971). (Cit. Gall 1981)
Nubia	Venezuela	148,7	González (1977). (Cit. Gall 1981)
Angora	Sudáfrica	149,2	Rensburg (1971). (Cit. Gall 1981)
Saanen	Inglaterra	150,0	Peaker (1978). (Cit. Gall 1981)
Alpina	Francia	152,0	Ricordeau (1973). (Cit. Gall 1981)
Umbria	Italia	154,0	Debenedetti y Lucaroni (1979)

En el caso del ganado vacuno se admite una mayor duración para las razas procedentes del *Bos indicus* frente a las procedentes del *Bos taurus*, manteniéndose esta tendencia en los cruces (Lemos y cols., 1984; Chenoweth, 1994). Así mismo dentro de los procedentes de *Bos taurus*, las gestaciones de las razas lecheras suelen ser más cortas que las de las razas de producción cárnica (Pastor, 1997).

En ovino Goode y cols. (1980) encuentran diferencias significativas entre las razas Dorset y su cruce con Black-belly, por lo que se aprecia un notable consenso en cuanto a la importancia de este factor variación en las distintas especies.

2.4.5.2. Época de parto.

Dentro de este apartado se tratará tanto el año como la época dentro del año, relacionándolo en general con las condiciones climatológicas y con la disponibilidad o no de recursos pastables, así como con la raza, habiéndose observado una importante disparidad de criterios entre los distintos autores.

Mishra y cols. (1979) para la raza Sirohi, Silva y cols. (1984) para la Criolla Brasileña y Okeyo y cols. (1985) para la East Africa, la Galla y sus cruces, encuentran diferencias significativas entre la duración de las gestaciones que tienen lugar en épocas o en años de sequía y las que tiene lugar en épocas lluviosas, siendo las primeras más cortas que las segundas. Este hecho mantiene cierta lógica y puede ser atribuible a que la carencia de recursos provoque un estrés nutricional que favorezca el adelanto del parto (Ruvuna y cols. 1988), también a la posible mejor adaptación al calor y a la escasez de recursos de unas razas respecto a otras, como es el caso de las razas Surti y Marwari, donde la primera presenta gestaciones significativamente acortadas en las épocas de calor, no afectando esto a la segunda (Deshpande y Mehta, 1992). Gangwar y Yadav (1987), en un estudio en el que recogen 602 duraciones de gestación establecen justamente lo contrario, para las razas Janmunapari, Barbari y Beetal, aportando datos que indican gestaciones más largas durante los periodos secos respecto a los lluviosos, no obstante estos datos pueden no estar en total contradicción con los citados anteriormente ya que, en este caso, los animales estaban sometidos a un régimen de explotación intensiva

Otros autores simplemente no encuentran diferencias significativas en función del año o de la época del año (Mehla y Mishra, 1980 ; Khan y cols., 1982 ; Sinha y Sahni, 1982 ; Kuriakose y cols., 1983 ; Amoah y Gelaye, 1990 ; Biswas y Koul, 1994).

Valorando datos de ganado vacuno se observa una similar disparidad de resultados al tratar este factor de variación. Así Tena (1973), Azzam y Nielsen (1987), Browing y cols. (1995) no lo encuentran estadísticamente significativo, mientras que otros autores si lo encuentran (Polastre y cols., 1982 ; Lemos y cols. 1984 ; Nunes y Ferreira., 1987; Amin y cols., 1987 ; Becerra y cols., 1994), atribuyéndose en gran medida, también en este caso a los distintos manejos y a la alimentación de los animales.

2.4.5.3. Edad o número de parto.

Aunque este es un efecto que a priori se considera de interés, la mayor parte de los autores revisados no lo encuentran significativo (Kuriakose y cols. 1983 ; Gangwar y Yadav, 1986 ; Das y Tomer, 1987 ; Amoah y Gelaye, 1990 ; Deshpande y Mehta, 1992). Parece que sólo muestran significación las

diferencias de duración de gestación entre primíparas y el resto (Ruvuna y cols. 1988 ; Verma. y cols. 1991, siendo más cortas en las primeras .

Esa misma última tendencia observan otros autores en ganado bovino (Nadarajah y cols. 1989 : Becerra y cols. 1994), también Fuentes y cols. (1987) obtienen resultados parecidos para ganado ovino, encontrando incluso diferencias significativas entre partos hasta el cuarto parto. Como contrapartida Morales y cols. (1983) ; Pandit y cols. (1986) ; Caballero y cols. (1994) en ganado bovino, aportan diferencias no significativas en función de esta variable.

2.4.5.4. Tipo de parto.

Aquí se hace referencia al factor número de crías nacidas sin tenerse en cuenta el sexo de las mismas.

En este sentido hay un nutrido grupo de autores que no encuentran diferencias significativas entre partos simples, gemelares o triples (Mittal, 1981 ; Sinha y Sahni, 1982 ; Mishra y cols. 1983 ; Gangwar y Yadav, 1986, Das y Tomer, 1989 ; Amoah y Gelaye, 1990 ; Verma, y cols. 1990 ; Verma, y cols. 1991). Hay ,sin embargo, otras referencias bibliográficas que citan diferencias significativas en la duración de las gestación entre partos simple y gemelares, siendo las primeras más largas (Prasad y Pandey, 1981; Singh y Singh, 1983 ; Zygyiannis y cols. 1989). Este hecho se intenta explicar debido a que el peso y volumen fetal total aumentado desencadenaría precozmente el proceso del parto (Ruvuna y cols., 1988), también se argumenta una mayor síntesis de corticoesteroides fetales por parte de dos fetos frente a uno lo cual iniciaría el proceso del parto con cierta antelación (Deshpande y Mehta, 1992).

En ovino Aparicio (1973), Villette y Brelurut (1980), Fuentes y cols. (1987), encuentran también gestaciones más cortas para partos dobles, aunque también hay autores que no encuentran diferencias significativas (Sinha y cols. 1981). Es de destacar el que entre los autores revisados, tanto para la especie caprina como para la ovina, no aparezca ninguna referencia haciendo alusión a diferencias significativas en las que el periodo gestacional sea más largo para preñeces de un solo feto.

En el ganado bovino normalmente el número de partos gemelares respecto al de simples varía con la raza pero es, en general, muy bajo, por lo que esto constituye una importante limitación a la hora de determinar hasta que punto este hecho es o no significativo (Polastre y cols. 1982; Vallejo y cols. 1989; Becerra y cols. 1994), no obstante Pastor (1997), para ganado Retinto, encuentra que los partos gemelares tienen lugar antes que los simples.

2.4.5.5. Sexo de las crías.

En el estudio de la diferencia respecto al sexo de las crías nos encontramos con que, en ganado caprino, la mayor parte de los trabajos no encuentran que éste sea un factor de variación estadísticamente significativo (Sihna y Sanhi, 1982; Kuriakose y cols. 1983; Ruvuna y cols. 1988; Verna y cols. 1990; Amoah y Gelaye, 1990; Verna y cols. 1990; Deshpande y Mehta, 1992 ; Biswas y Koul, 1994), tan solo Khan y cols. (1982) para la raza Janmunapari encuentran duraciones de gestación más largas para machos que para hembras. Esta última observación coincide con las hechas por Pelle (1984), Mucsi y Turi (1988), Fuentes y cols. (1987) para el ganado ovino.

En ganado bovino la bibliografía aporta un consenso relativamente importante en este sentido, reflejando diferencias significativas entre las gestaciones de machos y hembras, siendo más largas las de macho (Silva, 1972; Polastre y cols. 1982 Pandit y cols. 1986 Azzam y Nielsen, 1987 ; Nadarajah y cols. 1989 ; Becerra y cols. 1994 ; Caballero y cols. 1994 ; Pastor, 1997), aunque algunos encuentran que esas diferencias no son significativas (Tena, 1973; Vallejo y cols. 1989).

2.4.5.6. Peso de las crías al parto.

Son escasas las referencias bibliográficas que establecen para caprino una correlación entre peso de las crías al parto y duración de la preñez. Das y Tomer (1987) hacen un estudio exhaustivo y obtienen altas correlaciones, tanto en los pesos de los partos simples como en los de los gemelares. También Sinha y cols. (1981) en ovino establece esta correlación positiva.

Es en ganado vacuno donde más referencias bibliográficas se aportan estableciendo esta correlación (Pandit y cols. 1985; Nadarajah y cols. 1989; Caballero y cols. 1994; Pastor, 1997).

2.5. Pautas de manejo reproductivo en A.C.C.

A pesar del interés que tiene, como información de base y punto de partida, el disponer de una caracterización de los sistemas de producción y del manejo reproductivo del ganado, nos encontramos con que en este sentido son bastante escasas las referencias publicadas. Los trabajos que se han hecho suelen estar referidos a islas o situaciones concretas y sin la profundización adecuada de forma que los datos aportados tienen un valor relativo.

Capote y cols. (1992) a partir de los datos extraídos de la realización de 122 encuestas en ganaderías de los tres tipos raciales existentes establecen la existencia de un solo parto al año, una relación macho/hembras que va de 1/30 a 1/45, y la tendencia de centrar la paridera entre los meses de noviembre, diciembre y enero, no aportándose datos sobre el número de machos que se incluyen en el rebaño, tiempo que están los machos con las hembras y en general sobre el manejo de los animales en época de cubriciones. Estos datos generales coinciden con los aportados en concreto para Cabra Majorera (Melián y cols. 1992) y para Tinerfeña (Mayans y cols. 1992). Machín y Santiago (1997) en una caracterización exhaustiva del sector ganadero de la Isla de la Gomera observan un amplio abanico de prácticas vinculadas al sistema de explotación, con una variabilidad individual importante, que van desde relaciones macho/hembras de 1/60 hasta 1/20, con paridera usualmente centrada también en los meses anteriormente citados. En esta comunicación se hace hincapié sobre la general inexistencia de la utilización del efecto macho, ya que los machos se alojan muy cerca de las hembras o bien hay largos periodos de coexistencia entre ellos. En ningún caso se aportan datos sobre si existe, o no, simultaneidad de machos en un mismo lote de hembras. No obstante según datos de la Asociación de Ganaderos "ACORAN" (sin publicar) y según datos recogidos por Mata y Bermejo (1999a; 1999b), podemos considerar que existen, a grandes rasgos, tres esquemas básicos de manejo reproductivo.

1. Monta natural de grandes lotes de hembras con varios machos simultáneamente, aprovechando el efecto macho, en una relación macho/hembras de entre 1/15 a 1/25, alargándose la época de

cubriciones alrededor de dos meses. Este planteamiento es característico de explotaciones intensivas que venden la leche a las queserías y donde lo que buscan principalmente es garantizarse la preñez de las hembras, concentrando las parideras en un espacio de tiempo relativamente corto, no valorando la genealogía de la descendencia.

2. Monta natural de grandes lotes de hembras con uno o dos machos que permanecen con las mismas durante mucho tiempo. Este esquema es muy frecuente en las ganaderías extensivas que hacen una sola paridera, de larga duración, al año. Con esta práctica es relativamente sencillo el control de paternidad pero dificulta el manejo del ganado de cara a la alimentación y el ordeño.
3. Monta natural en lotes medianos de hembras, inicialmente con uno o dos machos, considerados como buenos por el ganadero, y posterior introducción de varios más durante un periodo relativamente corto de tiempo. Con esta pauta de manejo se pretende concentrar las parideras e introducir en el rebaño las características de los machos deseados, sin que ello implique un control efectivo de la paternidad

En otro orden de cosas, pero dentro del ámbito que nos ocupa, destacar trabajos recientes encaminados a optimizar y definir las técnicas de sincronización de celos y de inseminación artificial aplicadas a la A.C.C. (Lorenzo y cols., 1997 a ; Lorenzo y cols., 1997 b ; Gracia y cols., 1997), que aunque actualmente estén a nivel de investigación, hacen presumible a medio plazo su utilización en la práctica, si bien no de forma generalizada, al menos sí en ganaderías colaboradoras integradas dentro un plan de mejora y usando semen refrigerado (Gracia, 1999), lo cual, al margen del interés que esto tenga desde los puntos de vista productivo y de manejo reproductivo, representaría un avance importante en el control genealógico y en los planes de mejora (Corteel, 1973 ; Corteel, 1981 ; Zygoiannis y cols, 1989 ; Poto y cols, 1994).

2.6. Marcadores genéticos estructurales y su utilización en determinación de filiaciones dudosas.

Como ya se ha comentado, el control genealógico de los individuos es básico e incide de distintas formas y a distintos niveles en las producciones animales, por tanto es necesario disponer de alguna herramienta o sistema, fundamentada en la identificación de los individuos, que nos permita determinar la paternidad *a posteriori*, de forma que, puntualmente, se puedan subsanar las dudas en el control de la paternidad debido a eventuales fallos de organización en el manejo reproductivo.

2.6.1. Introducción.

Tradicionalmente los métodos de identificación se basaban en caracteres y parámetros morfológicos y funcionales, asociados a unos esquemas de manejo tradicionales que implicaban un conocimiento directo de los animales por parte del ganadero. Con el tiempo, y debido a los esquemas de selección y a la intensificación de los sistemas de producción se asiste a la tecnificación y a un incremento cada vez mayor de la consanguinidad y por tanto de la homogeneidad de los individuos, si a esto le sumamos la difusión masiva, a través de técnicas reproductivas, de determinados genotipos y fenotipos en función, principalmente, de sus potencialidades productivas y de un determinado morfotipo, nos encontramos con que los caracteres y criterios inicialmente válidos dejan de serlo, al menos con la eficacia requerida. Sin embargo a nivel comercial cada vez es más importante comprobar la ascendencia de un animal y por tanto su valor real como productor o como futuro reproductor, lo cual es una garantía, no sólo para los posibles compradores, sino también para aquellos que suministran al mercado animales de calidad al permitirles establecer claramente la autenticidad de origen. A nivel de planes de mejora se necesita garantizar la genealogía y disponer de un mecanismo de control sobre los circuitos de inseminación y trasplante de embriones.

A partir de los años cincuenta se empiezan a utilizar marcadores genéticos derivados de la expresión génica, como los grupos sanguíneos y los polimorfismos bioquímicos. Estos marcadores son la expresión de *loci* que presentan, al menos, dos variantes alélicas detectables. La filiación se determina mediante la detección o no de los alelos paternos y maternos en un

individuo, trabajándose normalmente con varios marcadores y cruzándose la información obtenida de cada uno de ellos.

Años más tarde la biología molecular aporta otro enfoque en base a obtener la información directamente de la estructura del DNA, apoyada en un grupo de técnicas que en su conjunto reciben el nombre de DNA recombinante. Con estas nuevas técnicas se empieza a ver que el nivel de variación genómico es mayor a lo estimado en función de la expresión génica (Jeffreys 1979), obteniéndose posteriormente marcadores estructurales que aportan más variantes detectables que los marcadores usados anteriormente (Weber y May, 1989).

A lo largo del tiempo se han ido describiendo distintos tipos de marcadores genéticos, inicialmente basados en el uso de enzimas de restricción, las cuales supusieron un paso clave en el posterior desarrollo de las técnicas del DNA recombinante. Se trata de endonucleasas que permiten cortar el DNA por lugares específicos (dianas), normalmente de entre 4 y 6 pares de bases, obteniéndose fragmentos que pueden ser detectados por electroforesis en gel de agarosa, transferidos a una membrana e hibridados con sondas complementarias marcadas (Southern, 1975). Esta técnica es la base del estudio de los RFLPs (fragmentos de restricción polimórficos), que son los primeros polimorfismos usados ampliamente y que tienen lugar cuando la secuencia diana de una endonucleasa se altera, no reconociendo la enzima el lugar de corte, con lo cual el fragmento de restricción varía.

Posteriormente dentro del DNA no codificante se detectan secuencias repetitivas en tándem cuyas unidades pueden ir desde un par de bases hasta varios miles teniendo, además, una alta tasa de variabilidad. Las más usadas como marcadores son los minisatélites, constituidos por secuencias de decenas de bases repetidas, y los microsatélites que son secuencias simples de 2 a 4 pares de bases, altamente inestables y por tanto muy polimórficas.

El hecho de que la probabilidad de exclusión dependa del número de *loci* polimórficos y de las frecuencias alélicas (Chakraborty y cols., 1984) le confiere a estos polimorfismos una gran fiabilidad en la identificación habiéndoseles calificado incluso como “huella genética” o “fingerprint”, término acuñado por Jeffreys y cols., (1985 a,b), los cuales trabajando con sondas derivadas del gen de la mioglobina humana hibridan simultáneamente en distintas regiones minisatélites, obteniendo, debido a la similitud entre las secuencias repetitivas

de esas regiones hipervariables, un patrón de bandas que consideraron específico para cada individuo. Por otro lado se trata de loci repetitivos fácilmente detectables mediante el uso de sondas de secuencia conocidas común para distintos minisatélites (secuencias "core") (Nakamura y cols., 1987), siendo el polimorfismo debido a diferencias en el número de repeticiones en tándem que presentan.

Arranz y cols., (1996) trabajando con cinco poblaciones de ganado vacuno, de cuatro razas distintas analizan catorce marcadores proteicos y cinco microsatélites y observan que el porcentaje de marcadores con diferencias significativas entre poblaciones fue muy superior para los microsatélites (60 – 100%) que para los sistemas proteicos (35,7 – 64,3%), así mismo el número de alelos detectados en los cinco microsatélites también fue muy superior (79) al de los catorce marcadores proteicos (28).

Actualmente son los microsatélites, descritos ya inicialmente como una fuente general de marcadores estructurales polimórficos (Tautz, 1989), los marcadores que se han configurando como idóneos en los tests de paternidad debido sus peculiares características.

2.6.2. Microsatélites.

Se trata de repeticiones en tándem de secuencias simples presentes en todos los genomas eucarióticos (Tautz y Renz, 1984), que se pueden poner fácilmente de manifiesto mediante amplificación a través de reacción de la polimerasa en cadena (PCR) y posterior electroforesis en geles de acrilamida. (Weber y May, 1989; Fries y cols 1990).

Dentro de las secuencias posibles es la secuencia (CA/GT) la que más se repite en las distintas especies. (Weber y May, 1989; Moore y cols., 1991; Wintero y Fredholm, 1992). Weber (1990), realiza un completo estudio sobre las secuencias repetitivas (CA/GT) en el genoma humano, revelando que las secuencias difieren entre ellas tanto en número de repeticiones como en el tipo de secuencia que se repite, clasificándolas en tres categorías: secuencias repetitivas perfectas (64%), secuencias repetitivas imperfectas con interrupciones en la secuencia de repeticiones (25%) y secuencias de repetición compuesta (11%), viendo que los valores del contenido de información polimórfico (PIC) (Botstein y cols., 1980) son mayores cuanto

mayor y más perfecta es la secuencia.

Glowatzki-Mullis *y cols.*, (1994) condensan el interés de los microsatélites como herramienta de rutina en la verificación de la paternidad debido a que el modelo de herencia es mendeliano siendo los alelos codominantes, son abundantes en el genoma, son altamente polimórficos, se pueden reproducir a partir de pequeñas cantidades de muestra, la variabilidad es fácilmente detectable y a que parece factible la estandarización de los protocolos de laboratorio. Estos aspectos son corroborados también por las mismas fechas por Alford *y cols.* (1994), los cuales hacen hincapié en la eficacia, la sensibilidad y la simpleza metodológica de la técnica. Por otro lado Amigues *y cols.* (1994) hacen un estudio comparativo en caprino (razas Saanen y Alpina), entre las técnicas de tipificación sanguínea y el uso de microsatélites en los controles de paternidad. Para ello usan 28 reactivos incluidos en seis sistemas genéticos frente a cuatro microsatélites, obteniendo en las técnicas sanguíneas una probabilidad de exclusión (PE) de 0,71 para Saanen y de 0,74 para Alpina frente a 0,93 y 0,95 respectivamente trabajando con microsatélites, confirmando en estos últimos su interés y eficacia como mecanismo de rutina.

Son muchas ya las referencias, dentro de los animales domésticos, en las que los microsatélites han sido utilizados con éxito en el control de paternidad (Marklund *y cols.*, 1992; Amigues *y cols.*, 1994 Zajc *y cols.*, 1994; Binns *y cols.*, 1995; Glowatzki- Mullis *y cols.*, 1995; Fredholm y Wintero, 1996; Bates *y cols.*, 1996; Brouwers *y cols.*, 1996; Williams *y cols.*, 1997; Mommens *y cols.*, 1998; Vankan y Hefford, 1998).

2.6.2.1. Microsatélites descritos en caprino.

Son pocas las referencias bibliográficas donde aparezcan descritos marcadores microsatélites en esta especie y menos aún las que lo hacen de forma exclusiva. No obstante es un hecho constatado que la proporción de microsatélites conservados entre especies próximas es elevada (Stallings *y cols.*, 1991), con lo cual al usar microsatélites comunes no sólo se optimiza el trabajo sino que permite construir mapas comparativos entre especies cercanas En el caso de los rumiantes domésticos se ha visto (Moore *y cols.*, 1991; Mclsaac *y cols.*, 1993) que aproximadamente el 50% de los cebadores de microsatélites bovinos amplifican producto polimórfico en cabras y ovejas. Fries (1993) sugiere que el mapa genómico de bovino puede ser

usado como un mapa base para establecer los mapas de otros artiodáctilos.

Kemp y cols., (1995) describen 97 marcadores microsatélites polimórficos bovinos, de ellos 39 son polimórficos en oveja y 32 en cabras. En este estudio, además, se identifica un set de 18 marcadores que son polimórficos en las tres especies, aunque se observa que en general no hay correlación entre el polimorfismo de los microsatélites en las tres especies.

Pepin y cols. (1995) trabajando con DNA caprino y con cebadores derivados de secuencias flanqueantes de 70 microsatélites bovinos (Vaiman y cols., 1994) consiguen amplificar con éxito, mediante PCR, 20 marcadores, valorando 3 de ellos en tests de paternidad. Los resultados avalan que el 40% de los microsatélites aislados de bovino pueden ser útiles para el estudio del genoma caprino. Los tres marcadores usados en los tests de paternidad (INRA006, INRA023 e INRA005) aportan una probabilidad de exclusión conjunta de 0,89 por lo que se haría necesario incorporar nuevos microsatélites a esta batería. No obstante se resalta que, dado que el ganado caprino ha tenido menos presión de selección que el bovino, la mejora de las razas caprinas basada en marcadores genéticos será más fácil que en vacuno.

Slate y cols. (1998) testan 174 cebadores de microsatélites bovinos en una raza de oveja primitiva (*Ovis aries*) y en dos especies de ciervo (*Cervus elaphus* y *Cervus nippon*) observando en las tres especies una conservación de los microsatélites bovinos (73,5% de media) muy superior a la observada en otros trabajos precedentes debido, según los autores, a haber optimizado las condiciones de la PCR para todos los cebadores testados por lo que sugieren que la conservación de los microsatélites entre los artiodáctilos es muy elevada.

Sólo de forma ocasional se encuentran referencias de autores describiendo microsatélites caprinos aislados a partir de genotecas parciales de DNA caprino (Bhebbe y cols.,1994; Kogi y cols.,1995; Kemp y cols.,1995; Yeh y cols.,1997; Jiménez –Gamero y cols.,1997b).

De cualquier forma, quizás sea la batería propuesta por Bragança y cols. (1999), la que mejor se adapte a los propósitos del presente trabajo, ya que apoyándose en una técnica *multiplex* ofrecen una probabilidad de exclusión conjunta (PEC) superior al 99,9% tanto en vacas y ovejas como en cabras.

Las técnicas que nos permiten obtener información respecto al polimorfismo de los marcadores microsatélites pasan por tres fases sucesivas i) la extracción del DNA ii) la amplificación masiva de fragmentos concretos del DNA mediante la PCR iii) la detección de los polimorfismos obtenidos.

2.6.3. Extracción de DNA.

Dada la estabilidad de la doble cadena de DNA las fuentes de DNA son muy diversas, de forma que, prácticamente, cualquier tejido es susceptible de ser utilizado; en principio cualquier muestra que contenga células nucleadas. La técnica de extracción se adaptará básicamente a la fuente que se disponga y al peso molecular y pureza que queramos obtener del producto. Habitualmente la calidad del DNA extraído viene definida por el tamaño de la molécula obtenida. Las células nucleadas sanguíneas son la fuente más comúnmente utilizada.

El procedimiento usual de extracción consiste en la homogenización de la muestra en una solución de lisis con un detergente que rompe las membranas celulares y una incubación con proteinasa K que digiere las proteínas. Posteriormente se suelen separar los ácidos nucleicos del resto de los componentes celulares mediante extracción fenólica, precipitándose a continuación el DNA con etanol o isopropanol. Para la conservación del producto obtenido éste se suele resuspender en el rutinariamente denominado buffer TE (Maniatis y *cols.*, 1982).

A partir de este protocolo base son numerosos los autores que plantean variantes buscando, principalmente, acortar los tiempos de ejecución y abaratar los costes. En el caso de que la extracción del DNA se haga para utilizarlo en posteriores PCRs no es necesario que el producto esté altamente conservado ni purificado, por lo que en estos casos se suelen proponer protocolos abreviados (Kawasaki 1990; Salido 1995), en los cuales no se hace ni la extracción fenólica ni la precipitación alcohólica.

Burckhardt (1994) describe las condiciones óptimas para amplificación de DNA a partir de cantidades diversas de sangre entera usando EDTA, heparina o citrato como anticoagulantes, determinando las condiciones mínimas de pretratamiento de la muestra en cada caso.

2.6.4. La reacción en cadena de la polimerasa,

En 1985 Saiki y cols. describen una técnica de amplificación *in vitro* de secuencias específicas de ADN, a la que se ha denominado PCR, siglas inglesas de reacción en cadena de la polimerasa. (Mullis y cols., 1986). Esta técnica ha tenido un impacto revolucionario en los estudios de genética molecular en los últimos años ya que permite poder disponer de forma rápida y sencilla de cantidades suficientes de una determinada secuencia de DNA para su posterior estudio.

La PCR es un método de síntesis de ácidos nucleicos en el que el número de moléculas generadas se duplica después de cada ciclo. Para su realización hay que disponer de unos reactivos básicos: la muestra de DNA a amplificar, dos oligonucleótidos cebadores, cada uno de ellos complementario a cada una de las hebras del DNA molde al que flanquean, abundancia de los cuatro deoxinucleótidos trifosfatos, una DNA polimerasa y un tampón con cloruro de magnesio. Los reactivos, una vez mezclados, son sometidos a una serie de ciclos térmicos. Cada ciclo consta de una desnaturalización de DNA separándose las dos cadenas complementarios a temperaturas alrededor de 95° C, una renaturalización o unión de los cebadores a las secuencias complementarias entre 50 y 55° C y una polimerización o extensión a 72° C donde se copia la cadena molde de DNA mediante la adición al extremo 3' del cebador de los deoxinucleótidos complementarios, de forma que después de cada ciclo habrá un crecimiento exponencial de las copias de DNA.

Inicialmente la enzima utilizada en la PCR era un fragmento de DNA polimerasa de *E. coli*, denominado fragmento de Klenow cuya temperatura óptima de reacción es de 37° C y que pierde su actividad en cada desnaturalización ya que no es termoestable, por lo que obliga a añadir enzima fresca en cada ciclo. Saiki y cols. (1988) proponen el uso de una polimerasa termoestable, procedente de la bacteria termófila *Thermus acuaticus*, la denominada Taq polimerasa, la cual después de 50 ciclos aún conserva el 65% de su actividad. El uso de enzimas termoestables es el primer paso hacia la automatización del proceso, coadyuvado con el posterior desarrollo de aparatos diseñados para suministrar los ciclos de temperatura con los tiempos necesarios en cada paso.

En la línea de optimizar la PCR y considerando que la eficacia de la técnica viene dada por la especificidad, la cantidad y la fidelidad del producto obtenido, Cha y Thilly (1993), hacen una amplia revisión sobre los factores esenciales que inciden sobre cada uno de estos aspectos destacando que, a menudo, las condiciones que permiten un gran rendimiento no son compatibles con altos niveles de fidelidad y especificidad y viceversa.

Así mismo, a partir del momento en que se dispone de secuencias de cebadores para un gran número de microsatélites, se empieza a plantear la posibilidad de trabajar combinándolos en grupos que se coamplifican en una sola PCR (multiplex), reduciéndose así los costos y el tiempo necesario para los análisis (Vankan y cols., 1994). Los microsatélites seleccionados para reacciones multiplex deben de ser también altamente polimórficos y de distintos tamaños de forma que las variantes alélicas no se solapen entre si.

2.6.5. Detección de los polimorfismos.

La electroforesis en geles ha sido hasta no hace mucho la técnica más utilizada para detectar las variantes de los microsatélites, el polimorfismo se detecta en función de la migración de los fragmentos obtenidos, estando ésta en relación inversa con el tamaño de los mismos. Lo habitual es trabajar con geles de agarosa en una primera fase en la que se evalúa el rendimiento de la PCR, empleando bromuro de etidio para la visualización de las bandas de DNA (Sambrook y cols.,1989), ya que éste se intercala entre las bases del DNA y emite luz visible cuando se expone a radiación ultravioleta, pudiendo su imagen ser fotografiada y digitalizada, el principal problemas de este reactivo es que necesita una concentración de al menos 5 ng de DNA en las bandas. En una segunda fase, para diferenciar con certeza los productos de la PCR se suele trabajar con geles de poliacrilamida que permiten una resolución de un solo nucleótido, en estos casos para la visualización de los productos amplificados se recurre a compuestos, radiactivos o no, que se incorporan, mediante el uso de dNTPs marcados, directamente en el DNA amplificado. La sensibilidad de estos reactivos es mucho mayor ya que permiten detectar bandas de menos de 1 ng de concentración. Otra posibilidad es trabajar según la técnica propuesta por Bassam y cols. (1991), donde los geles de poliacrilamida una vez sometidos a la electroforesis son teñidos con nitrato de plata y posteriormente revelados, de forma que se evita el manipulado de productos radiactivos o tóxicos.

No obstante lo dicho a partir de 1995, tal y como se evidencia en los Proceedings de la XXV International Conference on Animal Genetics celebrada en Tours en 1996, empiezan a aparecer frecuentemente trabajos en los que se utilizan cebadores marcados con fluorocromos para evidenciar los microsatélites (Reed y cols., 1994). El sistema se basa en la detección de la fluorescencia emitida por los marcadores al ser estos excitados por un láser. Actualmente la utilización de estos sistemas pasa por disponer de un secuenciador automático asociado a un programa digital de análisis que procese los datos. A pesar del elevado costo de la infraestructura necesaria para la aplicación de esta alternativa, son cada vez más los trabajos donde esta opción se plantea como mecanismo de rutina asociado a sistemas multiplex, debido a rapidez, eficacia, ausencia de toxicidad y relativa sencillez de la técnica, tanto para usos en control de paternidad (Glowatzki – Mullis y cols., 1995; Bates y cols.; 1996; Heyen y cols., 1997; Mommens y cols., 1998), para establecer distancias genéticas entre razas (Moazami- Goudarzi y cols., 1997; Peelman y cols., 1998) o para simple caracterización de microsatélites (Hirano y cols., 1996).

2.7. Base estadística aplicada a las pruebas de paternidad mediante microsatélites.

Una vez obtenidos los resultados respecto al polimorfismo de los microsatélites son varios los parámetros que nos orientan respecto a la calidad de los mismos basados en el conteo directo de las frecuencias alélicas.

El contenido de información polimórfica (PIC) (Botstein y cols., 1980) es un indicador ampliamente usado que refleja el polimorfismo detectado. De forma general los microsatélites despliegan un alto grado de polimorfismo, con un PIC medio, para bovino de 0,6 (Vaiman y cols. 1994).

El PIC se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

donde p_i y p_j son las frecuencias de los alelos i y j .

En el trabajo que nos ocupa, para dilucidar paternidades dudosas, nos centraremos en la probabilidad de exclusión (PE) de los marcadores genéticos utilizados. Carracedo y cols., (1988) definen el PE de un marcador, en una población concreta, como el porcentaje de presuntos padres falsamente imputados cuya paternidad quedaría excluida *a priori* en base a ese marcador y es otro de los factores que se tienen en cuenta a la hora de valorar la calidad de un microsatélite. Su expresión matemática para un sistema de dos alelos codominantes sería la siguiente:

$$PE = p_i p_j (1 - p_i p_j)$$

Donde p_i es la probabilidad de que un individuo transmita el alelo i y p_j la probabilidad de que transmita el alelo j , en este caso coincidente con las frecuencias alélicas de ambos.

Para el caso de n alelos codominantes en un locus, Jamieson (1965) propuso la siguiente expresión:

$$PE = \sum_i p_i (1 - p_i)^2 - \sum_{i>j} (p_i p_j)^2 [4 - 3(p_i + p_j)]$$

La cual ha sido aplicada y corroborada tanto con marcadores proteicos (Patterson y Bell., 1987), como con microsatélites (Ellegren y cols., 1992; Marklund y cols., 1994).

Posteriormente (Jamieson 1994), adapta la fórmula general con el objeto de hacerla más operativa para el cálculo

$$PE = \sum_i p_i - 2 \sum_i p_i^2 + \sum_i p_i^3 + 2 \sum_i p_i^4 - 3 \sum_i p_i^5 - 2 \left(\sum_i p_i^2 \right)^2 + 3 \sum_i p_i^2 \sum_i p_i^3$$

Esta fórmula nos da la PE en el caso de que se conozcan los genotipos de un trío constituido por la cría, la madre y el padre putativo. Hay otras expresiones que permiten calcular la probabilidad de exclusión cuyo se conoce el genotipo del padre putativo y la cría pero se desconoce el del padre confirmado (Garber y Morris, 1983).

Aunque la mayor parte de las discusiones sobre utilidad de marcadores para el control de paternidad se centra en la capacidad de exclusión de cada uno de ellos, en la práctica se busca una batería de marcadores cuya probabilidad de exclusión conjunta o combinada (PEC) resuelva el problema con la máxima eficacia (Chakraborty y Stivers, 1996; Fredholm y Wintero, 1996; Heyen y cols.,1997).

La expresión para su cálculo es:

$$PEC = 1 - \prod_n (1 - PE_n)$$

Donde n es el número de loci implicados en el análisis de paternidad.

En principio pues la eficacia de una batería de marcadores está en relación directa con el número de alelos de cada locus, del número de loci y del número de marcadores utilizados.

3. MATERIAL Y METODOS.

3.1. Análisis de la duración de gestación en la Agrupación Caprina Canaria.

Es sobre la duración media del periodo de gestación y sobre sus factores de variación donde pivota todo el planteamiento propuesto en esta tesis, ya que este parámetro nos da el soporte teórico en lo referente a las pautas de manejo reproductivo basadas en la aplicación de intervalos de confianza entre el uso de distintos sementales, por tanto se ha hecho un planteamiento metodológico amplio con el objeto de disponer de una visión en profundidad de la variable.

3.1.1. Material animal.

Se ha trabajado con animales, de las tres variedades existentes; Tinerfeña, Palmera y Majorera, todos ellos procedentes de la instalaciones del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias ubicadas en la finca de Pico Bermejo, Municipio de Valle Guerra en la isla de Tenerife.

En total se ha registrado la duración de 254 gestaciones válidas, que han tenido lugar entre los años 1992 y 1995. La duración de gestación se ha estimado mediante observación directa tanto de la fecha de cubrición como la de parto.

3.1.2. Estructuración de los datos.

De cada animal controlado se recogieron los siguientes aspectos:

- ✓ Identificación de la hembra.
- ✓ Tipo racial.
- ✓ Número de parto.
- ✓ Fecha de cubrición.
- ✓ Fecha de parto.
- ✓ Tipo de parto.
- ✓ Sexo de las crías.
- ✓ Identificación del macho que hace la cubrición.
- ✓ Duración de la gestación.

En función de esto, la base muestral queda configurada de acuerdo con las tablas siguientes (Tabla 6, Tabla 7, Tabla 8 y Tabla 9).

Tabla 6. Número de hembras por tipo racial.

Tipo racial	Tinerfeña	Majorera	Palmera
Número madres	161	52	38

Tabla 7. Número de hembras por tipo de parto.

Tipo de parto	Simple	Gemelar	Triple	Cuádruple	Quíntuple
Número madres	48	145	53	5	1

Tabla 8. Sexo de las crías por tipo de parto.

Tipo de parto	Simple
Número de machos	24
Número de hembras	24

Tipo de parto	Doble
Dos machos	34
Dos hembras	40
Un macho y una hembra	71

Tipo de parto	Triple
Tres machos	4
Dos machos y una hembra	19
Un macho y dos hembras	22
Tres hembras	8

Tipo de parto	Cuádruple
Tres machos y una hembras	2
Dos machos y dos hembras	2
Un macho y dos hembras	1

Tipo de parto	Quíntuple
Cinco hembras	1

Tabla 9. Número de hembras en función de la edad/número de parto.

Edad (años)	< Tres	Tres	Cuatro	Cinco	> Cinco
Número hembras	75	66	54	28	29

3.1.3. Procesamiento de los datos.

Inicialmente todos los registros fueron almacenados y ordenados en la base de datos Dbase IV(® Borland Inc.), aunque posteriormente se adaptan al sistema operativo Windows usando para ello el programa Excell de Microsoft.

A partir de aquí, usando el paquete estadístico S.A.S., mediante los procedimientos Univariate, Means y Tabulate, se obtienen los estadísticos descriptivos, tanto de tendencia central (media) como de dispersión (desviación típica, error típico y coeficiente de variación), valorándose fundamentalmente la desviación típica para, en función de ella, estimar un intervalo de confianza respecto a la presunción de paternidad. Estos tratamientos se hacen globalmente con la totalidad de la base muestral, así como parcialmente para cada nivel de los factores considerados.

Posteriormente, usando el procedimiento Glm del S.A.S. se resuelven los siguientes modelos de ANOVAS, con sus correspondientes tests de medias a posteriori (Scheffe):

1.- ANOVAS MULTIFACTORIALES DE EFECTOS FIJOS.

Un vez conocidos los estadísticos descriptivos de la duración de gestación para cada uno de los condicionantes tenidos en cuenta, pasamos en una segunda fase a realizar un análisis de la varianza multifactorial de efectos fijos, para determinar la significación que la influencia de diversos factores genéticos y no genéticos (Tabla 10), pudieran tener sobre la variable estudiada.

1.a.- El primer modelo planteado incluyó como efectos puros los siguientes:

Tabla 10. Niveles de ANOVA multifactorial de efecto fijo.

Raza (Tres niveles)	Año de cubrición (Cuatro niveles).	Mes de cubrición (Cinco niveles).
Tinerfeño	1992	Junio
Palmero	1993	Julio
Majorero.	1994	Agosto
	1995	Septiembre
		Octubre

Tamaño de la camada (cinco niveles)	Edad de la cabra (años) (cinco niveles)
Simple	Menos de tres
Doble	Tres
Triple	Cuatro
Cuádruple	Cinco
Quíntuple	Más de cinco

El modelo queda configurado según la siguiente expresión:

$$Y_{ijklmn} = \mu + R_i + A_j + M_k + T_l + E_m + a_{ijklm}$$

1.b.- El segundo modelo planteado incluyó los mismo efectos que el anterior pero además se tuvieron en cuenta la interacción mes de cubrición/año de cubrición y la interacción triple mes/año/tamaño camada.

Las decisiones para la construcción de estos modelos se tomaron en función del efecto fisiológico razonable que los factores considerados pudieran ejercer sobre la variable. Así posibles diferencias genéticas entre tipos étnicos eran previsible, al igual que los efectos lumínicos del fotoperiodo del mes y las condiciones climatológicas de éste y del año. Del mismo modo era previsible que la duración de la gestación se viese afectada por el efecto de la repleción uterina, con el consiguiente estrés fetal, que tiene lugar en los partos múltiples También parecía lógico que la edad de la cabra, en cuanto a que está estrictamente relacionada con el número de partos, actuara significativamente sobre la variable estudiada.

La interacción entre el mes y el año de cubrición nos pareció interesante a priori, debido a las previsibles oscilaciones interanuales de las características de los meses tenidos en cuenta. La triple interacción de estos dos factores con el tamaño de la camada fue incluida debido a la sospecha de alguna influencia sobre las tasas ovulatorias por parte de las variaciones ambientales interanuales, e intermensuales.

Por todo ello el segundo modelo quedó configurado definitivamente de acuerdo a la función matemática siguiente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + R_i + A_j + M_k + (A * M)_{jk} + T_l + (A * M * T)_{jkl} + E_m + \epsilon_{ijklmn},$$

siendo

Y_{ijklmn} = duración de la gestación de una cabra perteneciente a la raza_i, que parió en el año_j y mes_k a la edad_m

μ = duración media de la gestación en la población

R_i = efecto fijo del tipo racial

A_j = efecto fijo del año de parto

M_k = efecto fijo del mes de parto

$(A * M)_{jk}$ = efecto fijo de la interacción año/mes de parto

T_l = efecto del tamaño de la camada

$(A * M * T)_{jkl}$ = Efecto de la interacción año/mes/tamaño de la camada

E_m = efecto fijo de la edad

ϵ_{ijklmn} = desviación de la media por factores incontrolados, el azar y errores de medida

Una vez determinada la significación estadística de los efectos de los factores estudiados se procedió a realizar tests de homogeneidad de medias a posteriori, concretamente los tests de Scheffe para localizar grupos de homogeneidad dentro de aquellos factores que resultaron significativos.

Finalmente dentro de este punto se plantearon, para aquellos efectos significativos unos análisis de la varianza simples, con vistas a utilizar el valor del coeficiente determinativo como un estimador del porcentaje de la varianza explicada por el modelo, en este caso los efectos individuales de cada factor.

2.- ANOVAS SIMPLES PARA CADA FACTOR DE VARIACIÓN CONSIDERADO.

Los factores de variación son:

- ✓ Tipo racial.
- ✓ Mes de cubrición
- ✓ Año de cubrición.

cuya formula genérica es

$$Y_{ij} = \mu + X_i + \epsilon_{ij}$$

siendo

Y_{ij} = duración de la gestación de un animal perteneciente al nivel i del factor X

μ = media de la duración de la gestación en la población

X_i = efecto fijo del factor

ϵ_{ij} = desviación de la media por factores incontrolados, azar y errores de medida

Complementariamente atendiendo a la codificación de los partos en función de los sexos de la descendencia se realizó un análisis de la varianza simple entre los trece niveles constituidos por el factor código hijos. Estos niveles fueron los reflejados en la Tabla 11.

Tabla 11. Niveles de variación en función del código hijos

Nivel	Machos	Hembras
1	0	1
2	1	0
3	2	2
4	1	1
5	2	0
6	0	2
7	1	2
8	3	0
9	2	1
10	0	3
11	1	3
12	0	5
13	3	1

Con esta aplicación tratábamos de determinar posibles influencias de las hormonas fetoplacentarias sobre la duración de gestación.

3.2. Cálculo de los intervalos de confianza.

A partir de la desviación típica obtenida calculamos los intervalos de confianza para un 95% y para un 99% de fiabilidad.

El valor de los intervalos de confianza se obtuvieron de acuerdo a la fórmula siguiente, teniendo en cuenta la estructura de los datos:

$$\text{Intervalo de confianza} = X \pm t_{(1-\alpha/2)}^{n-1} \cdot \text{Error típico de la media}$$

donde

X = media entre la duración de gestación obtenida para los distintos criterios.

$T(1-\alpha/2)^{n-1}$ = valor obtenido de la distribución “t” de Student, en función de la probabilidad de error tipo (α) establecido.

$n - 1$ = tamaño de la muestra menos un grado de libertad.

El error típico de la media = δ /raiz de n

donde

δ = desviación típica muestral

Raiz n = raíz cuadrada del tamaño muestral

3.3. Estructura de las distintas pautas de manejo reproductivo.

Este capítulo consta de dos apartados cronológicamente separados, el primero de ellos se estructuró como parte de la estrategia global inicial y el segundo surge como fruto de ciertos interrogantes que quedaron sin respuesta después de analizar los resultados previos.

3.3.1. Pautas propuestas para valorar la fertilidad y la secuencia de partos en lotes de hembras donde se ha utilizado el efecto macho.

En este apartado se pretende hacer una aproximación a cómo las pautas de manejo reproductivo, en monta natural, influyen en ciertos factores de máximo interés productivo para el ganadero, tales como índices de fertilidad, efecto macho y secuencia de partos, vinculando esto con las relaciones entre el número de machos y el número de hembras, el tiempo que permanece el macho con las hembras y con los intervalos entre la retirada de un macho y la inclusión de otro, de forma que no corramos el riesgo de proponer pautas de manejo que teóricamente garanticen la paternidad pero que como contrapartida aporten bajos niveles de fertilidad o alarguen excesivamente la época de paridera. En este caso los machos y las hembras han estado separados durante al menos tres meses antes de la época de cubrición. El hacer efecto macho en principio apunta a que nos permitiría obtener una mejor discriminación de la paternidad ya que, al menos teóricamente, provocará una

acumulación de partos al inicio de la paridera y ampliará, por tanto, el intervalo de confianza en la secuencia de partos.

3.3.1.1. Material animal.

Se trabajó con 159 cabras divididas en diez grupos de los tres tipos raciales, ubicadas en las instalaciones del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias de la finca de Pico Bermejo en el municipio de Valle Guerra en la isla de Tenerife a las que se les sometieron a las pautas de manejo que se pasan a relacionar (Tabla 12, Tabla 13)

Tabla 12. Manejo reproductivo con alternancia de machos.

Lote	Número de Hembras	Días estancia macho 1	Intervalo entre machos	Días estancia macho 2	Total días machos
A	21 Mj	20	10	21	42
B	17 Tf	20	10	21	42
C	15 PI	20	10	21	42
D	13 Tf	7	7	21	28
E	12 Tf	7	7	21	28
F	12 Tf	7	7	21	28
G	10 Tf	7	7	21	28

Nota:

Mj: Tipo racial majorera.

Tf: Tipo racial tinerfeña.

PI: Tipo racial palmera.

Tabla 13. Manejo reproductivo usando un solo macho.

Lote	Número de hembras	Días estancia del macho
H	14 PI	21
I	27Mj	64
J	18 PI	29

De cada hembra, en cada lote, se han registrado, además, los días concretos de cubrición mediante observación directa y posteriormente las fechas de parto valorándose especialmente el orden y la secuencia temporal de los mismos.

3.3.1.2. Procesamiento de los datos.

Los datos de estos grupos de animales se han ordenado y se han informatizado usando la base de datos Microsoft Access, procesándose y haciéndose posteriormente el tratamiento estadístico mediante la hoja de cálculo Microsoft Excell y el Microsoft Statistics respectivamente.

Nuestros planteamientos se centran pues, en tres puntos de referencia que se abordaron a su vez con una metodología estadística específica. El primero y el segundo fueron el estudio del comportamiento reproductivo de los lotes de hembras y de los machos respectivamente de acuerdo con las distintas pautas de apareamiento aplicadas, el tercero fue una comprobación del ajuste de la distribución de partos asignados a los distintos machos con respecto a las frecuencias teóricas esperadas.

3.3.1.2.1. Metodología estadística usada para el estudio de las pautas de manejo aplicadas a los lotes.

En primer lugar se calculan los estadísticos descriptivos de tendencia central y dispersión para la fertilidad de los distintos lotes.

El parámetro que sirve como punto de referencia para la evaluación de la efectividad de las pautas reproductivas fue el porcentaje de fertilidad. Para la definición del lote se tuvo en cuenta el número de hembras a disposición del/los machos, el código de manejo configurado a tenor de haber trabajado con uno o con dos machos y en este segundo caso, del tiempo de estancia del primer macho, tiempo de intervalo de confianza y tiempo de estancia del segundo macho.

Otro aspecto importante tenido en cuenta fue la comparación entre los niveles de fertilidad alcanzados por los códigos de manejo definidos en la Tabla 14.

Tabla 14. Código de manejo en los lotes experimentales

Código	Tiempo macho 1	Intervalo confianza	Tiempo macho 2
1	20 días	10 días	21 días
2	7 días	7 días	21 días
3	Sólo un macho durante distintos intervalos de tiempo		

Así mismo se valoran las diferencias entre los niveles de fertilidad entre los lotes en los que interviene un solo macho respecto a los que intervienen dos, al margen de los tiempos de estancia de cada macho y del número de hembras implicadas.

Para estas últimas valoraciones se plantean sendos ANOVAS simples que se ajustan a las siguientes ecuaciones matemáticas:

primer caso

$$Y_{ij} = \mu + \text{Cod}_i + a_{ij}$$

segundo caso

$$Y_{ij} = \mu + \text{Nm}_i + a_{ij}$$

donde

Y_{ij} = Nivel de fertilidad alcanzado en el subgrupo i del experimento.

μ = Media de la población .

Cod_i = Efecto fijo del código de manejo.

Nm_i = Efecto fijo del número de machos.

a_{ij} = Efecto residual.

A título descriptivo se han representado gráficas con los niveles de fertilidad media alcanzados en cada uno de los subgrupos de uno y otro análisis de la varianza.

También se realizan matrices de correlación entre fertilidad, número de hembras y tiempo de estancia del primer macho con las hembras y entre fertilidad, número de hembras y tiempo total de estancia de los machos del lote, todo ello con el objeto de conocer la forma y la intensidad de la relación entre las fertilidades y los efectos *a priori* importantes sobre la eficacia reproductiva de los machos.

3.3.1.2.2. Asociación de la distribución de las cubriciones observadas y las

esperadas teniendo en cuenta el efecto macho.

En este caso se hizo un recuento de las cubriciones asignadas a cada uno de los machos de acuerdo al siguiente planteamiento:

1. Hembras cubiertas en los seis primeros días de estancia del primer macho (efecto macho).
2. Hembras cubiertas en el resto de tiempo que esté el primer macho.
3. Hembras cubiertas por el segundo macho.

Estas asignaciones se hicieron mediante observación directa de las cubriciones y por la fecha de parto en función de los datos obtenidos del estudio de la duración de gestación.

Esta observación se contrasta con la siguiente distribución de cubriciones teóricamente esperadas (Chemineau, 1983)

1. 65% de hembras cubiertas durante los primeros seis días por el efecto macho.
2. 35% de hembras cubiertas en el resto de tiempo que está el primer macho.
3. 0% de hembras cubiertas por el segundo macho.

Se entiende que en esta distribución teórica la relaciones numéricas entre machos y hembras son holgadas, por lo que en principio todas las hembras podrían ser cubierta por el primer macho.

En este sentido se planteó una prueba χ^2 para comprobar el ajuste de las distribuciones de los partos, reales y esperadas, a nivel global y también por cada lote, asumiendo en todos los casos el efecto macho.

3.3.2. Modelo para la valoración de la fertilidad y la secuencia de partos sin la intervención del efecto macho.

En este apartado lo que se pretende es contrastar de que forma se comporta un número de hembras suficientemente grande en cuanto a fertilidad y posterior distribución de partos. Aquí hay que tener en cuenta que no habría habido efecto macho ya que las cabras y los sementales, aunque no han tenido contacto físico previo, han estado siempre alojados muy cerca por lo que el contacto olfatorio y auditivo continuo e intenso.

Se trabajó, durante dos años consecutivos con un solo lote de cabras del tipo tinerfeño, ubicado en la Escuela de Capataces Agrícolas de Tacoronte, en la isla de Tenerife, a las que se les sometió a la pauta de manejo que aparece reflejada en la Tabla 15. El primer año el rebaño contó con 50 hembras y el segundo año fueron 56 animales.

Tabla 15. Pauta de manejo reproductivo en el lote sin efecto macho.

Días estancia macho 1	Intervalo entre machos	Días estancia macho 2
21	7	21

Respecto al procesamiento de datos solamente se han tenido en cuenta la fertilidad total, la fertilidades parciales de cada macho y la secuencia de partos.

3.4. Marcadores microsatélites. Estudio del contenido de información polimórfica (PIC) y cálculo de la probabilidad de exclusión combinada (PEC). Metodología experimental.

Tal y como se expuso en los objetivos de este trabajo, a este nivel se plantea por un lado el estudio del contenido de información polimórfica (PIC) de los microsatélites seleccionados y por otro el cálculo de la probabilidad de exclusión combinada (PEC) de los mismos, en la A.C.C.,

3.4.1. Origen, recogida y conservación de las muestras.

Los animales usados en este trabajo son hembras adultas, machos adultos y crías de ambos sexos de los tres tipos étnicos procedentes de La Finca del Pico del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, estando garantizada la variabilidad genética de los animales ya que se trata de un rebaño heterogéneo compuesto por individuos procedentes de distintas granjas y zonas de las islas. En total se ha trabajado con 113 muestras de sangre, siendo 24 procedentes del tipo palmero, 17 del tipo majorero y 72 del tipo tinerfeño.

Como fuente de ADN se han usado células sanguíneas de la serie blanca. Para ello se le ha extraído aproximadamente 10 ml. de sangre a cada animal mediante punción en la vena yugular, recogiendo en tubos al vacío tipo Vacutainer™, con EDTA-k3 como anticoagulante. Cada muestra se ha identificado con el mismo número del crotal del animal donante. El transporte hasta el laboratorio se hace en nevera portátil, manteniéndose las muestras refrigeradas. Posteriormente se congelan a -20°C permaneciendo en depósito hasta su traslado al laboratorio de DNA de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba donde se pone a punto y se desarrolla la técnica. Este último traslado se hace en nevera portátil con bloques de nieve carbónica para mantener las muestras congeladas hasta su definitivo depósito.

3.4.2. Extracción del DNA.

Para la extracción del DNA se utiliza el protocolo propuesto por Kawasaki (1990) (Protocolo 1) para sangre completa, que es una simplificación, para PCR, de los protocolos de extracción al uso los cuales suelen buscar una purificación exhaustiva y una alta conservación de las cadenas de nucleótidos. Dado que, en principio, el grado de fragmentación del DNA no reviste importancia de cara a la amplificación de los microsatélites se busca una metodología simple, rápida y eficaz para este fin.

Protocolo 1. Extracción de DNA a partir de sangre entera.

Material:

TE 10x: Tris-Cl 10mM, EDTA 1mM, pH 7,5-8.

Tampón de PCR 10X: 500mM KCl, 100 mM Tris-HCl, (pH 9)

Tampón de digestión: 3 mg de proteinasa K, 5 ml de Tampón de PCR con 0,5% de Tween 20

Método:

1.-Previa descongelación de las muestras se pipetea 50µl de sangre entera en 500µl de TE.

2.- A continuación se procede a la separación, mediante lavado, de los leucocitos. Para ello se centrifuga por tres veces durante 10 segundos a 11.000 rpm. En cada centrifugación se retira el sobrenadante y se resuspende el manto leucocitario en 500µl de TE.

3.-Una vez concluido el lavado el sedimento se resuspende, agitando enérgicamente, en el tampón de digestión.

4.- Posteriormente se lleva a cabo la digestión durante 50 minutos a 55° C

5.- Por último se calienta hasta 95° C durante 10 minutos para conseguir la inactivación de la Proteinasa K y detener la digestión.

El producto que se obtiene mediante este protocolo se usa directamente en la reacción de amplificación, sin que se lleve a cabo ninguna purificación previa, así como, tampoco, una cuantificación del DNA extraído.

3.4.3. Amplificación de los microsatélites mediante la PCR.

Los marcadores microsatélites usados, así como las condiciones de la reacción de la PCR han sido las propuestas por Bragança y cols. (1999).

3.4.3.1. Microsatélites usados.

Los microsatélites se exponen en la Tabla 16, así como los fluorocromos con los que han sido marcados cada uno de ellos.

Se trabaja sobre la base propuesta por Bragança y cols. (1999), los cuales aportan una batería de marcadores microsatélites, basada en técnicas multiplex, que puede utilizarse en vaca, oveja y cabra para el control genealógico con un PEC *a priori* superior al 99,9%.

Tabla 16. Características de los microsatélites usados en tres reacciones multiplex.

Marcador	Fluorocromo	Cebadores: directo y reverso	Pares de bases	Referencia
BM8125	HEX	CTCTATCTGTGGAAAAGGTGGG GGGGTTAGACTTCAACATACG	100 – 127	Bishop <i>et al.</i> 1994
CSSM031	HEX	CCAAGTTTAGTACTTGTAAAGTAGA GACTCTCTAGCACTTTATCTGTGT	128 – 173	Moore <i>at al.</i> 1994
ILST005	HEX	GGAAGCAATGAAATCTATAGCC TGTTCTGTGAGTTTGTAAGC	175 – 190	Brezinsky <i>et al.</i> 1993
BM1818	HEX	AGCTGGGAATATAACCTCAGTC AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	240 – 270	Bishop <i>et al.</i> 1994
INRA006	TET	AGGAATATCTGTATCAACCTCAGTC TGAGCTGGGTGGGAGCTATAAATA	105 – 128	Vaiman <i>et al.</i> 1992
CSSM066	TET	ACCAAATCCTTTCTGCCAGCTGA AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG	175 – 255	Moore <i>et al.</i> 1995
ILST011	TET	GCTTGCTACATGGAAAGTGC CTAAAATGCAGAGCCCTACC	265 - 285	Brezinsky <i>et al.</i> 1993
McM53	FAM	GGAGTTGTAGAGTCAGATGA GACAAAGGTGATGTCAGGTGT	75 – 105	Smith <i>et al.</i> 1995
RM006	FAM	CTACAATATCTGGTCACTGGA GATCACCATATTTATGAGATGG	106 – 140	Kossarek <i>et al.</i> 1993
BM6526	FAM	CATGCCAAACAATATCCSGC TGAAGGTAGAGAGCAAGCAGC	145 – 190	Bishop <i>et al.</i> 1994

3.4.3.2. Condiciones de la PCR.

Se ha trabajado con grupos de microsatélites que requieren similares condiciones para su amplificación de forma que se pueden diseñar reacciones conjuntas (multiplex), consiguiéndose así analizar a la vez distintos *loci*, con lo

que esto implica de optimización tanto a nivel de manipulación como de eficacia. en cuanto a sus capacidades de exclusión.

Se han llevado a cabo tres reacciones multiplex (M1, M2 y M3) (Protocolo 2), siendo la base metodológica igual para las tres.

Protocolo 2. Preparación de la reacción de PCR.

Material:

- Agua ultrapura
- Tampón de PCR (protocolo 1)
- Cebadores directos e inversos (100µM)
- Cl₂Mg (25mM)
- Taq DNA polimerasa (5U/µl) (Promega^R)
- Desoxinucleótidos dATP,dGTP,dTTP,dCTP (25mM)
- DNA extraído según el Protocolo 1
- Aceite mineral

Método:

- Se realiza una reacción de amplificación multiplex
- Mezclar los cebadores de cada reacción en las siguientes soluciones madre:

Solución madre M1.

Cebador	Fluorocromo	Concentración cebador (µM)
BM8125	HEX	0,225
CSSM31	HEX	0,225
ILSTS005	HEX	0,115
BM1818	HEX	0,275

Solución madre M2

Cebador	Fluorocromo	Concentración Cebador (µM)
INRA6	TET	0,225
CSSM66	TET	0,225
ILSTS11	TET	0.225

Solución madre M3.

Cebador	Fluorocromo	Concentración cebador (µM)
McM53	FAM	0,225
RM006	FAM	0,225
BM6526	FAM	0,225

- Diluir el total de la muestra extraída en 100µl de agua
- Mezclar en microtubos 5µl de muestra con 10µl de cada solución madre de cebadores para cada reacción
- Cubrir con 50µl de aceite mineral y calentar a 95°C durante 10 minutos (“hot-start”) para desnaturalizar el DNA y favorecer el acoplamiento de los cebadores antes del inicio de la reacción de amplificación
- Preparar una segunda solución madre con agua, tampón de PCR 10X, desoxinucleótidos (25mM), Cl₂Mg (25mM) y Taq polimerasa (5U/µl), de la cual se añaden 10 µl en los microtubos de forma que las cantidades finales sean las siguientes:

Agua.....	5µl
Tampón PCR 10X.....	2,5µl
Desoxinucleótidos (25mM.c/u).....	0,2µl
Cl ₂ Mg (25mM).....	2,5µl
Taq polimerasa (5U/µl)	0,2µl

Volumen total final de la reacción25µl

Una vez completada la preparación del cóctel para la PCR se procede al termociclado para la amplificación de los microsátélites, para ello se usa un termociclador MJ Research^R y se aplica el siguiente programa de 30 ciclos:

- Desnaturalización.....30” (95° C)
- Acoplamiento.....45” (ver tabla 17)
- Elongación.....30” (72° C)

Las condiciones específicas para cada reacción multiplex se exponen en la Tabla 17.

Tabla 17. Condiciones de amplificación específicas para cada marcador.

Reacción multiplex	Microsatélite	T° acoplamiento
M1	BM8125	58°C
	CSSM031	58°
	ILSTS005	58°
	BM1818	58°
M2	INRA6	60°
	CSSM66	60°
	ILSTS11	60°
M3	McM53	60°
	RM006	60°
	BM6526	60°

3.4.4. Detección del producto de la amplificación en geles de acrilamida, usando fluorocromos y secuenciador automático.

Para detectar y tipificar el polimorfismo se procede a realizar una electroforesis en geles de acrilamida adecuando el material para su utilización en el secuenciador.

3.4.5. Elaboración del gel.

Se procede a elaborar un gel de poliacrilamida al 6% con urea 7M de acuerdo al Protocolo 3.

Protocolo 3. Elaboración de un gel de poliacrilamida para su utilización en secuenciador automático.

Material:

Cristales de 28 x 20

Urea

Agua destilada

TBE 5X: Tris 0,45M, ácido bórico 0,45M, EDTA 10 mM, pH 7,5-7,8.

Solución de acrilamida al 40%, acrilamida/bisacrilamida 19/1 (Applichem®)

Persulfato amónico al 10% p/v.

Temed

Método:

Lavar adecuadamente los cristales con agua y detergente, enjuagar posteriormente hasta eliminar todos los restos de detergente, secar sin dejar restos

Montar los cristales con separadores de 0,5 mm

Preparar el gel de acrilamida con 10 ml de agua destilada, 16,8 gr de urea y 8 ml de TBE 5X.

Añadir, una vez disuelta la urea, 6 ml de la solución de acrilamida

Enrasar con agua destilada hasta 40 ml

Añadir 300 µl de Persulfato amónico y 20 µl de Temed

Verter inmediatamente el gel evitando la formación de burbujas y colocar en la parte superior un peine como molde de los pocillos donde irán los productos de las reacciones de PCR.

El gel se deja a temperatura ambiente hasta su completa polimerización

3.4.6. Electroforesis vertical en secuenciador automático.

En este caso se trabaja con un secuenciador ABI Prism 373 de Perkin Elmer.

El primer paso es preparar la mezcla que va ser colocada en los pocillos del gel, según el Protocolo 4.

Protocolo 4. Preparación de la mezcla para electroforesis vertical en secuenciador automático.

Material:

Producto de las PCRs

Formamida desionizada al 10% con resina (AG 501-X8(d))

Tampón de carga: formamida desionizada, azul dextrano, Patrón 350 –TAMRA

Método:

Mezclar en un microtubo el contenido de las tres reacciones “multiplex” de cada muestra en proporción 2:1:1, siendo el doble en el caso del correspondiente al color amarillo(M1-HEX) para facilitar su visualización las cantidades que se mezclan son 20 μ l:10 μ l:10 μ l

Añadir a cada mezcla 20 μ l de formamida desionizada

Colocar en microtubos aparte 4 μ l de tampón de carga

Coger 1,5 μ l de la mezcla de PCR+formamida y añadirlo en los microtubos con el tampón de carga.

Antes de proceder a la carga de la mezcla en los pocillos del gel los microtubos se calientan a 95°C para garantizar la desnaturalización de las cadenas de nucleótidos, así mismo se lavan los cristales con el gel para eliminar los posibles restos del polimerizado o cualquier impureza que alterara los resultados.

Para la electroforesis se coloca el gel, con ambos cristales, verticalmente en el lugar concreto que a tal efecto dispone el secuenciador, rellenándose los tanques superior e inferior con tampón TBE 5X, lavándose los pocillos con este mismo tampón, con el objeto de eliminar los posibles restos de urea y acrilamida o detergente, del lavado, que pudiesen quedar.

Para la carga de los pocillos se recurre a pipetas capilares, colocándose 3,5 μ l de la mezcla en cada uno de ellos.

La potencia de la corriente eléctrica se programa a 30W ajustándose automáticamente el voltaje y el miliamperaje.

La duración de la electroforesis para los microsatélites estudiados está alrededor de las dos horas y media.

3.4.6.1. Detección y tipificación de los microsatélites

A efectos de visualización de los microsatélites se utiliza el programa GeneScan™ Analysis que procesa los datos recogidos por el secuenciador ABI Prism™ 373 para medir y cuantificar los fragmentos de DNA, ofreciéndonos una imagen virtual de los mismos, una tabla de datos con información cuantitativa o una combinación de ambos.

La técnica se fundamenta en la utilización de marcadores fluorescentes de distintos colores (fluorocromos) para marcar los fragmentos problema de DNA y otro marcador de otro color distinto para marcar unos fragmentos estándar de tamaño que sirven como referencia. El marcado se ha hecho en el extremo 5' de los cebadores. Estos marcadores son excitados por un láser que produce el propio secuenciador, emitiendo posteriormente fluorescencia dentro de un rango concreto de longitud de onda. En función del tiempo que el secuenciador está detectando, durante la electroforesis, el paso de los fragmentos estándar, el ordenador genera una curva mediante un análisis de regresión entre tiempo de paso y longitud del fragmento. Esta curva es la referencia para determinar con precisión la longitud de los fragmentos problema, en función del tiempo de paso de los mismos.

Este sistema nos evita trabajar con los marcadores radiactivos tradicionales, así como los problemas habituales de manejo post electroforesis de los geles. La principal limitación del sistema es la de disponer de la infraestructura necesaria, con el costo económico que esto implica.

Los marcadores usados han sido:

- ✓ HEX: (4,7,2',4',5',7'- Hexacloro-6-carboxifluoresceína).
Longitud de onda de máxima absorción 537 nm.
Longitud de onda de máxima emisión 556nm.

- ✓ TET: (4,7,2',7'- Tetracloro-6-carboxifluoresceína).
Longitud de onda de máxima absorción 519 nm.
Longitud de ond de máxima emisión 539 nm.

- ✓ 6-FAM: (6-Carboxifluoresceína).
Longitud de onda de máxima absorción 495 nm.
Longitud de onda de máxima emisión 521 nm.

El patrón de tamaño estándar usado ha sido el GeneScan-350 que es el adecuado para medir fragmentos entre 35 y 350 pares de bases (Tabla 18) marcado a su vez con TAMRA (N,N,N',N'- tetrametil-6-carboxirodamina).

Tabla 18. Pares de bases de los fragmentos de GeneScan-350.

350	200	100
340	160	75
300	150	50
250	139	35

El marcado de los cebadores de cada grupo multiplex con distintos colores permite evitar el solapamiento de microsatélites, entre grupos cuyos alelos presenten tamaños cercanos.

Para el procesamiento de los datos se usa el Genotyper® 2.0 que permite identificar los microsatélites con etiquetas, reflejarlos gráficamente como picos marcando el número de pares de bases de los alelos, generar estadísticas e histogramas que caracterizan los picos y crear tablas que correlacionen los picos con la información de los marcadores para aplicaciones específicas.

3.4.7. Metodología estadística para el tratamiento de los resultados.

El primer paso a seguir es establecer las frecuencias alélicas, ya que a partir de ellas se van a determinar los otros parámetros de interés.

3.4.7.1. Cálculo de las frecuencias alélicas.

El cálculo de estas frecuencias se hace mediante el recuento directo del número de veces que se detecta cada variante alélica en un locus concreto, en los distintos individuos de la base muestral, referenciándolo posteriormente al total de alelos detectados.

3.4.7.2. Determinación del contenido de información polimórfica (PIC).

Para el cálculo del PIC se usa la fórmula propuesta por Bolstein y cols., (1980)

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2 p_i^2 p_j^2$$

Siendo

n = número total de alelos del locus investigado

p_i = frecuencia del alelo i

p_j = frecuencia del alelo j

3.4.7.3. Determinación de la probabilidad de exclusión.

Para calcular la probabilidad de exclusión por locus se usa la formula desarrollada por Jamieson (1994).

$$PE = \sum_i p_i - 2 \sum_i p_i^2 + \sum_i p_i^3 + 2 \sum_i p_i^4 - 3 \sum_i p_i^5 - 2 \left(\sum_i p_i^2 \right)^2 + 3 \sum_i p_i^2 \sum_i p_i^3$$

Siendo p_i las frecuencias para n alelos.

Dado que se trabaja con una batería de microsatélites, es fundamental conocer la probabilidad de exclusión que nos aporta la información combinada de ellos, para ello se usa la siguiente expresión

$$PEC = 1 - \prod_n (1 - PE_n)$$

3.5. Diseño de un modelo piloto para la comprobación de la eficacia en las asignaciones.

En este apartado, tal y como se plantea en los objetivos, se estructura un lote de animales sometiénndosele a unas pautas de manejo concretas, en función de los primeros resultados de duración de gestación y sus límites de confianza, así como del estudio de las pautas de manejo reproductivo y sus correlaciones con los porcentajes de fertilidad y las secuencias de cubriciones y partos.

Una vez que ha nacido la descendencia de este lote de animales se hace una estimación apriorística en las asignaciones de paternidad, basándonos en las

fechas de parto.

Posteriormente se hace una verificación de las estimaciones mediante la utilización de los marcadores microsatélites descritos.

3.5.1. Material animal.

Se trabaja con un lote de 14 hembras del tipo racial Palmero, dos machos del mismo tipo racial y su descendencia. Todos ellos pertenecientes al Instituto Canario de Investigaciones Agrarias .

3.5.2. Metodología experimental.

La pauta de manejo reproductivo que se sigue en este caso (Tabla 19) es igual a las observadas en los grupos 13Tf, 12Tf, 12Tf6,10Tf (Tabla 12).

Tabla 19. Manejo reproductivo del modelo piloto.

Nº de hembras	Días estancia macho 1	Intervalo	Días estancia macho2	Total días
14	7	10	21	38

En este caso se anota mediante observación directa las fechas de parto. En función de éstas se hace la estimación de paternidad entre los dos machos posibles.

La metodología laboratorial para la comprobación de las asignaciones de paternidad mediante marcadores microsatélites ha sido igual a la seguida para la determinación del PIC y del PEC , en lo que a pasos previos se refiere.

La asignación de paternidades se ha hecho de forma directa mediante confrontación, en una tabla emitida por el Genotiper® 2.0, de los alelos maternos, filiales y de los posibles padres.

4. RESULTADOS.

4.1. Análisis de la duración de la gestación en la Agrupación Caprina Canaria.

Este apartado se desglosa en tres partes, de forma que sólo tendremos en cuenta los análisis que aporten resultados que permitan su utilización posterior, en las propuestas de pautas de manejo reproductivo.

4.1.1. Estadísticos descriptivos

A continuación, se exponen los resultados obtenidos respecto a los principales estadísticos descriptivos, haciéndose referencia a la totalidad de los animales muestreados (Tabla 20) , así como parcialmente a los grupos configurados en función de los distintos niveles de los factores analizados (Tabla 21).

Tabla 20. Estadísticos descriptivos para la totalidad de población muestreada

Número	Media	Máximo	Mínimo	STD	STDERR	CV
254	149,92	163	141	4,06	0,26	2,71

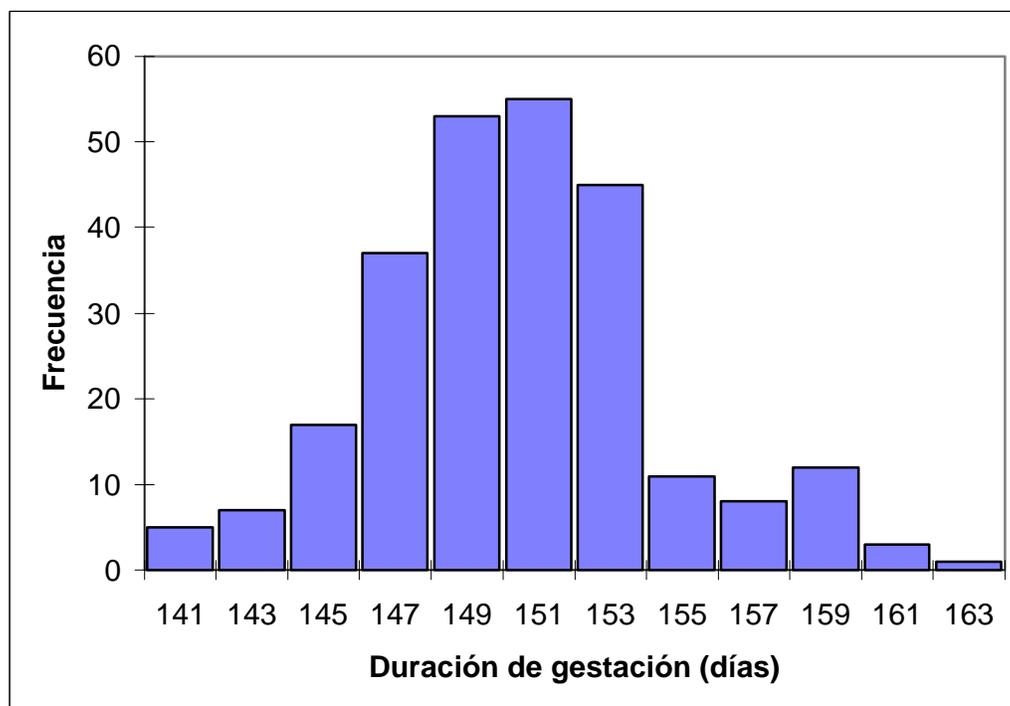
Tabla 21. Estadísticos descriptivos por niveles para los factores analizados.

Nivel	Número	Media	Máximo	Mínimo	STD	STDERR	CV
Tipo racial							
Tf	161	149,40	161	141	4,05	0,32	2,71
Mj	53	150,13	163	142	4,42	0,61	2,94
PI	38	151,82	158	147	2,95	0,48	1,94
Mes de cubrición							
Junio	49	149,33	159	142	3,67	0,52	2,46
Julio	41	152,12	163	146	3,96	0,62	2,61
Agosto	50	151,88	161	142	3,71	0,52	2,44
Sept.	110	148,40	159	141	3,57	0,34	2,40
Octubre	2	153,50	161	146	10,61	7,50	6,91
Año de cubrición							
1992	29	151,62	161	147	3,10	0,58	2,04
1993	64	150,44	161	141	4,16	0,52	2,76
1994	87	149,71	163	142	3,58	0,38	2,32

Nivel	Número	Media	Máximo	Mínimo	STD	STDERR	CV
1995	72	149,01	159	141	4,62	0,54	3,10
Tamaño de la camada							
Una	48	151,46	163	144	3,52	0,51	2,32
Dos	145	149,88	161	141	3,98	0,33	2,65
Tres	53	148,85	161	141	4,45	0,61	2,99
Cuatro	5	148,00	153	144	3,54	1,58	2,39
Cinco	1	147,00	147	147			
Código hijos							
0M-1H	24	152,17	163	147	3,84	0,78	2,52
0M-2H	40	149,85	161	142	3,96	0,63	2,65
0M-3H	8	147,12	155	141	4,79	1,69	3,26
0M-5H	1	147,00	147	147			
1M-0H	24	150,75	156	144	3,08	0,63	2,04
1M-1H	71	149,92	158	142	3,66	0,43	2,44
1M-2H	22	149,77	161	141	5,55	1,18	3,70
1M-3H	2	147,00	150	144	4,24	3,00	2,89
2M-0H	34	149,85	159	141	4,69	0,80	3,13
2M-1H	19	148,53	152	142	2,89	0,66	1,95
2M-2H	2	150,00	153	147	4,24	3,00	2,83
3M-0H	4	148,75	152	145	2,99	1,49	2,01
3M-1H	1	146,00	146	146			
Edad-número de partos							
< Tres	75	150,37	161	141	3,98	0,46	2,65
Tres	66	149,18	158	142	2,86	0,35	1,91
Cuatro	54	149,22	159	141	5,03	0,69	3,37
Cinco	28	150,14	163	144	3,83	0,72	2,55
> Cinco	29	151,48	158	142	4,42	0,82	2,92

En el Gráfico 1 puede observarse la evidente normalidad de la distribución de frecuencias de las duraciones de gestación, con máxima frecuencia en torno a la media y disminuciones progresivas hacia los extremos.

Gráfico 1. Histograma de frecuencias para la variable duración de gestación en la totalidad de la muestra



4.1.2. Factores de variación.

En base a los ANOVAS simples y multifactoriales desarrollados se aportan los resultados que nos permiten valorar los niveles de significación de cada uno de los factores de variación.

4.1.2.1. Anovas multifactoriales.

De los modelos de Anova múltiple que se han planteado el modelo con interacciones dobles, entre mes de cubrición y año de cubrición, y triples, entre mes de cubrición, año de cubrición y tipo de parto (modelo 1.b.), y el modelo sin interacciones que considera como factores de variación el tipo racial, el año de cubrición, el mes de cubrición, el tipo de parto, el sexo de las crías y la edad de las madres (modelo 1.a.) hemos elegido para su análisis el primero (Tabla 22) ya que nos explica el 42,5 % de la varianza ($R^2 = 0,425293$), frente al segundo que sólo nos explica el 27,5% ($R^2 = 0,275270$).

Tabla 22. Prueba a posteriori de Scheffe. Modelo de ANOVA multifactorial con interacciones doble y triple.

Fuente de variación	Grados de libertad	Valor de F	Pr>F	Significación
Tipo racial	2	7,77	0,0006	***
Año cubrición	3	5,12	0,0019	**
Mes cubrición	4	13,15	0,0001	***
MC*AC	7	1,60	0,1364	N.S.
Tipo Parto	4	1,98	0,0993	N.S.
MC*AC*TP	25	1,67	0,0281	*
Código edad	4	1,25	0.2911	N.S.

Nota:

MC*AC= Interacción entre mes de cubrición y año de cubrición.

MC*C*TP= Interacción entre mes de cubrición, año de cubrición y tipo de parto.

*= Nivel de significación de más de un 95%.

**= Nivel de significación de más de un 99%.

***= Nivel de significación de más de un 99,9%.

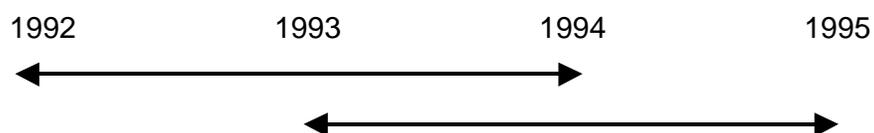
A partir de estos datos se pueden definir los grupos de homogeneidad de medias que, para los factores de variación individuales, quedarían representados según el siguiente esquema (Esquema 1):

Esquema 1. Grupos de homogeneidad de medias

Tipo racial.



Año de cubrición



Mes de cubrición**4.1.2.2. Anovas simples.**

En cuanto a los análisis de varianza simples a continuación se exponen los coeficientes determinativo de aquellos factores que han resultado significativos en el modelo multifactorial (Tabla 23), así como del factor código hijos que nos relaciona el número de crías con el sexo de las mismas (Tabla 24).

Tabla 23. Coeficientes determinativos de los distintos factores de variación significativos.

Factor de variación	Coefficiente determinativo
Mes de cubrición	0.1682
Tipo racial	0,0441
Año de cubrición	0,0408

Tabla 24. Coeficiente determinativo para el factor código hijos.

Facto de variación	Coefficiente determinativo
Código hijos	0,0692

4.1.3. Intervalos de confianza.

En este apartado valoramos los límites de confianza de la duración de gestación, tanto para la media global de la base muestral (Tabla 25), como para las medias parciales de aquellos factores que más inciden en su varianza y que pueden tener aplicación en la determinación de los intervalos de confianza (Tabla 26 y Tabla 27). En ambos casos con unos niveles de fiabilidad del 95 y 99%.

Tabla 25. Límites de confianza para la duración de gestación.

Tipo de media	Valor de la media	Límite 95%	Límite 99%
Global	149,92	141,97-157,87	139,57-160,27

Tabla 26. Límites de confianza para la duración de gestación, valorando el tipo racial. Medias parciales.

Tipo racial	Valor de la media	Límite 95%	Límite 99%
Palmera	151,82	146,04-157,60	144,30-159,34
Majorera	150,13	141,47-158,79	138,86-161,40
Tinerfeña	149,40	141,47-157,30	139,08-159,72

Tabla 27. Límites de confianza para la duración de gestación, valorando el mes de cubrición. Medias parciales

Mes de cubrición	Valor de la media	Límite 95%	Límite 99%
Junio	152,12	144,36-159,88	141,14-162,21
Agosto	151,88	144,61-159,15	142,39-161,34
Junio	149,33	142,19-156,52	139,98-158,68
Septiembre	148,40	141,41-155,39	139,30-157,50

4.2. Pautas de manejo reproductivo.

Los resultados que aquí se exponen corresponden a la distribución de partos a lo largo del tiempo en función de cada uno de los manejos reproductivos y al tratamiento estadístico realizado a partir de tres bases de datos configuradas en función de sendos enfoques, pretendiéndose aportar una visión pormenorizada de cómo las distintas pautas de cubrición a las que se someten a los animales afectan a la función reproductiva y cómo repercuten en la fertilidad de las hembras.

4.2.1. Distribución de los partos de cada lote de hembras a lo largo del tiempo.

En estas tablas (Tabla 28, Tabla 29, Tabla 30, Tabla 31, Tabla 32, Tabla 33, Tabla 34, Tabla 35, Tabla 36 y Tabla 37) aparece reflejado el manejo a que ha

sido sometido cada lote de hembras, reseñándose las fechas de introducción y retirada de los machos, los intervalos de alternancia entre machos y las secuencias de partos obtenidas, quedando reflejado en negrita las fechas entre las que teóricamente se produce la discriminación entre machos en base al intervalo de confianza, en el caso de pautas de manejo con dos machos.

Tabla 28. Pauta de manejo y distribución de partos Lote A. 21 hembras.

Introducción del 1º macho: 8/6/96.
Retirada del 1º macho: 28/6/96.

Intervalo: 10 días

Introducción del 2º macho: 10/7/96.
Retirada del 2º macho: 27/7/96.

Fecha de parto	Número de partos
6/11/96	1
7/11/96	1
9/11/96	3
11/11/96	2
12/11/96	4
15/11/96	2
1/12/96	1
19/12/96	1

Nota: abortos 3
bajas 1
vacías 2

Tabla 29. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote B. 17 hembras.

Introducción del 1º macho: 4/7/96.
Retirada del 1º macho: 24/7/96.

Intervalo: 10 días.

Introducción del 2º macho: 3/8/96.
Retirada del 2º macho: 24/8/96.

Fecha de parto	Número de partos
1/12/96	2
2/12/96	1
3/12/96	2
4/12/96	1
5/12/96	2
6/12/96	3
8/12/96	1
11/1/97	1
13/1/97	1

Nota: bajas 3

Tabla 30. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote C. 15 hembras.

Introducción del 1º macho: 4/7/96.

Retirada del 1º macho: 24/7/96.

Intervalo: 10 días.

Introducción del 2º macho: 3/8/96.

Retirada del 2º macho: 24/8/96.

Fecha de parto	Número de partos
3/12/96	2
6/12/96	4
7/12/96	1
8/12/96	2
10/12/96	1
11/12/96	2
13/12/96	1
5/1/97	1

Nota: bajas 1

Estos tres primeros lotes, A, B y C han tenido la misma pauta de manejo, de forma que las hembras han estado 20 días con el primer macho y 21 con el segundo, siendo el intervalo entre ambos de 10 días. En la Gráfico 2 aparece reflejada cual ha sido el comportamiento conjunto de la distribución de partos

de los tres lotes, lo cual nos da una imagen clara respecto a que partos se podrían atribuir a las cubriciones del primer macho, cuales al segundo, así como cual es el reflejo del intervalo de confianza en la secuencia de partos.

Gráfico 2. Distribución secuencial de partos en función del manejo 20 – 10 – 21.

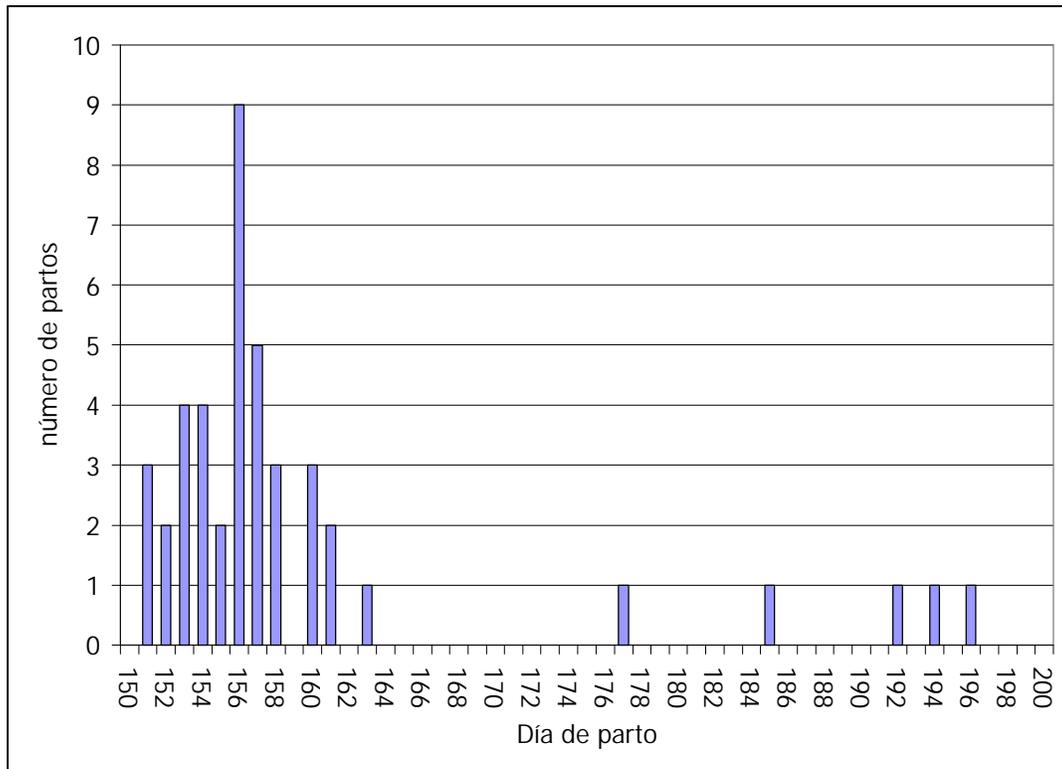


Tabla 31. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote D. 13 hembras.

Introducción del 1º macho: 28/8/96.

Retirada del 1º macho: 4/9/96.

Intervalo: 7 días

Introducción del 2º macho: 11/9/96.

Retirada del 2º macho: 1/10/96.

Fecha de parto	Número de partos
24/1/97	1
28/1/97	2
31/1/97	1
3/2/97	1
4/2/97	1
15/2/97	1
20/2/97	1
22/2/97	1
24/2/97	1

Nota: vacías 1
bajas 2

Tabla 32. Pauta de manejo y distribución de partos Lote E. 12 hembras

Introducción del 1º macho: 28/8/96.

Retirada del 1º macho: 4/9/96.

Intervalo: 7 días

Introducción del 2º macho: 11/9/96.

Retirada del 2º macho: 1/10/96.

Fecha de parto	Número de parto
23/1/97	2
24/1/97	1
26/1/97	1
30/1/97	1
13/2/97	1
15/2/97	1
20/2/97	1
24/2/97	1
26/2/97	1

Nota: vacías 2

Tabla 33. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote F. 12 hembras.

Introducción del 1º macho: 28/8/96.

Retirada del 1º macho: 4/9/96.

Intervalo: 7 días.

Introducción del 2º macho: 11/9/96.

Retirada del 2º macho: 1/10/96.

Fecha de parto	Número de partos
27/1/97	1
28/1/97	2
29/1/97	1
30/1/97	3
31/1/97	1
1/2/97	1
4/2/97	1
16/2/97	1

Nota: vacías 1

Tabla 34. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote G. 10 hembras.

Introducción del 1º macho: 28/8/96.

Retirada del 1º macho: 4/9/96.

Intervalo: 7 días.

Introducción del 2º macho: 11/9/96.

Retirada del 2º macho: 1/10/96.

Fecha de partos	Número de partos
23/1/97	2
24/1/97	1
26/1/97	2
28/1/97	1
4/2/97	1

13/11/97	2
14/11/97	1
4/12/97	1

Nota: vacías 1

El tiempo de estancia del macho en este lote de hembras fue de 21 días.

Tabla 36. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote I. 27 hembras.

Introducción del único macho 10/6/97.

Retirada del único macho 10/8/97.

Fecha de parto	Número de parto
5/11/97	2
7/11/97	2
8/11/97	2
11/11/97	1
13/11/97	2
15/11/97	3
13/12/97	1
19/12/97	1
24/12/97	1
26/12/97	1
27/12/97	1
2/1/98	1
3/1/98	1
5/1/98	1
6/1/98	1
10/1/918	1

Nota: vacías 5.

El tiempo de estancia del macho en este lote de hembras fue de 64 días.

Tabla 37. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote J. 18 hembras.

Introducción del único macho 1/6/97

Retirada del único macho. 30/6/97.

Fecha de parto	Número de partos
1/11/97	1
7/11/97	1
8/11/97	1

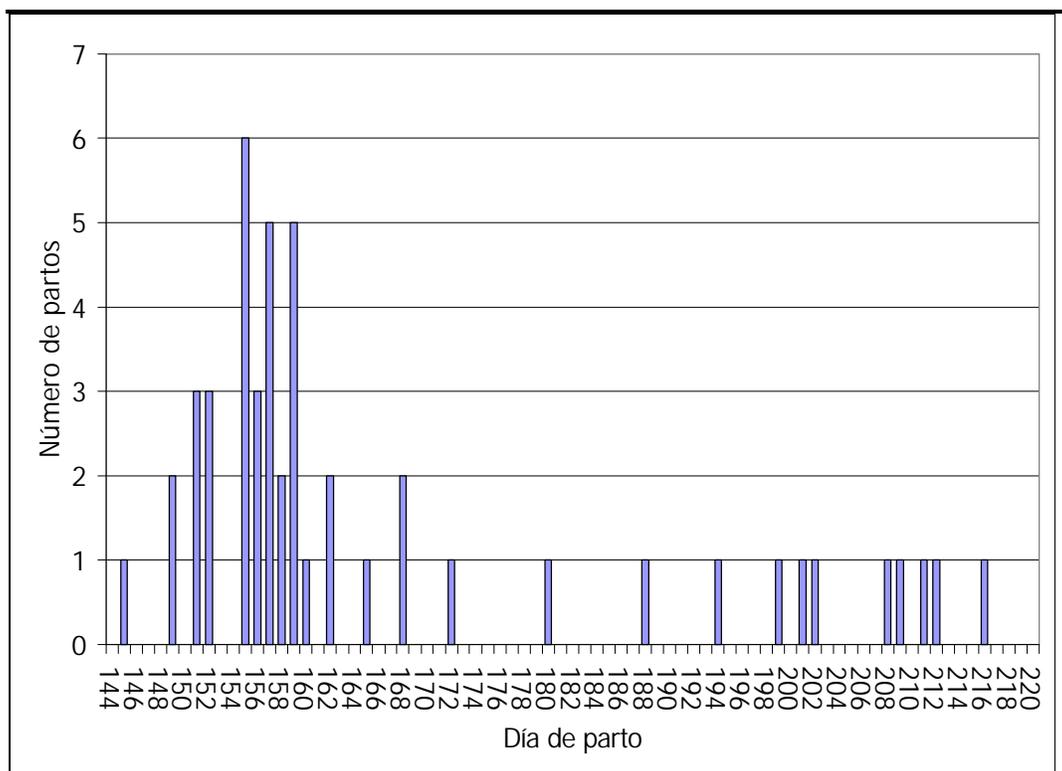
11/11/97	2
13/11/97	1
14/11/97	1
18/11/97	2
21/11/97	1
24/11/97	2
28/11/97	1

Nota: vacías 5

El tiempo de estancia del macho en este lote de hembras fue de 29 días.

En el *Gráfico 4* aparece reflejada la distribución conjunta de los partos de los lotes, H, I, J, los cuales han tenido pautas de manejo diferentes en lo que respecta a la duración de la estancia de los machos con las hembras. No obstante nos ha parecido interesante tener una visión global, ya que nos aporta una idea clara respecto a la distribución de partos atribuibles a los primeros 21 días de cohabitación de machos y hembras.

Gráfico 4. Distribución secuencial de partos en función de manejo con un solo macho



4.2.2. Efecto del manejo global del lote de animales sobre la fertilidad de las hembras.

En la tabla siguiente (Tabla 38 y Tabla 39) aparecen reflejadas las fertilidades medias de cada lote, el manejo al cual han sido sometidos los animales y las fertilidades globales.

Tabla 38. Fertilidades medias por lote en función del código de manejo.

Lote	Número de hembras	% fertilidad	Código manejo	Número de machos	Intervalo
A	21	90,48	1	2	10
B	17	100	1	2	10
C	15	86,6	1	2	10
D	13	92,3	1	2	7
E	12	83,33	2	2	7
F	12	91,66	2	2	7
G	10	100	2	2	7
H	14	92,8	3	1	0
I	27	77,27	4	1	0
J	18	72,22	5	1	0

Nota:

Código de manejo 1: Estancia primer macho = 20 días
Intervalo entre machos = 10 días
Estancia segundo macho = 21 días

Código de manejo 2: Estancia primer macho = 7 días
Intervalo entre machos = 7 días
Estancia segundo macho = 21 días

Código de manejo 3: Un solo macho 21 días

Código de manejo 4: Un solo macho 61 días

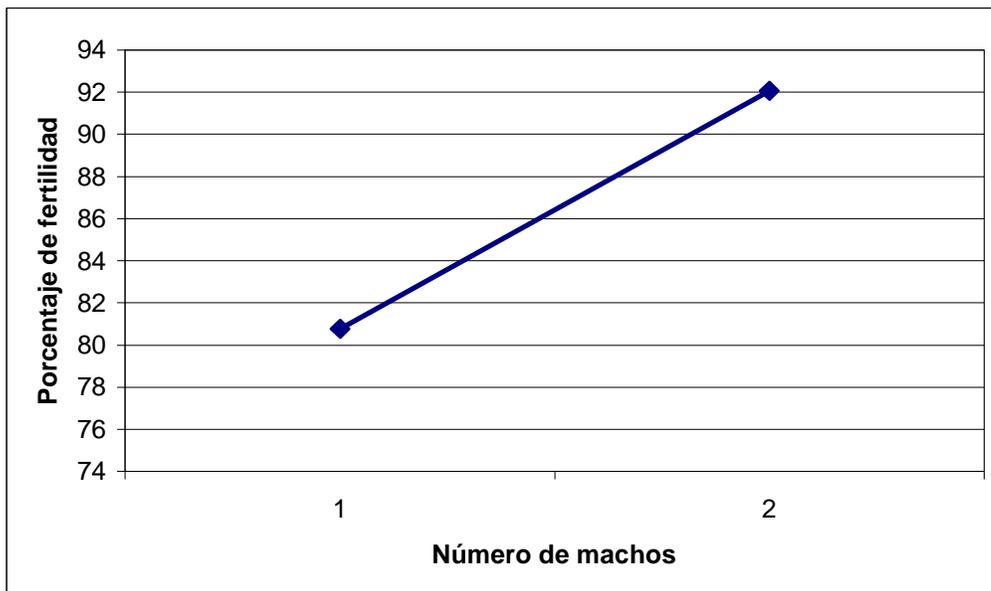
Código de manejo 5: Un solo macho 29 días

A primera vista en la tabla anterior se aprecia como las fertilidades de los lotes con un solo macho son inferiores a las de dos, independientemente del número de hembras y del código de manejo. Este hecho queda reflejado de forma evidente en los gráficos (Gráfico 5 y Gráfico 6).

Gráfico 5. Representación de la fertilidad obtenida en los dos manejos con dos machos (1 y 2) y la media de los manejos con uno (3).



Gráfico 6. Representación de la fertilidad media obtenida con uno y con dos machos.



Trabajando sobre esta base de datos se obtienen los siguientes resultados estadísticos.

Tabla 39. Estadísticos descriptivos para la fertilidad global.

Número lotes	Mínimo	Media	Máximo	Desv. Std.
10	72,22	88,67	100	9,02

Realizando un análisis de la varianza entre los niveles de manejo (Tabla 40), se obtienen valores muy cercanos a la significación ($p=0,063$) para el análisis hecho entre las medias obtenidas con uno y con dos machos y claramente no significativos para el análisis hecho entre las medias de los manejos con dos machos a pesar de que, en este último análisis, el tiempo total de estancia en un caso es de 28 días y en el otro de 42.

Tabla 40. Análisis de la varianza para las fertilidades medias obtenidas con un macho y con dos .

Fuente de variación	Grados de libertad	Valor de F	Pr>F	Significación
Código a	1	4,6192	0,0639	N.S.
Código b	1	2,0293	0,2020	N.S.

Nota:

Código a: Entre usar un macho y dos machos

Código b: Entre usar dos machos, según los códigos de manejo 1 y 2 de la Tabla 38.

Para completar este apartado relacionado con los efectos del manejo de los lotes de hembras sobre la fertilidad, en las dos tablas siguientes (Tabla 41 y Tabla 42) aparecen los resultados que vinculan esta variable con el número de hembras por lote y los tiempos de estancia de los machos.

Tabla 41. Matriz de correlación entre fertilidad, número de hembras y tiempo de estancia del primer macho.

Variable	Nº de hembras	Tiempo	Fertilidad
Nº de hembras	1		
Tiempo	0,911384	1	
Fertilidad	-0,517306	-0,588750	1

Tabla 42. Matriz de correlación entre fertilidad, número de hembras y tiempo total de estancia de machos por lote.

Variable	Nº de hembras	Tiempo	Fertilidad
Nº de hembras	1		

Tiempo	0,873872	1	
Fertilidad	-0,517306	-0,388453	1

4.2.3. Efecto del manejo de cada macho sobre la fertilidad de las hembras.

En las tablas (Tabla 43, Tabla 44, Tabla 45, Tabla 46, Tabla 47 y Tabla 48) se plasman las fertilidades obtenidas, relacionándolas con cada uno de los machos que ha intervenido y con el tiempo de permanencia del que ha dispuesto con las hembras, valorándose también si se trataba de un primer o un segundo macho, así como los estadísticos descriptivos de los machos que han tenido el mismo manejo y las correlaciones entre las variables implicadas.

Tabla 43. Fertilidades obtenidas de acuerdo con el manejo al que sido sometido cada macho.

Identificación macho	Tiempo estancia	Fertilidad (%)	Número de hembras	Tipo de macho 1º ó 2º
063	21	71,5	21	1
081	21	82,3	17	1
008	21	60,0	15	1
088	7	53,8	13	1
087	7	41,7	12	1
078	7	83,3	12	1
085	7	90,0	10	1
070	21	92,8	14	1
001	61	81,9	27	1
065	29	72,2	18	1
098	21	60,0	5	2
002	21	100,0	2	2
200	21	66,6	3	2
069	21	83,3	5	2
273	21	72,4	7	2
081	21	50	2	2
068	21	100	1	2

Tabla 44. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los primeros machos independientemente del tiempo de estancia con las hembras.

Número lotes	Mínimo	Media	Máximo	Desv. Std.
10	41,66	72,91	92,80	16,59

Tabla 45. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los primeros machos cuyo tiempo de estancia con las hembras ha sido de 7 días.

Número lotes	Mínimo	Media	Máximo	Desv. Std.
4	41,66	67,19	90,00	23,18

Tabla 46. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los primeros machos cuyo tiempo de estancia con la hembras ha sido de 21 días.

Número lotes	Mínimo	Media	Máximo	Desv. Std.
3	60,00	71,28	82,35	11,17

Tabla 47. Estadísticos descriptivos para la fertilidad obtenida por los segundos machos, cuyo tiempo de estancia con las hembras ha sido, en todos los casos, de 21 días.

Número lotes	Mínimo	Media	Máximo	Desv: Std.
7	50,00	76,04	100,00	19,31

Tabla 48. Matriz de correlación entre tiempo de estancia de los segundos machos, número de hembras y fertilidad obtenida.

Variable	Tiempo estancia	Nº de hembras	Fertilidad
Tiempo estancia	1		
Nº de hembras	0,444351	1	
Fertilidad	0,214756	- 0,063581	1

4.2.4. Efecto macho en cada lote, en función de la fertilidad obtenida.

En las tablas que a continuación se exponen (Tabla 49, Tabla 50 y Tabla 51) se confrontan los resultados de fertilidad esperados con los obtenidos por cada macho, pero no de forma lineal sino observando cual es la secuencia de distribución de cubriciones – partos a lo largo del tiempo, para lo cual se realizan tests de asociación manteniendo en cada lote los siguientes grupos:

I.- Hembras cubiertas durante los primeros 6 días de estancia del primer macho (efecto macho).

II.- Hembras cubiertas durante el resto de permanencia del primer macho.

III.- Hembras cubiertas durante el tiempo de permanencia del segundo macho.

A partir de este planteamiento previo consideramos las siguientes fertilidades esperadas (Chemineau, 1983):

I - El 65% del total de hembras del lote.

II.- El 35% por ciento de hembras del lote.

III.- El 0% de hembras del lote.

En este sentido hay que hacer las siguientes matizaciones:

- En los lotes en los que los primeros machos sólo están 7 días consideramos que el 65% de las hembras serán cubiertas por el primer macho y que el 35% restante lo será por el segundo.

- En los lotes con un solo macho todas las hembras serán cubiertas por ese macho con la misma secuencia propuesta para los primeros machos.

- En los lotes donde los primeros machos están 21 días consideramos como 0% el porcentaje esperado de hembras cubiertas por el segundo macho, debido a que en todos los grupos el número de hembras es lo suficientemente ajustado como para que, teóricamente, el primer macho pueda fecundar a la totalidad del lote, aunque evidentemente en este supuesto no consideramos los problemas intrínsecos de fertilidad de las hembras.

Tabla 49. Test de asociación entre fertilidad observada y fertilidad esperada de las hembras cubiertas por los primeros machos en los primeros 6 días.

Lote /Nº hembras	F. Observada	F. Esperada	O – E
A/21	10	14	- 4
B/17	11	11	0
C/15	11	10	1

D/13	6	8	-2
E/12	9	8	1
F/12	11	8	3
G/10	10	7	3
H/14	8	9	-1
I/27	14	17	-3
J/18	9	12	-3
Suma/159	99	104	-5

$$Ji^2 = 5,669$$

$$p < 0,772$$

Nota: La asociación es máxima para $p = 1$

Dentro del apartado del estudio del efecto macho, su influencia sobre la fertilidad y sobre la secuencia de cubriciones y por tanto de partos, planteamos ahora enfrentar el comportamiento individualizado de cada lote respecto a las fertilidades observadas y esperadas de acuerdo con los criterios ya comentados. Los resultados obtenidos se reflejan en las siguientes tablas.

Tabla 50. Test de asociación de las fertilidades observadas y esperadas para los distintos lotes.

Lote A/21	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	10	14	-4
II	10	7	3
III	1	0	1

$$Ji^2 = 2,428$$

$$p < 0,296$$

Lote B/17	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	11	11	0
II	6	6	0
III	0	0	0

$$Ji^2 = 0$$

$$p < 1$$

Lote C/15	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	11	10	1
II	4	5	-1
III	0	0	0

$$Ji^2 = 0,30$$

$$p < 0,860$$

Lote D/13	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	6	8	-2
II	0	0	0
III	7	5	2

$$Ji^2 = 1,30$$

$$p < 0,522$$

Lote E/12	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	9	8	1
II	0	0	0
III	3	4	-1

$$Ji^2 = 0,375$$

$$p < 0,829$$

Lote F/12	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	11	8	3
II	0	0	0
III	1	4	-3

$$Ji^2 = 3,375$$

$$p < 0,184$$

Lote G/10	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	10	7	3
II	0	0	0
III	0	3	-3

$$Ji^2 = 4,285$$

$$p < 0,117$$

Lote H/14	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	8	9	-1
II	6	5	1
III	0	0	0

$$Ji^2 = 0,311$$

$$p < 0,855$$

Lote I/27	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	14	17	-3
II	13	10	3
III	0	0	0

$$Ji^2 = 1,429$$

$$p < 0,489$$

Lote J/18	F. Observada	F. Esperada	O - E
I	9	12	-3
II	9	6	3
III	0	0	0

$$Ji^2 = 2,250$$

$$p < 0,324$$

Tabla 51. Test de asociación entre la fertilidad esperada y la observada del Lote Suma.

Lote Suma	F. Observada	F. Esperada	0 - E
I	99	104	-5
II	48	39	9
III	12	16	-4

$$Ji^2 = 3,317$$

$$p < 0,191$$

El primer aspecto destacable de estos resultado es la heterogeneidad de los mismos, lo cual queda reflejado en los distintos valores que se obtienen de p, siendo éstos superiores a 0,5 sólo en la mitad de los grupos. No obstante en todos los casos es evidente el efecto macho que agrupa las fertilidades obtenidas en los primeros seis días de cubriciones a niveles netamente superiores a lo que teóricamente podríamos esperar en el caso de que éste no existiera. Esto se ve claramente corroborado por la distribución del lote suma donde el 62% de las hembras quedan preñadas en los primeros seis días.

4.2.5. Efecto del manejo en dos lotes sin efecto macho.

Los resultados que se obtuvieron de estos lotes de hembras (Tabla 52 y Tabla 53) no respondieron a lo esperado ya que en el primer grupo (Lote X) sólo el primer macho manifestó actividad sexual, permaneciendo el segundo pasivo,

por lo que posteriormente se sustituyó por dos sementales simultáneamente buscando que no se alargara la paridera, con lo cual parte de los objetivos previstos no han sido satisfechos por este diseño experimental, no obstante los datos parciales registrados nos permiten hacer conjeturas de interés

Por su parte en el segundo grupo (Lote Y), no hubo problemas por lo que se mantuvo el planteamiento inicialmente propuesto, de forma que tanto el primer macho como el segundo estuvieron 21 días con las hembras, siendo el intervalo de confianza de 10 días. Al margen de lo comentado también en este grupo se hizo una modificación *a posteriori* ya que se observó que el ritmo de cubriciones no parecía suficiente, por lo que después de retirar el segundo macho se volvió a dejar un intervalo de confianza de 10 días y se introdujeron tres machos buscando garantizar el máximo número de hembras preñadas y de esta forma no lesionar los intereses del ganadero. Esta modificación aportó datos de interés que se valorarán en la discusión.

Tabla 52. Pauta de manejo y distribución de partos. Lote X sin efecto macho.

Número de hembras: 50

Entrada primer macho: 1/6/99.
Retirada primer macho: 22/6/99.

Intervalo entre machos: 7 días.

Entrada segundo macho: 29/6/99.

Fecha de parto	Número de partos
29/10/99	1
2/11/99	4
3/11/99	2
4/11/99	3
5/11/99	3
7/11/99	1
20/11/99	2
21/11/99	2
23/11/99	1

Nota: total de partos 19

La fertilidad total obtenida con el primer macho fue de un 38%. No se obtuvieron datos del segundo macho ya que éste no tuvo actividad sexual durante los 14 días que permaneció con las hembras. Todos los partos son atribuibles al primer semental.

Tabla 53. Pautas de manejo y distribución de partos. Lote Y sin efecto macho.

Número de hembras: 56

Entrada primer macho: 1 de junio de 2000
Retirada primer macho: 21 de junio de 2000

Primer intervalo de confianza: 7 días

Entrada del segundo macho: 29 de junio de 2000
Retirada del segundo macho: 19 de julio de 2000

Segundo intervalo de confianza: 10 días

Entrada de terceros machos: 29 de julio de 2000

Fecha de parto	Número de partos
28/10/00	1
31/10/00	3
01/11/00	3
02/11/00	2
03/11/00	1
04/11/00	2
05/11/00	3
06/11/00	1
07/11/00	1
26/11/00	4
27/11/00	2
28/11/00	2
29/11/00	2
03/12/00	1

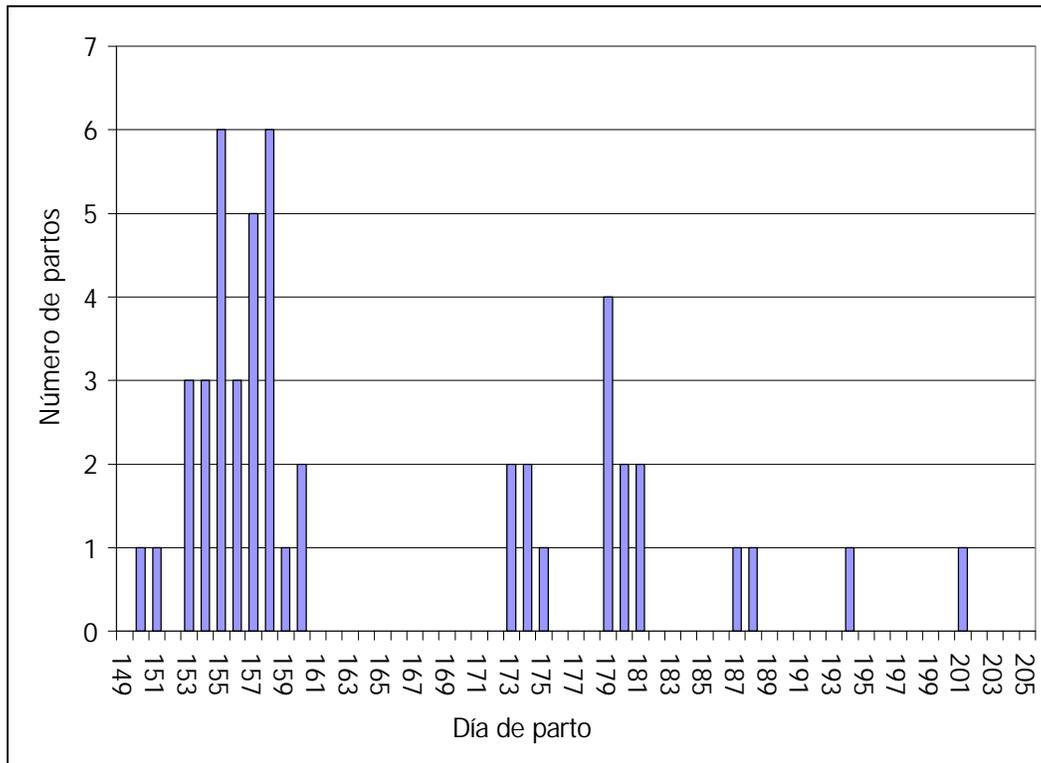
Fecha de parto	Número de partos
04/12/00	1
06/12/00	1
10/12/00	1
17/12/00	1
02/02/01	1
03/02/01	4
04/02/01	3
05/02/01	2
06/02/01	3

Nota: vacías 12

La fertilidad total obtenida es de un 78,6%. La fertilidad que se obtiene con tan sólo los dos primeros machos, tal y como correspondería a la pauta de manejo que se está valorando, es de un 57%. Al margen de estos apuntes iniciales el análisis de estos datos se valoraran con más profundidad en la discusión.

En el Gráfico 7 aparece reflejada la distribución conjunta de los partos de estos dos lotes de hembras en los que no ha habido efecto macho.

Gráfico 7. Distribución secuencial de partos en función de manejo 21 – 10 – 21 sin efecto macho



4.3. Estudio de los marcadores microsatélites descritos. Estadísticos descriptivos de interés.

Estos resultados nos permiten hacer una valoración apriorística del interés que podrían tener estos microsatélites en la resolución de paternidades dudosas en la A.C.C., sobre todo como complemento de la aplicación de unas pautas adecuadas de apareamientos alternativos.

Destacar que de los diez microsatélites con los que se inicia el trabajo, aplicando las condiciones propuestas por Bragança y cols. (1999), sólo se obtienen resultados de amplificación de siete de ellos (BM6526, BM8125, CSSM31, CSSM66, ILSTS005, ILSTS011, MCM53). Para los tres restantes (BM1818, INRA6, RM006), uno en cada reacción Multiplex, a pesar de repetirse meticulosamente el protocolo no se obtienen los resultados deseados, también se lleva a cabo tanteos modificando las condiciones de la PCR con el objeto de optimizar la reacción y subsanar los problemas, no obstante lo que se consigue son reacciones de amplificación menos específicas, incluso para los microsatélites en los que anteriormente se obtenían buenos resultados, por lo que finalmente se descartan los marcadores problemáticos.

4.3.1. Frecuencias alélicas.

En la Tabla 54 se recogen las frecuencias de los distintos alelos tipificados en cada marcador microsatélite para el total de la base muestral, estando expresados los alelos en pares de bases (bp) y las frecuencias (f) referidas a la unidad. Las frecuencias alélicas nos permitirán calcular posteriormente parámetros de más interés aplicado.

Tabla 54. Alelos y frecuencias alélicas encontrados para el total de la base muestral de los tres tipos de la A.C.C.

Locus	Alelos (bp)	F	Locus	Alelos (bp)	F
BM6526	R (188)	0,350	CSSM66	G (186)	0,509
	Q (186)	0,198		T (212)	0,211
	G (166)	0,124		E (182)	0,115
	S (190)	0,115		S (210)	0,076
	I (170)	0,069		J (242)	0,048
	M (178)	0,069		N (250)	0,014
	H (168)	0,027		I (240)	0,014
	F (164)	0,023		Z (222)	0,009
	L (176)	0,023			
BM8125	L (117)	0,469	ILSTS011	N (280)	0,733
	K (115)	0,217		O (282)	0,098
	N (121)	0,201		M (278)	0,079
	P (125)	0,061		P (284)	0,074
	M (119)	0,050	H (268)	0,014	
CSSM31	L (131)	0,447	MCM53	O (93)	0,417
	P (139)	0,219		R (99)	0,139
	V (151)	0,133		P (95)	0,126
	Q (141)	0,066		U (105)	0,108
	U (149)	0,066		T (103)	0,091
	B (161)	0,057		Q (97)	0,078
	S (145)	0,009		M (89)	0,021
ILSTS005	M (181)	0,807	L (87)	0,008	
	N (183)	0,165	S (101)	0,008	
	K (179)	0,013			
	L (177)	0,009			

4.3.2. Contenido de información polimórfica (PIC) y probabilidad de exclusión (PE).

A continuación (Tabla 55) se plasman los resultados de los cálculos hechos a partir de las frecuencias alélicas previas, para obtener el PIC y la PE de cada uno de los marcadores tipificados así como la probabilidad de exclusión conjunta (PEC) de la totalidad de los mismos.

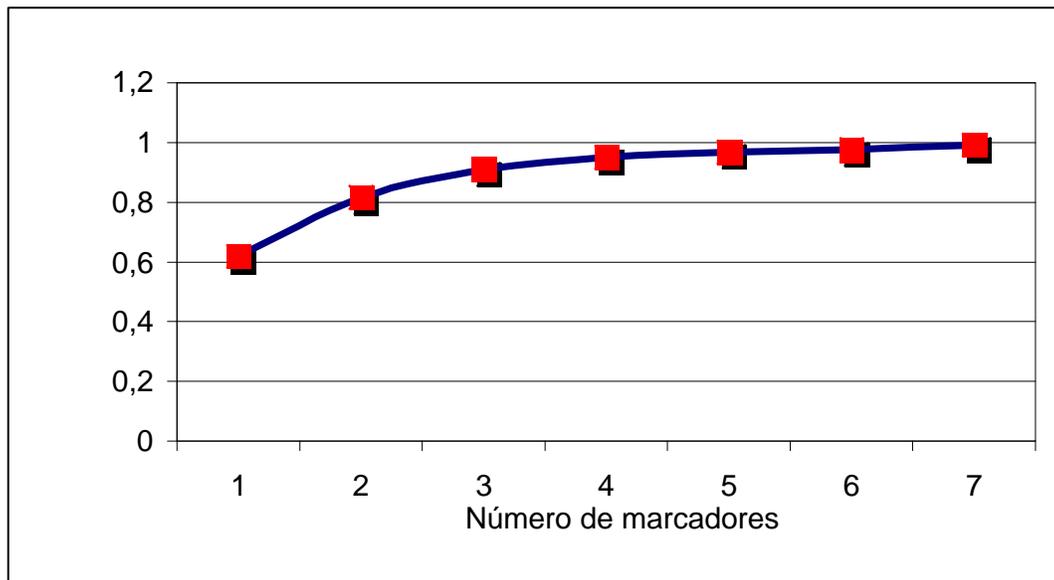
Tabla 55. Contenido de información polimórfica, probabilidad de exclusión y probabilidad de exclusión conjunta de los microsatélites estudiados

Locus	PIC	Número de alelos	PE
BM6526	0,83	9	0,616
MCM53	0,75	9	0,519
CSSM31	0,69	7	0,507
BM8125	0,64	5	0,444
CSSM66	0,64	8	0,382
ILSTS011	0,41	5	0,256
ILSTS005	0,35	4	0,192
PEC			0,991

Tal y como se observa en la tabla los marcadores se han ordenado de mayor a menor en cuanto a su contenido de información polimórfica y en cuanto a su poder de exclusión, siendo clara la correlación positiva entre ambos parámetros.

Otro aspecto destacable (Gráfico 8) es la evolución de la PEC vista de forma progresiva, según se van incorporando microsatélites de mayor a menor de acuerdo con sus probabilidades de exclusión, con lo cual observamos como la probabilidad de exclusión conjunta aumenta muy significativamente al principio para hacerlo de forma mucho menos relevante en los últimos.

Gráfico 8. Evolución progresiva de la probabilidad de exclusión de la batería de marcadores.



4.4. Resultados del modelo piloto planteado.

El manejo al que se somete a los animales es el que aparece reflejado en la Tabla 56, con la siguiente cronología:

Tabla 56. Pauta de manejo y distribución de partos del modelo piloto

Primer macho : (2609)

Introducción. 4/7/97
Retirada. 11/7/97

Segundo macho: (0074)

Introducción. 20/7/97
Retirada. 10/8/97

Intervalo: 10 días.

Fecha de parto	Madre	Hijo
24/11/97	0001	116
30/11/97	0010	119 y 121
30/11/97	0269	101
2/12/97	0272	118
2/12/97	1?	123
6/12/97	4?	114 y 115
15/12/97	3527	30 y 85
21/12/97	0012	78 y 80
26/12/97	0267	25
29/12/97	2?	88
2/1/98	3?	81

Nota: Las hembras que aparecen con interrogación murieron antes de que se les pudiera extraer sangre

4.4.1. Resultados de las asignaciones de paternidad en función de los marcadores microsatélites.

En primer lugar se recogen los alelos que aparecen de cada marcador microsatélite en cada individuo que es objeto de estudio (Tabla 57), bien se trate de padres madres o crías ya que a partir de ellos determinaremos la exclusión o no de paternidad.

Tabla 57. Alelos presentes de cada microsatélite en los animales del modelo piloto.

ANIMAL	MICROSATELITE						
	BM6526	BM8125	CSSM31	CSSM66	ILSTS005	ILSTS011	MCM53
0001 (M)	G R	L N	Q U	E S	M M	N N	O T
0010 (M)	G N	L N	L L	G G	M M	N N	M O
0012 (M)	F G	L L	P Q	G S	M M	N O	M T
0267 (M)	R S	K P	L P	G G	M N	N P	O S
0269 (M)	S S	L L	L P	G G	M N	N P	O O
0272 (M)	G S	N N	L Q	E E	M M	N N	O O
3527 (M)	G S	L L	L L	G S	M N	N N	O O
0074 (P)	Q S	K L	L V	G G	M M	N N	O O
2609 (P)	R S	L L	L P	E S	M N	N P	O O
25 (C)	S S	K K	L V	G G	M M	N N	O S
30 (C)	S S	L L	L V	G S	M M	N N	O O

ANIMAL	MICROSATELITE						
	BM6526	BM8125	CSSM31	CSSM66	ILSTS005	ILSTS011	MCM53
78 (C)	F S	L L	L Q	G G	M M	N O	M O
80 (C)	F S	K L	Q V	G G	M M	N O	M O
81 (C)	M Q	K N	L U	G G	M M	N N	O O
85 (C)	G S	K L	L V	G G	M M	N N	O O
88 (C)	G Q	K L	L U	G G	M N	N N	O O
101 (C)	S S	L L	P P	G S	M N	P P	O O
114 (C)	F Q	L L	L V	G S	M N	N N	O O
115 (C)	Q R	L L	L L	S T	M N	N P	O O
116 (C)	G R	L N	P U	E S	M M	N P	O O
118 (C)	R S	L N	P Q	E S	M N	N N	O O
119 (C)	G S	L N	L Q	E S	M M	N N	O O
121 (C)	G S	L N	L L	G S	M N	N P	M O
123 (C)	Q R	L L	P P	S S	M N	N N	O O

Nota: (M)=Madre.

(P)=Padre.

(C)=Cría.

Hecha la presunción de paternidad a la luz de las fechas de parto se realiza el test de exclusión con marcadores microsatélites entre los dos posibles machos, quedando establecidas las estructuras familiares (Tabla 58) con el macho que no resulta excluido por ningún microsatélite.

En el Gráfico 9 aparece reflejada, a modo de ejemplo, la representación de una estructura familiar para un marcador genérico tal y como nos la ofertaría el programa de procesado de datos Genotyper ® 2.0.

Gráfico 9. Representación de una estructura familiar para un marcador genérico.

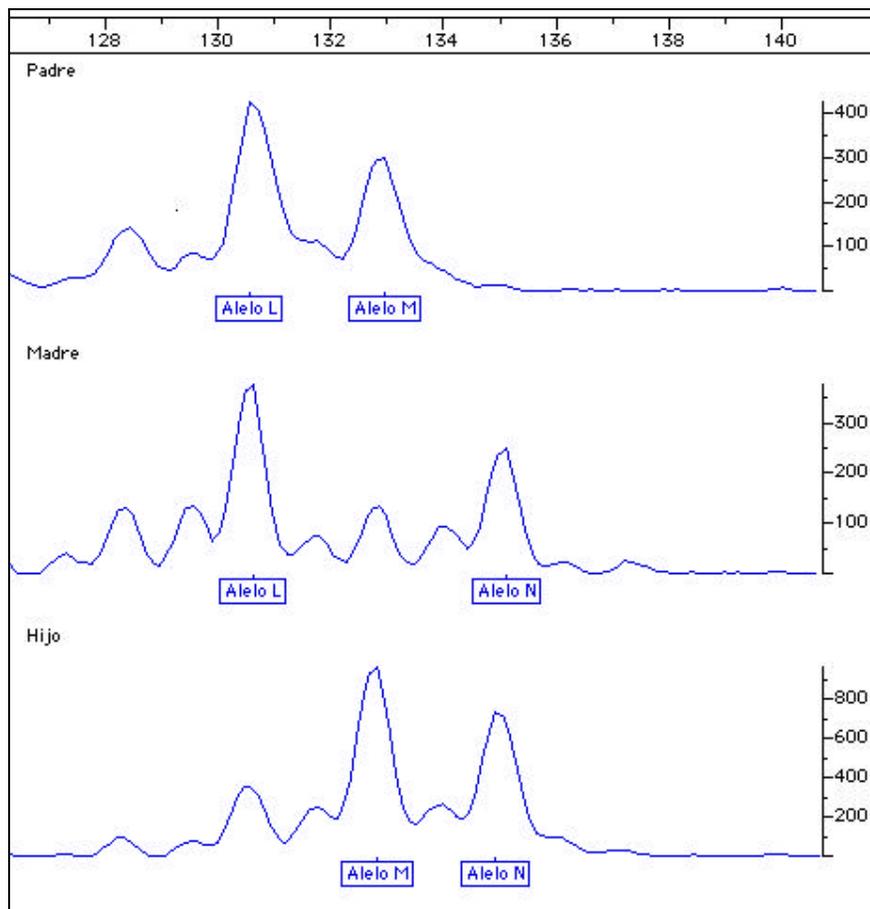


Tabla 58. Configuración de las estructuras familiares y macho que queda excluido especificándose en cada caso los marcadores excluyentes.

Hijo	Madre	Padre	Excluido	Sistemas que excluyen
116	0001	2609	0074	CSSM31, CSSM66, ILSTS11
30	3527	0074	2609	CSSM31
85	3527	0074	2609	BM8125, CSSM31, CSSM66
78	0012	0074	2609	CSSM66
80	0012	0074	2609	BM8125, CSSM31, CSSM66
25	0267	0074	2609	BM8125, CSSM31, CSSM66
119	0010	2609	0074	CSSM31, ILSTS11
121	0010	2609	0074	CSSM66, ILSTS005, ILSTS11
101	0269	2609	0074	CSSM66, ILSTS11
118	0272	2609	0074	CSSM31, CSSM66, ILSTS005

Hijo	Madre	Padre	Excluido	Sistemas que excluyen
123	?	2609	0074	CSSM31,CSSM66
88	?	0074	2609	CSSM66
81	?	0074	2609	BM8125, CSSM66
114	?	2609	0074	CSSM66
115	?	2609	0074	CSSM66

Nota: las hembras que aparecen con interrogación murieron antes de que se les pudiera extraer sangre, siendo las crías 114 y 115 hermanas.

A la vista de esta tabla nos encontramos pues con que, de los siete marcadores con los que se ha trabajado, sólo cinco se han mostrado excluyentes quedando fuera el BM6526 y el MCM53, curiosamente aquellos que a priori manifiestan más poder de exclusión.

Ordenando de mayor a menor el número de veces que un microsatélite descarta a un posible padre (Tabla 59) nos encontramos con la siguiente relación:

Tabla 59. Número de veces que un marcador excluye en el modelo piloto.

Marcador	Número de veces que excluye
CSSM66	13/15
CSSM31	8/15
BM8125	4/15
ILSTS11	4/15
ILSTS005	2/15

Tal y como queda patente analizando la Tabla 56 y la Tabla 58, las presunciones de paternidad estimadas en función de los días de parto, basadas en el intervalo de confianza establecido, han sido totalmente ratificadas por los marcadores microsatélites, incluso en los casos en los que no se disponía de sangre de las madres, así mismo quedan dilucidadas las paternidades dudosas correspondientes a las fechas de parto que aparecen reflejadas en negrita en la Tabla 56. Por lo que, en principio, los resultados positivos avalan la validez del planteamiento metodológico propuesto.

5. DISCUSIÓN.

5.1. Problemas de base en la mejora genética caprina.

Ya en 1989, Serrano y *cols.*, presentaron en las III Jornadas sobre Producción Animal ITEA de Zaragoza las primeras propuestas para el desarrollo de programas de mejora de la A.C.C., poniéndose de manifiesto las importantes dificultades de base que habría que superar para conseguir los objetivos genéticos propuestos.

Tradicionalmente cualquier programa de mejora genética de la función láctea planteado trataba de emular y utilizar al sistemática y la metodología desarrollada en el la especie bovina y más especialmente en la raza Frisona. En este sentido todos los intentos que se iniciaron se abordaron de forma masiva, propugnando unos esquemas que con la realidad del sector en las manos eran inviables. Esto ya lo apuntaron así Camacho y *cols.* (1995) para la propia A.C.C., donde pusieron de manifiesto una serie de problemas básicos entre los que destacan la calidad y estabilidad de los controles de rendimientos, la escasa sensibilización y demanda por parte de los ganaderos hacia a la mejora genética y las grandes dificultades existentes para un efectivo control genealógico de los animales.

Por tanto, sin conocer con claridad el fenotipo productivo de los animales, careciendo de la estimulante presión e iniciativa por parte de los ganaderos y sin tener claras las relaciones familiares de los individuos difícilmente puede plantearse el desarrollo de un programa de mejora genética eficaz.

Dificultades similares a las descritas para la A.C.C. también fueron puestas de manifiesto, de forma exhaustiva y categórica, en otras razas españolas como la Murciano-Granadina y Malagueña (Sánchez Palma y Serradilla 1996), afirmando estos autores, en su amplio trabajo, que, como consecuencia de los sistemas de manejo habituales, las asignaciones de paternidad son en su casi totalidad falsas y las maternidades lo son también en un porcentaje no determinado pero que se estima elevado, por lo que la información del libro genealógico de que disponen las asociaciones de criadores es prácticamente inutilizable en el programa de mejora..

La existencia de una problemática común llevó al propio Ministerio de Agricultura, a plantearse la necesidad de proponer unas directrices básicas comunes para el desarrollo de estos planes que incorporan criterios de humildad, conocimiento del contexto y, sobre todo realismo a la hora de plantearse los objetivos.

Muy recientemente, en las Jornadas Técnicas sobre el Desarrollo del Programa de Mejora Genética de la A.C.C. celebradas en la Isla de Gran Canaria, Delgado (1999) expuso la necesidad de resolver los mencionados problemas de base como paso previo a cualquier planteamiento dirigido a la mejora en si misma. En esta reunión, donde estaban presentes técnicos vinculados a las tres principales razas lecheras españolas, Malagueña, Murciana-Granadina y A.C.C., se alcanzó un consenso absoluto sobre esta realidad y, a la vez, un compromiso general para buscar los recursos necesarios para ello.

Basándonos en el conocimiento, en la experiencia en torno al sector y en los errores cometidos previamente, observamos que la resolución del problema del control genealógico hay que abordarla sinérgicamente desde varios frentes, aplicando los avances científicos y técnicos a nuestra disposición pero siempre en sintonía con los intereses del ganadero, evitando chocar frontalmente con las prácticas ganaderas habituales y teniendo en cuenta los criterios económicos.

Capítulo aparte merece la aplicación de la inseminación artificial, que aunque demuestra ser una herramienta muy útil en el control de la paternidad, presenta una problemática concreta relacionada con su puesta a punto y aplicación práctica, que queda fuera del ámbito de esta tesis.

Nuestro planteamiento se desarrolló en cuatro fases sucesivas. i) En primer lugar se investiga buscando el conocimiento lo más exacto posible de la duración de la gestación, bajo distintas circunstancias, en la A.C.C., con el objeto de que ese parámetro cotidiano sea el eje sobre el cual pivote gran parte de la metodología propuesta. ii) En segundo lugar se comprueba el comportamiento práctico de la aplicación de series de apareamientos alternativos con cubrición controlada, buscando adecuar los tiempos de cubrición, los intervalos de confianza y las proporciones macho/hembra, de forma que el control de la paternidad en función de la fecha de parto no implique una disminución de la fertilidad ni un alargamiento de la paridera. iii) En tercer lugar se busca la puesta a punto de una batería de marcadores

microsatélites eficaz para la resolución a posteriori de paternidades dudosas. iii) En cuarto lugar la se lleva a cabo la comprobación integral de la metodología desarrollada mediante un caso práctico piloto.

5.2. Estudio de la duración de la gestación en la A.C.C.

La duración de la gestación, como cualquier carácter ligado a la reproducción manifiesta una escasa variabilidad genética e incluso fenotípica ya que se trata de un carácter fuertemente ligado a la adaptabilidad y supervivencia de la especie, no obstante siempre ofrece un pequeño margen de variabilidad que, aunque necesita ser estudiado, no merma las posibilidades prácticas a la hora de adjudicar una paternidad probable en función de una determinada fecha de parto, siempre y cuando haya habido una mínima rigurosidad en el manejo reproductivo (Poto y cols., 1994; Boixo y cols., 1997; Mata y cols., 1997; Mata, 1999).

5.2.1. Estadísticos descriptivos.

De manera general la duración de la gestación en esta raza se sitúa en torno a los 150 días con unos márgenes entre 163 y 141 días (Tabla 20).

Nuestros resultados globales han mostrado a la A.C.C. como una raza que manifiesta una duración de gestación tendente a ocupar los límites superiores dentro de la especie caprina lo cual concuerda con lo esperado de acuerdo con las características morfométricas de la agrupación racial, considerada como cercana al hipermetría (Capote y cols., 1992), con lo que las duraciones de gestación se alargan (Ricoardeau, 1981; Gangwar y Yadav, 1986; Motsma y cols., 1988), sin embargo no concuerda con los niveles altos de prolificidad de esta agrupación racial (Lopez y cols., 1992b; Mata y cols 1997), aunque en este ultimo aspecto hay una importante disparidad de resultados y conclusiones entre los autores consultados.

Hemos cuantificado desde una muestra representativa de 254 partos, exhaustivamente controlada observándose una duración de gestación media de 149,92 días con un error de estimación de la media de +/- 4,06, lo que desde el punto de vista práctico permite, conociendo los días o periodos de

cubrición, definir distintos intervalos de confianza para las fechas de parto, en función de los niveles de fiabilidad deseados y por tanto, si hemos hecho un manejo reproductivo adecuado, atribuir paternidades de acuerdo con esas fechas. También hay que destacar la clara normalidad demostrada por la distribución de la variable duración de gestación (Gráfico 1), lo cual ofrece posibilidades estadísticas y experimentales para la inferencia basada en métodos infinitesimales. Señalar, no obstante, un leve desequilibrio con tendencia al alargamiento de las gestaciones, lo cual estimamos que sea debido a un ligero error de muestreo.

En la línea de profundizar en el estudio de la duración de gestación se hicieron varios enfoques agrupando a los animales de acuerdo con distintos criterios o factores.

5.2.1.1. Factor tipo étnico.

Desde el punto de vista del tipo étnico nuestros resultados (Tabla 21) pusieron de manifiesto unos niveles muy similares para los tipos Tinerfeño y Majorero de 149,4 y 150,1 días respectivamente y otro diferenciado de 151,8 días para el tipo Palmero lo cual no corresponde con lo esperado si consideramos la envergadura de la raza ya que el tipo Palmero es el más pequeño de los tres. No obstante puede ser que la explicación a este hecho tenga relación con el origen y la rusticidad de cada grupo racial, si tenemos en cuenta que el tipo Palmero es el considerado más rústico y ancestral (Delgado y cols., 1990) y los otros dos los más evolucionados genéticamente. Aunque para la especie caprina no hemos encontrado referencias concretas que corroboren este hecho, en la especie bovina se admite una mayor duración del periodo gestacional en el tronco *Bos indicus* frente al *Bos taurus* (Chenoweth, 1994) e incluso dentro del *Bos taurus* las gestaciones de las razas lecheras, normalmente más selectas y evolucionadas, suelen ser más cortas que las de las razas cárnicas (Pastor, 1997).

Es interesante resaltar que la base muestral del tipo Palmero es la menor de las tres y por tanto, *a priori*, la menos fiable, sin embargo también es verdad que a pesar del menor número de datos éstos manifiestan una desviación típica más centrada que los obtenidos en los otros tipos raciales.

5.2.1.2. Factor año y época de parto.

Al hablar de época de parto nos encontramos con uno de los factores más complejos y más difíciles de valorar ya que en él confluyen distintas circunstancias que lo matizan y lo complican, así tenemos la posible influencia del fotoperiodo, de la pluviosidad, directamente vinculada con los recursos pastables, y de la temperatura ambiente. Todo esto se agrava aún más si interacciona con el factor año, ya que las mismas épocas pueden tener características climáticas sensiblemente distintas en función del año del que se trate.

En general las referencias encontradas están vinculadas a sistemas extensivos donde la relación entre climatología y recursos nutritivos es muy alta, así Ruvuna y cols. (1988) consideran que en las épocas secas con escasos recursos se da un adelantamiento significativo, por estrés nutricional, en las fechas de parto.

En nuestro caso se establecieron cinco categorías en función del mes de cubrición, de junio a octubre, que es el periodo de apareamientos habitual y más importante en los sistemas productivos canarios. Dejando al margen las cubriciones del mes de octubre por su muy escaso número, vemos que hay una tendencia al acortamiento de la duración del periodo de gestación con adelantamiento de los partos que tienen lugar en los meses de enero y febrero. Dado que los animales con los que trabajamos estaban sometidos a un sistema de explotación intensivo y correctamente racionados descartamos cualquier influencia relacionada con el régimen alimenticio, por lo que los únicos aspectos que razonablemente podrían intervenir serían el fotoperiodo decreciente de esos meses y el hecho de que en Canarias en esa época se dan las temperaturas más frías de todo el año, no obstante no hemos encontrado ninguna referencia bibliográfica que pueda sustentar o dar argumentación a este tipo de consideraciones, al contrario existe una gran disparidad de resultados entre los autores consultados y una mayoría importante encuentra que no hay diferencias significativas en función del año o de la época del año.

5.2.1.3. Factor tamaño de la camada.

Este ha sido uno de los aspectos, junto con el peso de las crías, que más interés ha despertado en los investigadores que han abordado el estudio de los factores de variación de la duración de gestación

En la bibliografía consultada hay una mayoría de autores que no encuentran diferencias significativas entre la duración de gestación de partos simples y partos múltiples, siendo de destacar que en los que la encuentran todos coinciden en señalar gestaciones más largas para los partos simples.

En nuestro caso hemos establecido cinco categorías en función del número de crías, aunque sólo tres están correctamente ponderadas en cuanto al tamaño de la muestra, y observamos una clara tendencia al acortamiento de forma que la duración de gestación de los partos simples es mayor que la de los gemelares y así sucesivamente, hasta llegar al único parto quíntuple registrado con una duración de 147 días y 4,5 días de diferencia respecto a los partos simples. Ruvuna y cols. (1988) atribuyen este hecho al gran peso y volumen fetal lo cual provocaría un estrés importante en los fetos. No obstante hay un hecho importante que en cierta medida contradice esta observación y es que cuando se trata de un parto simple lo que se suele observar es una correlación positiva entre el peso del feto al nacimiento y la duración de la gestación (Das y Tomer, 1987), este hecho aparece corroborado también por distintos autores en bovino. Tal vez la explicación más acertada sea la dada por Deshapande y Mehta (1992), que apuntan la influencia que puede tener la mayor síntesis de corticoesteroides fetales al final de la gestación conforme aumenta el número de fetos, más que al propio volumen y peso de los fetos y los anejos fetales.

5.2.1.4. Factor edad-número de parto.

Se establecieron cinco categorías estando la primera integrada por animales de menos de tres años y la última por animales de más de cinco. Los resultados obtenidos manifiestan una gran estabilidad con oscilaciones en torno a un día los cuales concuerdan con la mayoría de los autores revisados aunque hay algunos que establecen diferencias significativas entre primíparas y el resto, siendo las gestaciones de lo animales de primer parto más cortas (Ruvuna y cols.,1988; Verma y cols., 1991). También en bovino y ovino hay autores que

detectan esta tendencia aunque en ningún caso se aporta una argumentación fisiológica que justifique este hecho. Sin embargo parece interesante hacer una reflexión en torno a este aspecto vinculándolo al tamaño de las hembras que en bastantes casos, al menos en la A.C.C., tienen su primera gestación cuando aún les falta alrededor de un 25% de su peso para alcanzar el peso adulto (Mata y Bermejo 1999 a y 1999 b) por lo que el desarrollo corporal es un factor que puede resultar condicionante, sobre todo si los animales están en sistemas de explotación extensivos y por tanto su desarrollo es más lento.

5.2.1.5. Factor sexo de las crías.

Para la valoración de este efecto acuñamos el término de *código hijos* con lo cual se establecieron 13 niveles de acuerdo con las distintas combinaciones que salieron entre número de crías y sexo de las mismas. Nuestra intención en este caso era atisbar la posible acción de las hormonas placentarias y fetales sobre la duración de gestación. Los resultados obtenidos descartan este tipo de influencia y refuerzan la influencia de la prolificidad, de forma que los partos dobles ya sean de dos hembras, dos machos o un macho y una hembra tienen duraciones de gestación muy similares entre sí y en todos los casos menores a los de una cría, con independencia de que esta sea macho o hembra.

Respecto a la bibliografía revisada nos encontramos con que la mayor parte de los autores que han trabajado con caprino no encuentran diferencias para este factor. Por otra parte los autores revisados en ganado bovino si que encuentran diferencias significativas entre las gestaciones de machos y las de hembras, siendo en todos los casos las de machos más largas. Dado que los fetos macho suelen ser mayores que las hembras (Nadarajah y cols., 1989) es difícil interpretar este hecho, ya que se contradice con lo visto para partos gemelares y triples donde el mayor volumen y demanda fetal provoca un acortamiento de la duración de gestación.

5.2.1.6. Estudio de los factores de variación.

El análisis de la varianza multifactorial desarrollado (Tabla 22) puso de manifiesto un efecto altamente significativo por parte del tipo racial y del mes de cubrición, una diferencia ligeramente inferior por parte del año y una escasa significación por parte de la interacción triple mes-año-tipo de parto. Sin

embargo, a pesar de que en los estadísticos descriptivos se observa una clara correlación entre el número de crías y la duración de la gestación, tanto el tipo de parto como la interacción mes-año no muestran efecto significativo sobre la variable. De los distintos autores revisados sólo Ruvuna y cols (1988) plantean un análisis de la varianza similar al desarrollado en este trabajo, aunque ellos combinan los factores año-mes de parto para formar 12 clases, ya que al trabajar con animales en extensivo, esta combinación da la clave para interpretar de que forma los recursos nutritivos disponibles a final de gestación influyen en la duración de la misma. Ellos encuentran que este factor, momento de parto, y el factor tipo de parto son significativos ($P < 0,05$). Okeyo y cols. (1985), en un ámbito de explotación similar al anterior también encuentran significativo el momento del parto de forma que en los años secos y con pocos recursos suele haber un adelanto significativo de los partos.

Las pruebas *a posteriori* de homogeneidad de medias (Esquema 1) desarrolladas mostraron como el escalonamiento que existía entre los tres tipos étnicos establecían dos grupos de homogeneidad independientes con animales majoreros y tinerfeños por un lado y majoreros y palmeros por otro, quedando por tanto la variedad majorera como punto central de referencia para la duración de gestación. Dada la alta significación que aparece en el factor tipo racial parece interesante destacar la influencia que este tipo está ejerciendo sobre los otros dos ya que es la variedad más desarrollada, de mayor censo y más distribuida por todo el archipiélago habiendo un gran número de animales cruzados sobre todo con la variedad tinerfeña (Mata y Bermejo, 1999 a,b; Machín y Santiago, 1997). Del mismo modo estos tests han puesto de manifiesto en el factor año de cubrición la conformación de dos grupos de homogeneidad solapados; el primero agrupando el trienio 92-95 y el segundo el trienio 93-95, la justificación de este fenómeno tiene una doble vertiente, por un lado la influencia de las oscilaciones climáticas interanuales y por otro lado, que al tratarse en algunos casos de los mismos animales cuyos periodos gestacionales se recogieron en años sucesivos, el factor edad-número de parto interactúa con el anterior. En cuanto al factor mes de cubrición-parto observamos que aparecen dos grupos de homogeneidad completamente diferentes, uno conformado por los meses de octubre julio y agosto y otro por junio y setiembre, aunque el mes de octubre se pueda obviar dada su escasa representatividad (Tabla 21). Aun cuando este factor ha resultado ser altamente significativo, no parece que se puedan sacar justificaciones razonables a este hecho relacionadas con el fotoperiodo, temperatura y otros, ya que el grupo de junio y setiembre está configurado por los dos meses que

más diferencia tienen entre sí en estos aspectos.

De manera complementaria se utilizó el valor del coeficiente determinativo de los modelos simples (Tabla 23), realizados para los tres factores significativos, con el objetivo de utilizar el concepto de este coeficiente como proporción de la varianza explicada por el modelo para hacer una aproximación a la responsabilidad, en cuanto a variabilidad de la duración de la gestación, de cada uno de los factores. Así el mes de cubrición explica casi el 17% de la varianza total, mientras el tipo racial y año de cubrición en torno al 4-4,5%. De manera independiente y a pesar de no haber sido significativo se evaluó el coeficiente determinativo del efecto código hijo (Tabla 24). El apreciable valor en torno al 7% encontrado sólo se puede justificar por la complejidad del factor, que al distribuirse en numerosos niveles dota al modelo de recursos matemáticos para explicar una mayor proporción de la variable del experimento sin alcanzar la significación.

5.2.2. Intervalos de confianza.

Una vez obtenidos los estadísticos descriptivos para toda la población y para los distintos grupos, podemos disponer de unos intervalos de confianza de la duración de gestación (Tabla 25), que constituyen la primera premisa sobre la que definiremos las pautas de manejo reproductivo que posteriormente sugeriremos basadas en la alternancia de machos. En este sentido nos centramos en los intervalos globales, para toda la A.C.C., aunque si se trabajara con un rebaño exclusivo de cabras del tipo palmero podríamos definir una pauta de manejo distinta al resto ya que el intervalo de confianza es sensiblemente inferior (Tabla 26). En cuanto a los límites de confianza para el factor época de cubrición-parto, aún cuando aparezcan diferencias significativas entre los distintos niveles, consideramos que la interacción con el factor año y la dificultad para encontrar una explicación que avale esta diferencia, teniendo en cuenta que el test de homogeneidad de medias no nos aporta unos grupos distribuidos lógicamente de acuerdo con el fotoperiodo y la temperatura (Esquema 1), no aconsejan proponer un manejo reproductivo diferenciado basándonos en este criterio.

Desde el punto de vista práctico el límite de confianza del 95%, que está entre 142 y 158 días, nos marca un intervalo de 16 días entre los primeros partos y los últimos partos de un grupo de hembras cubiertas el mismo día. Por su parte

el límite de confianza del 99% marca un intervalo de 20 días entre los 140 y los 160 días de gestación. Ahora bien, la interpretación operativa de estos datos puede acortar sensiblemente estos intervalos de confianza, ya que las cubriciones de un grupo de hembras tendrá lugar a lo largo de un periodo de tiempo, el que esté el macho con las hembras, y con una distribución homogénea, si no hay efecto macho, o más o menos acumulada al principio si hay efecto macho (Chemineau, 1983), por lo que el día 158 después de la retirada del primer macho, teóricamente, no habrá habido un 2,5% de partos del total del grupo de hembras, sino un 2,5% de partos del número de hembras cubiertas el último día o sea un porcentaje prácticamente despreciable del total de los animales, con lo que parece lógico pensar que en la práctica no sea necesario establecer un intervalo tan largo para conseguir un poder discriminatorio suficiente.

5.3. Análisis de las pautas de manejo reproductivo.

Analizaremos por un lado los lotes en los que se ha trabajado con efecto macho y por otro en los que no.

Al margen de la efectividad que las pautas de manejo propuestas tengan sobre las asignaciones de paternidad, es fundamental que ninguna de ellas afecte negativamente la fertilidad final del rebaño, ya que para el ganadero este es un parámetro de capital importancia. Por otro lado es importante que los periodos de cubrición no se alarguen en exceso ya que esto dificultaría tanto el manejo reproductivo como la alimentación del ganado, así mismo es importante que los posibles intervalos establecidos entre la alternancia de dos machos consecutivos no produzca un corte excesivo en la paridera lo cual también complicaría el manejo del rebaño.

5.3.1. Análisis del manejo de los lotes con efecto macho

Este constituye el grupo de manejo más importante y del cual se dispone de mayor número de datos, dado que usar el efecto macho, en principio, estimamos permitiría discriminar mejor las filiaciones.

5.3.1.1. Valoración de la fertilidad global

Lo más destacable, desde el punto de vista descriptivo, que se aprecia en el estudio del comportamiento de los lotes son las importantes oscilaciones que se observan en los niveles de fertilidad entre lotes, alcanzando un máximo de un 100% y un mínimo de un 72% (Tabla 38), estando el valor medio en 88,7% (Tabla 39), este valor medio está dentro de los citados por otros autores para la A.C.C. (Cabrera y cols., 1998). Las referencias para otras razas, en este sentido, son muy escasas y están muy condicionadas por factores tan diversos como proporción de machos y hembras, tiempo de estancia de los machos, alimentación y época del año (Mellado, 1994; Robles y cols. 1994).

La desviación respecto a la media de los distintos lotes (Gráfico 5 y Gráfico 6) nos ponen de manifiesto como los niveles de fertilidad en aquellos lotes en los que intervienen dos machos, son claramente superiores a los niveles presentados por los lotes con un solo macho, independientemente del tiempo de permanencia, lo cual aparece refrendado por el análisis de la varianza hecho, que roza la significación ($p=0,063$) (Tabla 40). Posiblemente una ampliación de la base muestral nos confirmaría la tendencia y nos ofrecería unas diferencias estadísticas claras, por otro lado, en los lotes con dos machos no se aprecia diferencia significativa entre sí respecto a la fertilidad entre un manejo en el que los machos están un total de 28 días y otro en el que están 42, aún cuando en el segundo caso todas las hembras tienen dos oportunidades de ovular y en el primer caso sólo algunas. La explicación más evidente a este hecho es que la relación numérica entre machos y hembras con la que se ha trabajado es holgada por lo que no hace falta alargar el tiempo de cubriciones.

Estas últimas observaciones coinciden en parte con las hechas por Mellado (1994), el cual, en un extenso trabajo con datos de 3.945 cabras criollas en México, no aprecia diferencias significativas en la fertilidades obtenidas en rebaños cuyas hembras son expuestas al macho durante dos semanas, frente a otras que son expuestas cuatro semanas, no obstante hay que resaltar que en ambos casos las fertilidades son bajas estando entre un 60 y un 70%, así mismo tampoco encuentra diferencias significativas en la fertilidad (entre un 65 y un 80%) obtenida en función de la proporción entre machos y hembras, manejando desde proporciones de 1/20 hasta 1/50, siendo la duración de los apareamientos entre tres semanas y un mes. Robles y cols (1994) con un lote de 20 cabras y cuatro semanas de periodo de cubriciones encontraron una

fertilidad del 70% lo cual abunda en esta línea.

Hay que destacar que en todos estos casos se obtienen datos de fertilidad bajos, posiblemente por los sistemas de producción donde se engloban, y que es lógico pensar que conforme los sistemas de producción se optimizan y las fertilidades aumenten los factores de variación, tiempo de estancia de los machos y relación machos-hembras, incidan de forma más marcada sobre la fertilidad. Por otro lado Ciudad y cols. (2000), trabajando con ganado ovino, estudian los resultados reproductivos obtenidos en el celo siguiente a la inseminación artificial, de forma que de 2249 animales inseminados quedaron preñadas sólo 1068 y el resto pasó a ser fecundada mediante monta natural colocando las hembras con los machos entre los días 4 y 7 después de la inseminación artificial y permaneciendo con estos 15 días, posteriormente analizan la correlación entre el número de machos existentes en las explotaciones y las fertilidades obtenidas; los resultados de este estudio establecen la correlación positiva entre ambos parámetros aunque no de forma proporcional ya que por cada 1% que aumenta el porcentaje de machos, habiéndose comparado entre el 1% y el 4%, o sea relaciones entre 1/25 y 1/100, la fertilidad aumenta tan sólo un 0,1, no aportándose datos de proporciones inferiores a 1/25 que tendrían más similitud con nuestro caso, no obstante parece lógico pensar que a proporciones menores los aumentos de fertilidad serían mínimos.

5.3.1.2. Distribución de la secuencia de partos.

Analizando la distribución de los partos de los grupos de hembras a lo largo del tiempo, observamos distintos comportamientos en función del manejo al que han sido sometidos.

En los tres lotes en los que han intervenido dos machos y ha habido un intervalo de 10 días entre machos (Tabla 28, Tabla 29 y Tabla 30) siendo el periodo total de cubriciones de 52 días, se aprecian dos hechos muy significativos, por un lado que el corte en la secuencia de partos es muy superior al intervalo entre machos, 35 días para el Grupo A, 33 para el Grupo B y 22 para el Grupo C y por otro lado que la mayor parte de los partos se producen por cubriciones que tienen lugar en los primeros días de estancia de las hembras con los machos, este hecho se aprecia claramente en el Gráfico 2 (si consideramos como duraciones de gestación más frecuentes entre 148 y

153 días), por lo que parece evidente que el efecto macho concentra los celos de las hembras de la A.C.C., con actividad cíclica, en los primeros días, tal y como describe Chemineau (1983) para cabras Criollas. En los lotes B y C la discriminación entre padres es total no dando lugar a crías de paternidad dudosa, a pesar de que teóricamente el límite, para un 95% de confianza, que nos ofertaban los estadísticos descriptivos era de 16 días. En el lote A hay un parto el día 1/12/96 que puede ser atribuible tanto al primer semental como al segundo ya que en caso de ser la cría hijo del primero la madre habría tenido una duración de gestación de 156 días y en caso de ser hijo del segundo la duración hubiera sido de 145 días, ambos datos perfectamente factibles y con probabilidades similares en las colas de la distribución normal. Este sería el caso típico para hacer un test de paternidad con marcadores genéticos. Por tanto en esta experiencia, dado que se ha trabajado con un total de 53 hembras, la paternidad dudosa representa un 1,88%.

En el caso de los cuatro lotes en los que hubo un intervalo de 7 días entre machos y el primer macho sólo estuvo 7 días (Tabla 31, Tabla 32, Tabla 33 y Tabla 34) se ha buscado ver el comportamiento en cuanto a fertilidad, agrupación de la paridera y discriminación de paternidad acortando la época de cubriciones a 35 días. Los resultados muestran como, igual que en el caso anterior la paridera se concentra al principio como consecuencia de los primeros días de cohabitación, sin embargo la capacidad de discriminación entre machos es menor (Gráfico 3), aunque significativa, y en todos los casos hay una interrupción en la distribución secuencial de los partos que va desde los 11 días del Lote D a los 15 días del lote G en gran parte debido a que el efecto sincronizador del primer macho se manifiesta 21 días después en el segundo (Chemineau y cols., 1993) alargando el intervalo previsible, de una semana, en la secuencia de partos.

Si analizamos cada grupo por separado vemos que cada uno ha ofrecido un nivel de discriminación distinto, así en el Lote D los partos que tienen lugar en los días 31/1/97, 3/2/97 y 4/2/97 pueden ser atribuibles al primer padre con duraciones de gestación de 150, 153 y 154 días respectivamente si la cubrición hubiera tenido lugar el último día de permanencia de este macho con las hembras o bien ser atribuibles al segundo con duraciones de gestación de 143, 146 y 147 si la cubrición hubiera tenido lugar el primer día de permanencia de éste, en principio podría parecer que la duración de 143 es más improbable que la de 150, por lo que apunta más hacia el primer semental aunque sin que podamos ser categóricos al respecto, en cuanto a las otra dos fechas ambas

posibilidades parecen igualmente factibles. Analizando el Lote E vemos que aquí sólo se plantea una remota duda de la filiación en el parto acaecido el 30/1/97 que en caso de ser del segundo macho tendría, en el supuesto de que la madre hubiera sido cubierta el primer día de inclusión de este macho, una duración de gestación de 142 día, parece mucho más lógico pues asignar la paternidad al primer semental ya que estaríamos hablando de duraciones de gestación mucho más centradas en torno a la media. En el caso del Lote F siguiendo argumentaciones similares se podrían plantear dudas en los partos de los días 31/1/97, 1/2/97 y 4/2/97, en cuanto al lote G la duda surgiría con el parto del día 4/2/97. Teniendo en cuenta que con este manejo hemos trabajado con 47 animales y hemos tenido 7 paternidades dudosas (un 14,8%) no parece que en principio sea esta una pauta adecuada para su aplicación a pesar de que, como vemos, no disminuye la fertilidad y se concentra la paridera.

En cuanto a los rebaños que solo estuvieron con un semental (Tabla 35, Tabla 36 y Tabla 37) se confirma también una agrupación de partos más o menos seguidos al principio de la paridera (Gráfico 4) y, sobre todo en el Lote I, como las hembras que no fueron cubiertas o no quedaron preñadas durante el primer celo manifiestan el efecto sincronizador en el segundo celo dando lugar a un corte claro de la secuencia de partos entre los días 15/11/97 y 13/12/97.

En relación con este aspecto de intervalos de confianza entre machos y análisis estadísticos de la duración de gestación con fines aplicados, nos encontramos con un vacío patente de referencias bibliográficas en la especie caprina, no obstante tanto en la especie bovina como en la ovina aparecen algunas referencias puntuales de indudable interés, aunque en ningún caso se ciñen a nuestro modelo de discusión pormenorizada, limitándose a aportar un marco metodológico sobre el que operar.

En el caso del ganado vacuno, Elsen y Poivey (1986), trabajando en el trópico, en rebaños en extensivo, se plantean el problema de las asignaciones de paternidad como un cálculo de probabilidades en función de la duración de cuatro parámetros variables: periodos de cubrición (d), en los cuales las hembras estarán en contacto con un solo macho, intervalos de confianza (r), en los cuales las hembras estarán solas y que a su vez se corresponderán con series de periodos de partos (a) e intervalos entre los mismos (s) y esto a su vez lo relacionan con la ganancia genética esperada al subsanarse los errores en las asignaciones de paternidad. Por otro lado Pastor (1997) trabajando con

ganado retinto, haciendo un estudio previo de la duración de gestación sobre 613 periodos gestacionales y sus factores de variación, establece un intervalo de 23 días entre el uso de uno y otro macho para poder determinar la filiación de las crías con un 95% de confianza.

En cuanto a ganado ovino Boixo y cols. (1997) establecen un intervalo de 10 días para poder discriminar correctamente la asignación de paternidades. En este caso para determinar la duración de gestación se valoraron datos de 1.868 ovejas de raza Churra fecundadas mediante inseminación artificial. El intervalo de confianza se establece entre la fecha de la inseminación artificial y la posterior introducción de machos en los lotes de ovejas y, según los autores, sería susceptible de ser acertado si no fuera por la aparición de ciclos cortos y de ovejas que no han respondido a la sincronización de celos. Por su parte Ponz y cols. (2000) hacen un análisis estadístico de la duración de la gestación en la raza Rasa Aragonesa para verificar la validez del criterio empírico seguido por la Asociación Nacional de Ganaderos de Rasa Aragonesa, según el cual se consideran como partos provenientes de la inseminación artificial los que tienen lugar entre los 135 y los 157 días después de la misma, teniéndose en cuenta que las hembras están 7 días sin machos después de la inseminación artificial antes de ser puestas de nuevo en contacto con éstos, para proceder a la monta natural y que la media de la duración de gestación la establecen en 150 días; las conclusiones que aportan los autores del trabajo invalidan estos criterios considerando, con un 95% de confianza, como gestaciones atribuibles a la inseminación artificial tan sólo las de las hembras que paren antes de los 151 días después de ésta, ya que la duración media de gestación obtenida está en torno a los 147 días, y no en torno a los 150 días como empíricamente se daba por sentado, con lo cual se demuestra, en un caso práctico, la gran utilidad que tiene el estudio estadístico riguroso de la variable duración de la gestación en cada raza, como herramienta de base en el control de paternidad.

5.3.1.3. Análisis del efecto del manejo global del lote sobre la fertilidad de las hembras

La correlación entre los porcentajes de fertilidad alcanzada y el número de hembras que intervinieron y el tiempo de exposición del primer macho (Tabla 41) no demostró una regresión significativa, indicando la independencia estadística de estas variables sobre el parámetro indicador, lo cual corrobora

que la fertilidad alcanzada es independiente del tamaño del lote de hembras (cuando este tiene un umbral de límites razonables) y del tiempo de exposición a los machos (cuando este tiene también un valor razonable), por tanto podemos pensar que manteniendo los límites adecuados no son factores preocupantes.

En el caso de la correlación entre la fertilidad alcanzada y el tiempo de estancia del total de los machos por lote y el número de hembras que intervinieron (Tabla 42), se obtienen unos coeficientes de regresión iguales para el número de hembras y la fertilidad, e inferiores para fertilidad y tiempo total de estancia de los machos, lo cual ratifica lo expuesto previamente.

5.3.1.4. Análisis del efecto del manejo de cada macho sobre la fertilidad de las hembras.

En los estadísticos descriptivos destaca como la media de la fertilidad obtenida de los primeros sementales que actuaron durante 7 días (Tabla 45) es sólo 4 puntos inferior a la obtenida por aquellos que actuaron durante 21 días (Tabla 46), no existiendo ninguna correlación destacable entre las variables analizadas, este hecho, muy interesante y significativo, podría ser explicado por varios factores que concurren de forma simultánea. El primero de ellos es que los lotes de hembras donde los machos han estado 21 días tienen una media de 17,4 animales, frente a 12 en los que han estado 7 días, por lo que esta circunstancia podría incidir en la capacidad fecundante del macho, no obstante en ambos casos las proporciones se encuentran holgadamente dentro de lo que en la bibliografía general se considera como adecuado y ratificado por diversos autores (Zygoyiannis y cols, 1989; Robles y cols, 1994; Mellado y cols 1994), lo cual nos inclina a pensar que aunque este factor pudiera tener importancia, por si solo no condicionaría la fertilidad de los lotes. No obstante cabe la posibilidad de que el macho agote parte de su capacidad fecundante repitiendo sobre las mismas hembras tal y como describen Febles (1995) y Tilbrook (1984), esta circunstancia repercutiría de forma más contundente en los rebaños donde la relación macho-hembras fuera mayor ya que el efecto acumulador de celos del efecto macho sería igual en ambos casos.

Son de destacar los datos que aporta la Tabla 47 respecto a la fertilidad obtenida por los segundos machos la cual es sólo de un 76,04%, a pesar de que todos ellos permanecieron con las hembras durante 21 días y que la proporción media fue de 3,4 hembras por macho. Esto nos hace incorporar en juego otro factor más y es el propio factor hembra, en cuanto a que siempre hay un número indeterminado de animales que no quedan preñadas por problemas intrínsecos, al margen del tiempo de permanencia de los sementales y de las proporciones entre sexos.

5.3.1.5. Análisis del efecto macho en cada lote en función de la fertilidad obtenida y de la secuencia de partos observada y esperada.

Nuestro planteamiento inicial en este diseño fue utilizar las técnicas estadísticas de ajuste de distribución para ratificar la existencia de efecto macho, utilizable para realizar previsiones en cuanto a la secuencia de cubriciones y por tanto a la de partos, aplicables a las adjudicaciones de paternidad.

Los resultados obtenidos mostraron como las fertilidades esperadas y las observadas correspondientes al efecto macho del primer semental presentan un nivel de asociación elevado (Tabla 49), de forma que la diferencia entre ambas es sólo de 5, de un total de 159 animales. Sin embargo en el análisis pormenorizado lote a lote, utilizando los tests de ajuste Ji^2 entre las frecuencias observadas y esperadas para las tres categorías establecidas, se aprecia una importante disparidad entre los resultados de cada lote (Tabla 50), yendo desde un ajuste total para el Lote I/17 hasta ajustes muy bajos para el Lote G/10, aunque en general predominan los niveles bajos. También el Lote Suma (Tabla 51) tiene un nivel de ajuste muy bajo. Estos últimos datos contrastan con el nivel de asociación elevado entre lo observado y lo esperado que refleja el efecto macho del primer semental, de forma que el desajuste de la distribución de partos tiene lugar principalmente después del efecto macho. En este sentido posiblemente también intervengan los anteriormente citados factores intrínsecos de las hembras distorsionando la respuesta teórica esperada, tanto para el resto de cubriciones del primer macho como para las del segundo. En cualquier caso, y al margen de la corrección estadística, la

observación directa de los datos nos revelan una coherencia indudable en la distribución de partos obtenida respecto a la esperada.

5.3.2. Análisis del manejo de los lotes sin efecto macho.

Con estos modelos se pretendía por un lado verificar la fertilidad de unos lotes con una relación macho-hembra (1/25 y 1/28) más ajustada que en el resto de los lotes, y por otro lado valorar de que forma la respuesta ovular paulatina de las hembras sin efecto macho podría aumentar los porcentajes de fertilidad, aunque este hecho pudiera ir en detrimento del valor discriminatorio del intervalo de confianza en la secuencia de partos.

El relativo fracaso en los resultados (Tabla 52), debido a la apatía sexual manifestada por el segundo macho del Lote X, ha impedido hacer conjeturas sólidas al respecto, no obstante los datos parciales permiten hacer observaciones de interés. Por un lado el único macho funcional del Lote X consiguió fecundar 19 hembras en 21 días del total de 50 disponibles lo que supone un 76% de las 25 que teóricamente le correspondían, lo cual es un porcentaje similar a la media del resto de los lotes donde los machos permanecieron durante 21 días con las cabras, siendo el número absoluto de animales fecundados superior a todos los demás, esta observación está en la línea de lo ya comentado respecto a la no correlación entre fertilidad y proporción de machos y hembras siempre y cuando éstas se mantengan dentro de lo admitido para la especie. Por otro lado el Lote Y manifestó una fertilidad, con los dos primeros machos baja (57,1%), pero incluso si valoramos la fertilidad obtenida incluyendo el tercer grupo de machos, ésta sigue siendo relativamente baja (78,5%) si tenemos en cuenta que aquí el tiempo total de cohabitación de machos y hembras es de 63 días y la relación macho/hembra es de 1/11, máxime si añadimos el efecto estimulante que tiene la interacción y el antagonismo entre machos sobre la actividad sexual de los mismos (Fowler, 1984; Febles, 1995). Todos estos hechos apuntan, en este caso, a problemas de infertilidad intrínseca más relacionados con la fisiología reproductiva de las hembras que a las pautas de manejo en sí mismas. En cualquier caso los datos de fertilidad obtenidos para los primeros machos de los dos grupos sugieren a trabajar con relaciones macho/hembra menos ajustadas y que podrían ser del orden de 1/20.

Respecto a la distribución de la secuencia de partos, a pesar de que los machos y las hembras estaban alojados muy cerca y con contacto olfatorio continuo, que en principio es el estímulo que se considera básico para desencadenar el efecto macho (Claus y cols., 1990; Restall, 1992), se observa (Gráfico 7), valorando los dos grupos conjuntamente, una frecuencia de partos muy elevada en los primeros días de la paridera de forma que el 86,1% de los partos atribuibles a los primeros machos tienen lugar durante los 11 primeros días de la misma, lo cual sólo puede ser achacable al efecto macho, esta observación está en sintonía con lo observado por Walkden-Brown y cols. (1993 a,b) en ovino, que destacan el hecho de que la mera exposición a estímulos olfatorios desencadena un nivel de efecto mucho menor que el pleno contacto, en el cual inciden la actividad del macho, la simpatía entre hembras, el tiempo de estancia y otros factores que modulan la respuesta de las hembras. Este último aspecto lo consideramos de especial interés ya que en la práctica tal vez sólo debamos considerar como presencia del macho el pleno contacto físico, por lo que siempre que introduzcamos un macho en un rebaño de cabras habrá un nivel mayor o menor de efecto macho.

En cuanto a los partos atribuibles al segundo macho del Lote Y (el único de los segundos machos que tuvo actividad), volvemos a observar ese mismo efecto acumulador al principio, posiblemente debido a un segundo efecto macho, aunque este hecho discrepe con el concepto formal de efecto macho (Restall, 1992).

Respecto a la discriminación de paternidad observamos como en caso del Lote Y la eficacia es prácticamente total, ya que los primeros partos después del intervalo de confianza tienen lugar a los 163 días de la retirada del primer macho, por lo que sería muy improbable que fueran descendientes de ese animal. Lo lógico es atribuirlos al segundo macho ya que supondría que los partos han tenido lugar a partir de los 153 días después de la introducción del mismo. Para el caso del Lote X no se pueden plantear estas disquisiciones ya que el segundo macho no manifestó actividad sexual, no obstante vemos como hay un grupo de partos a los 150, 151 y 152 (Gráfico 7) después de la retirada del primer macho, en el hipotético caso de que el segundo semental hubiera tenido actividad, el fruto de estos partos podría haber sido atribuido a éste con duraciones de gestación entre 141 y 143 días, lo cual, aunque no probable, podría ser posible, por lo que hubiera habido que tenerlo en cuenta.

5.4. Análisis del estudio de marcadores microsatélites en la A.C.C.

En este estudio básicamente se ha buscado valorar, en la A.C.C., una batería concreta y contrastada de microsatélites que nos sirvan como herramienta eficaz en la asignación de paternidades dudosas, después de haber aplicado unas pautas específicas de manejo reproductivo. Dado el carácter eminentemente aplicado se ha recurrido a un sistema multiplex con detección de los polimorfismos mediante fluorescencia y genotipificación automática, propuesto por Bragança y cols. (1999) para rumiantes domésticos en general.

Los sistemas multiplex están constituidos por grupos de microsatélites cuyos criterios de selección están basados en tener requerimientos similares para la coamplificación y la coelectroforesis (Glowatzki-Mullis y cols.,1995). Son muchos los autores que citan estos sistemas como ideales por su eficacia laboratorial y por su gran capacidad de resolución de paternidades dudosas (Ron y cols. 1996; Bates y cols; 1997; Heyen y cols 1997) o para evaluar variabilidad genética entre razas (Peelman y cols 1998; Saitbekova y cols 1999), siendo su principal limitación práctica el disponer o no de un secuenciador automático.

En nuestro caso, por problemas en la optimización de la técnica para cada caso concreto, sólo se consiguieron amplificar siete de los diez microsatélites con los que se inició el trabajo (Tabla 54). Señalar que Pépin y cols (1995) testan para amplificación un panel de 70 microsatélites bovinos con DNA de caprino, entre los que se encontraban los microsatélites ILSTS05 y ILSTS11, no consiguiendo amplificarlos.

El grado de polimorfismo obtenido en los distintos marcadores estudiados es similar y guarda, a *grosso modo*, cierta correlación con el obtenido en ganado vacuno para los mismos, este hecho, que parece ser casual, dado que además en gran medida no coinciden los alelos, contrasta con la observación hecha por Kemp y cols. (1995) quienes buscando un panel de marcadores que fueran polimórficos en las especies bovina, ovina y caprina, encuentran que no hay correlación entre el polimorfismo de los microsatélites de las tres especies, así como que tampoco hay una tendencia significativa a que los marcadores que en bovino manifiestan un PIC mayor sean también más informativos en ovino y en caprino.

En cuanto a los resultados obtenidos en ganado caprino para estos marcadores nos remitimos a los únicos datos bibliográficos que hemos encontrado (Bouzada y cols. 2000). Estos autores, operando con la misma batería de microsatélites que nosotros, hacen un estudio de variabilidad genética de la Cabra Blanca Celtibérica a partir de un grupo de 350 animales de 5 ganaderías diferentes y obtienen, en general, unos niveles de polimorfismo muy superiores a los obtenidos por nosotros y también a los referidos para la especie bovina (Tabla 60).

Tabla 60. Número de alelos descritos para la A.C.C., la raza caprina Celtibérica y para ganado bovino.

MARCADOR	NÚMERO DE ALELOS		
	Cabra Canaria	Blanca Celtibérica	Bovino
BM6526	9	13	8 (Bishop y cols.,1994)
BM8125	5	7	6 (Bishop y cols.,1994)
CSSM031	7	16	5 (Moore y cols.,1995)
ILSTS005	4	7	4 (Brezinsky y cols.,1993a)
ILSTS011	5	11	5 (Brezinsky y cols.,1993c)
CSSM066	8	31	5 (Moore y cols.,1995)
MCM53	9	11	9 (Smith y cols., 1995)

Saitbekova y cols. (1999), en un estudio de diversidad genética de las razas caprinas suizas, basado en análisis de microsatélites, describe 6 alelos para el marcador ILSTS005.

Las frecuencias alélicas obtenidas por nosotros corresponden a un grupo de 117 animales de origen heterogéneo de los tres tipos raciales, en el que predomina el tipo tinerfeño que aporta el 63,7% de las muestras, frente a un 21,2% del tipo palmero y un 15,1 del tipo majorero. Si comparamos estas frecuencias con las descritas para Blanca Celtibérica (Bouzada y cols. 2000) nos encontramos con grandes diferencias, hasta el punto que en ningún marcador coinciden los alelos más frecuentes de los dos tipos raciales, esto, junto con la diferencia en el número de alelos, induce a conjeturar que la diferenciación genética entre ambos es alta, lo cual por otro lado es totalmente lógico, dada la separación geográfica, climatológica y de manejo existente, de forma que se han configurado animales cuyas características morfofuncionales son totalmente distintas. En este sentido también hay que tener en cuenta que siempre vamos a encontrar diferencias entre las lecturas y las denominaciones alélicas entre distintos laboratorios, de forma que sólo podrían coincidir

totalmente si hubiera habido un acuerdo previo al respecto.

Aunque en el trabajo de Bragança y cols (1999) no se aportan las frecuencias alélicas obtenidas, si que se aportan el PIC y las PE para cada marcador siendo (Tabla 61) en general superiores a las nuestras.

Tabla 61. Resultados obtenidos por Bragança y cols. (1999)

Locus	PIC	PE
BM6526	0,819	0,826
CSSM31	0,886	0,713
MCM53	0,853	0,614
BM8125	0,754	0,613
ILSTS011	0,687	0,530
ILSTS005	0,771	0,525
CSSM66	0,852	0,528
PEC		0,994

En principio parece contradictorio que las PE manifestadas por esos autores sean superiores a las obtenidas en este trabajo (Tabla 55), ya que provienen de tan solo 54 muestras de un único rebaño de cabras de raza Saanen por lo que, a priori, la variabilidad debería ser menor a la obtenida de 113 muestras de un colectivo animal menos seleccionado y de tres tipos raciales como es nuestro caso, no obstante hay que tener en cuenta que parte de las muestras provienen de animales emparentados, como es el rebaño de Palmeras.

Destacar que la probabilidad de exclusión de un marcador no depende sólo del número de alelos que posea sino también de la distribución de las frecuencias alélicas (Chakraborty y cols. 1988), de forma que marcadores con ocho alelos, como es el caso del CSSM66 dan probabilidades de exclusión menores que otros con siete y cinco como el CSSM31 y el BM8125 respectivamente.

En cuanto a la $PEC=0,991$ manifestada por los siete marcadores que se han conseguido amplificar en este trabajo resulta sensiblemente inferior a la obtenida por Bragança y cols. (1999), $PEC=0,999$, para los diez microsatélites de la batería que proponen, no obstante si calculamos la PEC solamente de los siete microsatélites que nosotros hemos conseguido amplificar (Tabla 61), vemos que ésta es de 0,994, la cual, aunque todavía superior a la obtenida en el trabajo que nos ocupa, se encuentra mucho más cercana.

Por su parte Giménez-Gamero y cols. (1997) trabajando con cinco microsatélites ya descritos en cabra (SR-CRSP-1, SR-CRSP-5, SR-CRSP-8, SR-CRSP-9, INRA011), en una PCR multiplex, obtienen en raza Murciano-Granadina una PEC de 0.990 y consiguen dilucidar 25 parejas madre-hijas erróneamente atribuidas de un total de 250, que en principio se consideraban correctamente asignadas ya que la estructura de los cruces era conocida. Esta circunstancia es muy ilustrativa respecto a que los errores afectan no sólo a las asignaciones de paternidad sino también de maternidad. Estos autores, en la misma publicación, detallan las secuencias flanqueantes de nueve nuevos microsatélites encontrados (CHIRUCO1 a CHIRUCO9) y suponen que cinco de esos nueve pueden ser hipervariables, por lo que una vez rastreadas las poblaciones para un total de 10 loci estiman que la PE podría superar el valor de 0,999.

En cualquier caso probabilidades de exclusión conjunta de los niveles obtenidos, tanto por nosotros como por los otros autores citados, parecen más que suficientes para hacer discriminaciones entre dos posibles padres.

5.5. Análisis de los resultados obtenidos de las asignaciones de paternidad en el modelo piloto.

Dado que el sistema que se ha diseñado y que sirve de base para el manejo reproductivo se trata de un sistema de alternancia de machos, el hecho de la exclusión de un posible padre implica de forma automática la confirmación del otro.

En cuanto a las asignaciones de paternidad por fecha de parto, quedarían asignados al primer macho (2609) todos los partos que han tenido lugar antes del día 15/12/97 (Tabla 56) ya que el inmediatamente anterior, de fecha 6/12/97, en caso de ser asignado al segundo macho (0074) tendría una duración de gestación de 140 días. Sin embargo el parto que tuvo lugar el día 15/12/97 puede ser atribuible a ambos machos de forma que, en caso de ser asignado al primero la madre debió haber sido cubierta el último día de permanencia y la duración de gestación de 157 días, circunstancia ésta bastante improbable, de acuerdo con los intervalos de confianza obtenidos, pero posible, o bien ser atribuible al segundo con duraciones de gestación en torno a la media, lo cual parece más factible.

De los resultados obtenidos con los microsátélites (Tabla 58) se desprende que todas las paternidades han quedado confirmadas de acuerdo con lo esperado en función de la secuencia de partos, siendo el parto del día 15/12/97 (hembra 3527) confirmado para el segundo padre. En este sentido hay que destacar la exclusión de paternidad en cuatro sistemas familiares donde las madres causaron baja antes de poder obtener muestra de sangre, esta posibilidad, la determinación de la paternidad sin genotipificar la madre, que en nuestro caso es accidental, y sus connotaciones económicas es ampliamente estudiada por Ron y cols. (1993) y Ron y cols. (1996).

En los cuatro casos de nuestra experiencia el marcador CSSM66 fue decisivo en la exclusión ya que es homocigoto (alelos G G) en el padre 0074 y en el otro padre es heterocigoto (alelos E S) no compartiendo ningún alelo (Tabla 57), también en general este marcador ha sido el que mayor grado de discriminación ofertó tal y como aparece reflejado en la Tabla 59. Es interesante destacar como los dos microsátélites que *a priori* parecían más interesantes, el BM6526 y el MCM53, con las PE mayores (Tabla 55), no han sido excluyentes en ningún caso, ya que se ha dado la circunstancia de que el MCM53 presentaba idénticos alelos en homocigocis en ambos padres (alelos O O) y que en el BM6526 los machos compartían el alelo S, siendo los otros dos el Q y el R, que son los tres más frecuentes en este microsátélite. Estos hechos circunstanciales no merman la capacidad discriminatoria atribuible a estos microsátélites.

Aunque este tipo de apreciaciones se encuentren fuera del ámbito de esta tesis, es importante destacar como el número de alelos y la frecuencia de estos encontradas en el total de la base muestral, constituida por animales de los tres tipos raciales, no se corresponde con las encontradas en el modelo piloto, que estaba constituido exclusivamente por animales del tipo racial palmero, siendo el microsátélite MCM53 el más representativo de esta circunstancia ya que en el total de los animales se detectaron nueve alelos y en el tipo racial palmero tan solo cuatro. Estos hechos nos llevan a hacer dos consideraciones, i) la primera es que por este motivo la realidad de la capacidad de exclusión de los microsátélites en el modelo piloto no se corresponde con las PE que se obtuvieron para el total de la muestra, ii) la segunda que, ampliando toda la base muestral y haciéndola más equilibrada para los tres tipos raciales, se podría calcular la distancia genética para determinar el grado de variación entre

las tres poblaciones (Nei 1972; Takezaki y Nei, 1996), lo cual permitiría matizar objetivamente las diferencias que distintos autores encuentran entre los tres tipos raciales a niveles tanto morfológicos y productivos como inmunogenéticos, tal y como aparece documentado en una amplia revisión bibliográfica realizada por Capote (1999), donde se citan y describen las investigaciones llevadas a cabo en la A.C.C., por distintos autores, a lo largo del tiempo.

Haciendo una breve referencia a los aspectos económicos del control de paternidad, mediante la utilización de una batería de microsátélites, nos encontramos con que los errores en la asignación de paternidad tienen una repercusiones negativas graves y contrastadas en la ganancia genética de los modelos en los cuales el modelo de evaluación a utilizar sea el modelo animal (Gelderman y cols., 1986; Wiggans y cols., 1988). Según la revisión hecha por Ron y cols. (1996) nos encontramos con que los errores en las asignaciones de paternidad observadas por distintos autores para ganado vacuno de leche europeo oscilan entre un 4 y un 30%. Estos mismos autores trabajando con ganado Holstein Israelí asumen un 5% de error en la asignación de paternidad y proponen una metodología mediante una batería de 12 microsátélites en la que sólo se genotifican los sementales y la descendencia, con lo que los costos se reducen significativamente. Barajando estas premisas y teniendo en cuenta los beneficios adicionales obtenidos por una asignación rigurosa de la paternidad demuestran la rentabilidad del sistema en 10 años.

En nuestro caso, aunque no podemos establecer un paralelismo estricto con los estudios hechos para ganado vacuno, dado que el valor económico unitario de la productora bovina es muy superior al de la productora caprina, sí que podemos hacer otro tipo de consideraciones que matizan este hecho, i) la ausencia total en Canarias de inseminación artificial en la práctica, ii) los sistemas de monta natural habitualmente practicado por el cabrero en Las Islas (Machín y Santiago 1997; Mata y Bermejo, 1999 a y 1999b; Melián y cols 1991) suelen pasar por simultanear dos o más machos con las hembras, estas dos circunstancias dan lugar a que los porcentajes de error en las asignaciones de paternidad, normalmente mediante criterios subjetivos, sean mucho mayores a los datos aportados para ganado vacuno. Si a esto le sumamos el que el modelo propuesto en el Plan de Mejora de la A.C.C. (Delgado, 1999), se fundamenta en el establecimiento de un sistema de machos de referencia, que conecte genéticamente los distintos rebaños que participen en el programa de selección y el que la ganadería caprina representa en Canarias el 30,4% del

producto final ganadero aportando 7.512 millones de pesetas al año (CAPA, 1999), es fácil comprender la importancia económica que en esta agrupación caprina puede llegar a tener un sistema fiable y factible de control de filiaciones.

5.6. Consideraciones finales.

Una vez establecidas las premisas y el marco en el cual se ubica el presente trabajo la propuesta final aplicada que podría emanar del mismo, de cara a optimizar el control de paternidad, sin que ello repercuta negativamente ni en la duración de la época de partos ni en el nivel de fertilidad del rebaño, sería la de establecer un manejo con efecto macho por lotes en principio no superior a 40 hembras, en el que se pusiera en práctica un sistema de alternancia de machos en el que el primer macho permaneciera con las hembras durante 7 - 10 días, posteriormente se estableciera un intervalo de confianza de 10 días y por último que el segundo macho permaneciera durante 21 con las hembras. La verificación de las crías de paternidad dudosa se llevaría a cabo mediante microsatélites con técnicas multiplex.

De cara a la puesta en práctica de este modelo de manejo y recogiendo la lógica inquietud del ganadero ante la posibilidad de que disminuya la fertilidad del rebaño, puede plantearse un tercer periodo de cubriciones ya con varios machos y previo un intervalo de confianza de al menos 16 días, cuyo producto, que en principio no debe de ser superior al 15% del total, quede excluido del plan de mejora dada la incertidumbre de su filiación.

6. CONCLUSIONES.

6.1. Estudio de la duración de la gestación en la A.C.C.

- La duración media de la gestación en nuestra agrupación racial está dentro de los márgenes superiores para la especie caprina, concordando con lo esperado de acuerdo con la talla de los animales, cercana a la hipermetría.
- Dentro del factor de variación tipo racial, el tipo Palmero tiene una duración media de gestación significativamente superior a la de los tipos raciales Majorero y Tinerfeño, lo cual debe de ser tenido en cuenta, cuando se trabaje con ese tipo racial, a la hora de plantear pautas de manejo reproductivo en las que se pretenda hacer discriminación de paternidad a través de la alternancia de machos.
- El resto de factores de variación estudiados (mes de cubrición, año de cubrición, tamaño de la camada, código hijos, edad de la madre) no tienen repercusión en la propuesta práctica de pautas de manejo, bien porque no son significativos o bien porque no son predecibles.

6.2. Manejo reproductivo.

- Las pautas de manejo reproductivo basadas en la alternancia de machos y los intervalos de confianza constituyen una herramienta de fácil manejo y gran eficacia en el control de paternidad, sin que haya una disminución significativa de la fertilidad ni un alargamiento de la paridera, siempre y cuando se haga correctamente.
- En el caso de trabajarse con ganado de tipo Palmero los intervalos de confianza discriminatorios son menores que para los otros tipos raciales, por lo que en la propuesta práctica este aspecto puede de ser tenido en cuenta a la hora de establecer el periodo de seguridad entre machos.

- En todos los casos se observa que los porcentajes de fertilidad obtenida en los grupos de hembras no está significativamente afectada ni por la relación macho/hembras, ni por el tiempo de estancia de los machos con las hembras, siempre y cuando ubiquemos estos parámetros dentro de márgenes lógicos admitidos para la especie.
- Los porcentajes de fertilidad obtenida son mayores para los rebaños sometidos a alternancia de machos, que para los sometidos a un manejo con un solo macho durante un mismo e incluso superior tiempo total de permanencia, con lo cual la alternancia de machos permite, por tanto, no sólo la asignación correcta de paternidad sino también acortar la paridera y aumentar la fertilidad.
- En todos los lotes de hembras el efecto macho ejerce un papel muy destacado, acumulando alrededor de las dos terceras partes de los partos al inicio de la paridera.

6.3. Marcadores microsatélites.

- La batería de microsatélites utilizada demuestra ser plenamente eficaz para la determinación de paternidades dudosas y asumible económicamente en el contexto del plan de mejora de la A.C.C., especialmente si se plantea asociada a las pautas de manejo reproductivo propuestas.

7. BIBLIOGRAFÍA

Agrawal K.P.; Sinha N.K.; Goel A.K. (1992). Reproduction behaviour in Indian goats. *Research on goats: Indian experience*. 82-93.

Alford R.L.; Hammond H.A.; Coto I.; Caskey C.T. (1994). Rapid and efficient resolution of parentaje by amplification of short tandem repeats. *American Journal of Human Genetics*. 55: 190-195.

Almeida J.; Silva M.; Pereira F.A. (1986). Factores de meio e genéticos que influem no desempenho reprodutivo de fêmeas Zebu e mestiças Chianina-Zebu. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 2: 133-141

Amigues Y.; Brathwaite L.; Pepin L.; Boscher M.Y. (1994). Use of microsatellites as an alternative to blood typing in goat parentaje control. *Proceedings XXIV International Conference on Animal Genetics*. Prague. (Abstract).

Amin F.M.; Simerl N.A.; Wilcox D.J. (1986). Genetic and enviromental effects upon reproductive performance of Holstein crossbreds in the Sudan. *Journal of Dairy Sciences*. 69: 1093-1097.

Amoah F.M. (1985). Goat production in the Pacific Region. *The South Pacific Agriculture Teacher*. 3 (4): 37-52.

Amoah E.A.; Bryant M.J. (1984). Effect of pattern of lighting and time of birth on occurrence of puberty in female goat kids. *Animal Production*. 38: 83-89.

Amoah E.A.; Gelaye S. (1990): Reproductive performance of female goats in South Pacific Countries. *Small Ruminant Research*. 3: 257-267.

Anderson A.B.M.; Pierrepoint C.G.; Griffiths K.; Turnbull A.C. (1972). Steroid secretion in the adrenals of fetal sheep in relation to natural and corticotropin-induced parturition. *Journal of Reprod and Fertility*. Suppl. 16: 25.

Aparicio F. (1973). Duración del periodo de gestación en la raza Merina Andaluza. *Archivos de Zootecnia*. 88: 1-11.

Aparicio J.B.; Subires J.; Flores A.J.; Herrera M. (1982). Índice de prolificidad y otros aspectos del área reproductiva en la raza caprina Malagueña. *Avances en Alimentación y Mejora Animal*. 23: 139-145.

Arroyo A.; González G. (1993). Consecuencias de la PAC y los apoyos específicos a la agricultura y ganadería en Canarias. Citado por Fresno M. (1993). Estudio de la producción láctea de la Agrupación Caprina Canaria. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.

Azzam S.M.; Nielsen M.K. (1987). Genetic parameters for gestation length, birth date and first breeding date in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 64: 348-356.

Arranz J.J.; Bayón Y.; San Primitivo F. (1996). Comparison of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle population. *Animal Genetics*. 27: 415 -419.

Bates S.; Holm T.; Van Haeringer H.; Lange K.; Ziegle J.; Heyen D.; Da Y.; Levin H. (1996). Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for automated parentage verification. *Proceedings XXV International Conference on Animal Genetics*. Tours. (Abstract).

Becerra J.J.; Díaz C.; García M.E.; Herradón P.G. (1994). Factores que inciden sobre la duración de la gestación en la raza Rubia Gallega. *Actas de las VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal*. Murcia. (Resumen).

Bhebbe R.A.; Kogi J.; Holder D.A.; Arévalo E.; Derr J.N.; Linn R.A.; Ruvuna F.; Davis S K.; Taylor J.F. (1994). Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphisms at the SR-CRSP-6, SR-CRSP-7, SR-CRSP-8, SR-CRSP-9 and SR_CRSP-10 loci. *Animal Genetics*. 25: 203.

Binns, M.M.; Holmes,N.G.; Holliman, A.; Scott, A.M. (1995a). The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thoroughbred parentage testing. *British Veterinary Journal*. 151: 9-5.

Binns, M.M.; Holmes N.G.; Marti, E.; Bowen, N. (1995b). Dog parentage testing using canine microsatellite. *Journal of Small Animal Practice*. 36: 493-497.

Bishop M.P.; Kappes S.M.; Keele J.W.; Stone R.T.; Sunden S.L.F.; Hawkins G.A.; Solinas S.; Fries R.; Grosz. M.D.; Yoo J.; Beattie C.W. (1994). A genetic linkage map for cattle. *Genetics*. 136: 619-639.

Biswas J.C.; Koul G.L. (1994). Note on gestational length of pashmina producing Himalayan Cheghu goats. *Indian Journal of Animal Health*. 33: 129-130.

Boixo J.C.; Anel L.; Anel E.; Alvarez M.; Dominguez J.C.; Olmedo J.A. y Kaabi M. (1997). Estudio de la distribución de partos en la oveja después de la inseminación artificial. *Avances en Alimentación y Mejora Animal*. Volumen XXXVII. 26.

Botstein D.; White R.L.; Skolmick H.; Davis R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 32: 314-331.

Bouzada J.A.; Lozano J.M.; Pérez E.M.; Jiménez-Gamero I.; Acero F.J.; Montoro V. (2000). Estudio de la variabilidad genética en una raza caprina en peligro de extinción: la Cabra Blanca Celtibérica. Actas de las XXV Jornadas Científicas y IV internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Teruel. 271-275.

Boza J. (1990). Sistemas de producción caprina en las zonas áridas del Sureste de la Península Ibérica. Simposio Internacional de la Explotación Caprina en Zonas Áridas. Terra Arida. 10: 23-35.

Bragança P.; Arranz J.J.; San Primitivo F. (1999). Diseño de un sistema multiplex para el control de parentesco en rumiantes domésticos. <http://www.etsia.upv.es/acteon/bragan/htm>

Brezinsky L.; Kemp S.J.; Teale A.J. (1993 a). ILSTS005 a polymorphic bovine microsatellite. Animal Genetics. 24: 73.

Brezinsky L.; Kemp S.J.; Teale A.J. (1993 b). Polymorphic bovine microsatellites. Animal Genetics. 24: 75-76.

Brouwers J.; Wagenaar N.; Cambisano N.; Marck F.; Dommerholt H. (1996). Measuring the incidence of parentage conflicts in the Dutch Black-and-White cattle population using the StockMarks® microsatellites. Proceedings XXV International Conference on Animal Genetics. Tours. (Abstract).

Browning R. Jr.; Leite-Browning M.L.; Neuedorff D.A.; Randel R.D. (1995). Preweaning growth of Angus (*Bos taurus*), Brahman (*Bos indicus*) and Tuli (Sanga) sired calves and reproductive performance of their Brahman dams. Journal of Animal Sciences. 73: 2558-2563.

Burckhardt J. (1994). Amplification of DNA from whole blood.. Cold Spring Harbor Laboratory Press. PCR Methods and Applications: 239-243.

Caballero J.R.; Carrión E.; Gómez M.P. (1994). Influencia de la edad de la primera cubrición, el número de inseminaciones y el sexo del ternero, sobre la duración de gestación de la primera gestación en un rebaño de vacas de raza Holstein Frisian. Actas de las VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal. Murcia. (Resumen).

Cabrera F.; González F.; Batista M.; Forga J.; Calero P.; Gracia A. (1998). Influencia de la edad y los factores ambientales sobre la producción seminal del macho de la Agrupación Caprina Canaria (variedad Majorera) a lo largo de todo el año. Actas de las XXIII Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Vitoria. (resumen)

Camacho M.E.; Mata J.; Delgado J.V.; Molina A.; Darmanin N.; Fresno M. (1995a). Análisis preliminares de la variabilidad del periodo gestacional en la Agrupación Caprina Canaria. Actas de las XX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Madrid. 119-126.

- Camacho M.E.; Delgado J.V.; Molina A.; Fresno M.** (1995b). Planificación de la mejora genética en la A.C.C. Actas de las XX Jornadas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Madrid. 179-186
- Camp J.C.; Wildt D.E. Howard P.K.; Stuart L.D.; Chakraborty P. K.** (1983). Ovarian activity during normal and abnormal length oestrus cycles in the goat. *Biology of reproduction*. 28: 673-681.
- Capote J.** (1989). Agrupación Caprina Canaria. Actas del I Simposio Internacional de la Explotación Caprina en Zonas Aridas. Fuerteventura. (Islas Canarias). 17-33.
- Capote J.** (1995). Agrupación Caprina Canaria: Investigaciones desarrolladas en el área de producción animal. Actas de las XXXV Jornadas de la Sociedad Española de Pastos y Forrajes. Tenerife. Ponencia. 61-74.
- Capote J.; Darmanin N.; Delgado J.V.; Fresno M.; López J.L.** (1992). Agrupación Caprina Canaria. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca.
- Capote J.; Delgado J.V.; Camacho E.; Darmanin . N.; Fresno M.** (1993). La ganadería tradicional en la Isla de La Palma: Razas autóctonas. Actas del I Encuentro de Geografía e Historia del Arte. T. III (Geografía). Ed. Excmo. Cabildo de La Palma. 160-172.
- Capote J.; Delgado J.V.; Fresno M.; Camacho M.E.; Molina A.** (1998). Morphological variability in the Canary goat group. *Small Ruminant Reserch*. 27: 167-172.
- Capote J.** (1999). Efecto de la frecuencia de ordeño en las características morfológicas, productivas y de facilidad de ordeño en cabras de la Agrupación Caprina Canaria. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran canaria.
- Carmenate C.** (1977). Estudio de algunos parámetros del ciclo reproductivo en la especie caprina de las razas Saanen y Toggenburg. *Revista Cubana de Reproducción Animal*. 26(2): 441-452.
- Carnevali F.; Castrignano F.; Capozzoni A.; Misiti S.** (1994). Osservazioni sull'effetto maschio nella capra d'Angora. XI Congresso Nazionale. Societa Italiana di Patologia e di Allevamento degli Ovini e dei Caprini. 351-354.
- Carracedo A., Huguet E., Barros F.** (1988). Introducción a la investigación biológica de la paternidad. Publicaciones del Seminario Pere Mata de la Universidad de Barcelona. 171-186.
- Cha R.; Thilly W.** (1993). Specificity, Efficiency and Fidelity of PCR. *PCR Methods and Applications*. 3: 18-29.

Chakraborty R.; Shaw M.; Schull W.J. (1984). Exclusion of paternity: the current state of the art. *American Journal of Human Genetics*. 26: 477-488.

Chakraborty R.; Stivers D. (1996). Paternity exclusion by DNA markers: effects of paternal mutations. *Journal of Forensic Sciences*. Vol. 41. 4: 671-677.

Chemineau P. (1983) Effects on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year. *Journal of Reproduction and Fertility*. 67: 65-72.

Chemineau P. (1985). Effects of a progestagen on buck-induced short ovarian cycles in the creole meat goat. *Animal Reproduction Science*. 9: 87-94.

Chemineau P. (1986). Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrus behaviour and ovarian activity. *Reproduction and Nutrition Development*. 26: 441-452.

Chemineau P. (1989). Le saisonnement de la reproduction des caprins des zones tempérées et des zones tropicales. I.N.R.A. Station de Physiologie de la Reproduction. Dossier (Capricorne): 6-11.

Chemineau P.; Baril G.; Vallet J.C.; Delgadillo J.A. (1993). Control de la reproducción en la especie caprina: interés zootécnico y métodos disponibles. *Revista Latamericana de Pequeños Ruminantes*. 1: 1-15.

Chemineau P.; Daveau A.; Maurice F.; Delgadillo J.A. (1992). Seasonality of oestrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Ruminant Research*. 8: (4) 299-312.

Chemineau P.; Martin G.B.; Saumande J.; Normant E. (1988). Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction and Fertility*. 83: 91-98.

Chenoweth P.J. (1994). Aspects of reproduction in female *Bos Indicus* cattle: a review. *Australian Veterinary Journal*. 7: 422-426.

Ciudad M. A.; Fantova E.; Folch J.; Alabart J.L. (2000). Resultados reproductivos al celo siguiente a la inseminación artificial ovina. Influencia del porcentaje de machos. *Actas de las XXV Jornadas Científicas y IV Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, Teruel. 615-617.

Claus R.; Over R.; Dehnhard M. (1990). Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrus goats. *Animal Reproduction Science*. 22: 27-38.

Corteel J.M. (1973). L'insémination artificielle caprine: bases physiologiques, état actuel et perspectives d'avenir. *World Rev. Animal Production*. 9: 73-99.

Corteel J.M. (1981). Collection, processing and artificial insemination of goat semen. En: Goat Production. Gall C. Edit. Acad. Press. London. .

Corteel J.M.; González C.; Nunes J.F. (1982). Research and development in the control of reproduction. Proceedigs of III International Conference on Goat Production and Disease. Arizona. 584-601.

Corteel J.M. (1994 a). Deroulement des activites oestrienne et ovulatoire de la chevrette et de la chevre. Memorias de la IX Reunion Nacional de Caprinocultura. La Paz. México. 51-61.

Corteel J.M. (1994 b). La reproduction du male de l'espece caprine. Memorias de la IX Reunión Nacional de Caprinocultura. La Paz. México. 3-19.

Darmanin N.; Fresno M.; Capote. (1991). Caracterización de Quesos Canarios. Proyecto financiado por la Dirección General de Comercialización e Industria Agroalimentaria de la Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias. (Sin publicar).

Das N.; Tomer O.S. (1987). Effect of parity, birth type and body weight of dam and birth weight of kid on gestation period of crossbred goat. Indian Veterinary Journal. 64: 396-398.

Debenedetti A.; Lucaroni A. (1979). Some data on reproductive activity in local Umbrian goats. Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie. 33: 161.

Decisión (97/315/CEE). Decisión de la Comisión de 30 de abril de 1997. Diario Oficial de las Comunidades Europeas.

Delgado J.V. (1999). Libro Genealógico de la A.C.C.. Definición y gestión. Programa de mejora genética de la A.C.C.. Actas de las Jornadas Técnicas sobre el desarrollo del Programa de Mejora Genética de la A.C.C. (Gran Canaria). 34-52.

Delgado J.V.; Capote T.; Fresno M.; Camacho M.E. (1990). Exposición de animales domésticos autóctonos. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca del Gobierno de Canarias.

Delgado F.; Darmanin N.; Fresno M.R.; Camacho M.E.; Capote J.; Delgado J.V. (1998). AXA: Un programa de ordenador para la gestión de los núcleos de control lechero en la A.C.C.. Archivos de Zootecnia. Vol.47 (177): 111-114.

Delgado F.; Molina A.; Fresno M.R.; Camacho M.E.; Capote J.; Delgado J.V. (1996). MORFOAXA: Un programa informático para la valoración morfológica del caprino lechero: aplicación a la A.C.C.. Archivos de Zootecnia. Vol. 45 (169): 83-86.

Delgadillo J.A.; Flores J.A.; Villarreal O.; Flores M.J.; Hoyos G.; Chemineau P.; Malpoux B. (1998). Length of postpartum anoestrus in goats in subtropical Mexico: effect of season of parturition and duration of nursing. *Theriogenology*. 49: 1209-1218.

Delgadillo J.A.; Lebouf B.; Chemineau P. (1991). Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology*. 37: 755-770.

Deshpande S.B.; Mehta V.M. (1992). Effect of non-genetics factors on gestation length, weight of placenta and placental expulsion time in Surti and Marwari goats. *Indian Journal of Animal Science*. 62: 155-158.

Devendra C. (1978). The digestive efficiency of goats. *World Review of Animal Production*. 14: 9.

Devendra C. (1991). Milk and kid production from dairy goats in developing countries. *Proceedings of the XXIII International Dairy Congress*. Montreal. 1: 327-351.

Devendra C.; Burns M. (1970). *Goat production in the tropics*. Comm. Agric. Bureau. Farnham Royal Bucks. England.

Devendra C.; Coop L.E. (1982). *Sheep and goat production*. World Animal Science. C.I. Coop. Ed. Elsevier. Amsterdam.

Douma A. (1978). Evolution des teneurs plasmatiques en testostérone et dihydrotestostérone chez le chevreau male de la naissance a 4 mois. Thèse présentée à l'Université de Clermont – Ferrand. Citado por Corteel J.M. (1994). En *Memorias de la IX reunión Nacional de Caprinocultura*. La Paz. México. 3-19.

Ellegren H., Johansson M., Sandberg K., Andersson L. (1992). Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *Animal Genetics*. 21: 133-142.

Elsen J.M.; Poivey J.P. (1986). Estimation de la valeur génétique des reproducteurs dans le cas d'incertitude sur les apparentements. II – Utilisation des durées de gestation pour le calcul des probabilités de filiation. *Génet. Sél. Evol.* 18(2): 157-172.

Fabelo F.; López J.L.; Doreste F.; Capote J. (1992). Peso al nacimiento de cabritos de la Agrupación Caprina Canaria, variedad majorera y su relación con el peso al destete al ser criados bajo lactancia artificial. *Actas de las XVI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*. 170-177.

- Falagán A.** (1987). Caracteristiques et performances de chevre Murciano-Granadina élevées dans les système intensifs de la region de Murcia. EUR 11893. L'évaluation des ovins et des caprins méditerranéens. Ed: Flamant J.C. et Morand Fehr P. Serie: Agricultura. Comission des Communautés Européenes. Luxembourg. 85-92.
- Falagán A; González C. y López A.** (1989). Períodos de anoestro de la cabra Murciano-Granadina en la región de Murcia. III Jornadas sobre Producción Animal. ITEA. 9: 298:300.
- FAO** (1995). Citado por Morand-Fehr (1997). Actas de las XXII Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Tenerife. 10-21.
- Febles J.C.** (1995). Estudio de la conducta sexual de los machos de la A.C.C. (tipo Tinerfeño). Trabajo Fin de Carrera. E.U.I.T.A. Universidad La Laguna.
- Forcada F.; Sierra I.; Callen A.** (1989). Eficacia comparativa de diferentes métodos de inducción y sincronización del celo en cabras lecheras en primavera. Archivos de Zootecnia. Vol. 38. 142: 211.
- Fowler D.G.** (1984). Reproductive behaviour of rams. Reproduction in sheep. Supervising Editors: Lindsay D.R. and Pearce D.T. Cambrigde University Press. 39-44.
- Fredholm M.; Wintero A.K.** (1996). Efficient resolution of parentaje in dogs by amplification of microsattellites. Animal Genetics. 27: 19-23.
- French M.H.** (1970). Observations on the goat. FAO.Agric. Stud. nº 80. Roma.
- Fresno M.** (1993). Estudio de la producción láctea en la Agrupación Caprina Canaria. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Fresno M.; Berriel C.; Ramos E.** (1999). Núcleos de control lechero en Canarias. Optimización de los registros lecheros en la A.C.C.. Actas de las Jornadas Técnicas sobre el desarrollo del Programa de Mejora Genética de la A.C.C. Gran Canaria. 24-33.
- Fresno M.; Capote J.; Camacho E.; Darmanín N.; Delgado J.V.** (1992). The Canary Island breeds: past, present and future. Archivos de Zootecnia. Vol. 41. 154: 513-518.
- Fresno M.; Darmanin N.; Capote J.; Lorenzo M.; Camacho M.E.** (1996). Investigaciones para la caracterización de los quesos tradicionales canarios. Su repercusión en el desarrollo local. Canarias Agraria y Pesquera. 34: 57-60.
- Fresno M.; Darmanin N.; Hernández Z.; Capote J.** (1992). Quesos de Canarias. Ed. Consejería de Agricultura Pesca y Alimentación del gobierno de Canarias.

Fresno M.; Rodero J.M.; Serrano I.; Capote J. (1992). Factores no genéticos que afectan a la curva de lactación de la población caprina tinerfeña. *Terra Arida*. Chile 11: 133-137.

Fresno M.; Serrano I.; Capote J.; Rodero A.; López J.L. (1992). Estudios preliminares de modelos fijos para estimar la producción lechera de la población caprina de Tenerife. *Terra Arida*. Chile. 11: 60-65.

Fries R. (1993). Mapping the bovine genome: methodological aspects and strategy. *Animal Genetics*.24: 111-116.

Fries R.; Eggen A.; Stranzinger G. (1990). The bovine genome contains polymorphic microsatellites. *Genomics*. 8: 403-406.

Fuentes J.L.; Pulenets N.; Perón N. (1987). Duración de la gestación en las ovejas de raza Pelibuey. *Revista Cubana de Reproducción Animal*. 70-72.

Gall C. (1981) Milk Production. En *Goat Production*. Academic Press. London.

Gangwar S.D.; Yadav M. C. (1987). Factors affecting gestation length in Indian Goats. *Indian Journal of Dairy Science*. 365-366.

Garber R.A.; Morris J.W. (1983). General equations for the average power of exclusion for genetic systems of n codominant alleles in one-parent and no-parent cases of disputed parentage. Inclusion probabilities in parentage testing. American Association of Blood Banks. Arlington.

García C. (1989). Polimorfismo y actividad enzimática eritrocitaria en la caracterización de la Agrupación Caprina Canaria. Tesina de Licenciatura. Universidad de Córdoba.

García O.; Gall C. (1981). Goats in the Dry Tropics . En *Goat Production* (ed. C. Gall). Academic Press. London.

García O.; Verde S.; Castillo J.; Peraza F. (1976). Comportamiento reproductivo en el trópico de cuatro razas caprinas importadas. *Actas de la V Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. Maracay. Venezuela. (Resumen).

García-Casas C.; Moreno A.; Capote J.; De la Haba M.R. (1992). Characterization of the Canary racial goat groups with erythrocyte genetic markers. *Small Ruminant Research*. 7: 361-368.

Geldermann H.; Pieper U.; Weber W. (1986). Effects of misidentification on the estimation of breeding value and heritability in cattle. *Journal of Animal Science*. 63: 1759.

Giménez-Gamero, I; Vega-Pla J.L.; Angulo-Heras C.; Alonso-Moraga A.; Muñoz-Serrano A.; Serradilla J.L.; Fálagan A.; Dorado-Pérez G. (1997a). Utilización del polimorfismo de microsatélites en la verificación de paternidad del ganado caprino. ITEA, 18: 305-307.

Giménez-Gamero I.; Vega-Pla J.L.; Angulo-Heras C.; Alonso-Moraga A.; Dorado G. (1997b). Four new polymorphic caprine microsatellites: ChirUCO2, ChirUCO3, ChirUCO4, ChirUCO5. Animal Genetics. 29: 236-243.

Glowatzki-Mullis M.L.; Fries R.; Gaillard C. (1994). PCR: a powerful tool in parentage control in cattle. Proceedings XXIV International Conference on Animal Genetics. Prague. (Abstract).

Glowatzki-Mullis M.L.; Gaillard C.; Wigger G.; Fries R. (1995) Microsatellite-based parentage control in cattle. Animal Genetics. 26: 7-12.

González S. C. (1976). El efecto macho sobre la estacionalidad sexual en cabras del medio tropical. Memoria de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. 11: 69.

González F.; Batista M.; Gracia A. (1994 a). Caracterización del ciclo sexual de la cabra de la Agrupación Caprina Canaria. Actas VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal. Murcia. 311.

González F.; Batista M.; Gracia A. (1994 b). Evolución de la población de folículos visibles durante la fase folicular en la cabra de la Agrupación Caprina Canaria. Actas VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal. Murcia. 312.

González F.; Batista M.; Gracia A. (1994 c). Grado de atresia folicular a lo largo de la fase estrogénica en cabras de la Agrupación Caprina Canaria. Actas VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal. Murcia. 311.

Goode L.; Linnerud A.C.; Tugman D.F. (1980). Reproductive performance of straightbred and crossbred Barbados Blackbelly ewes. International Goat and Sheep Research. 1: 216-225.

Gracia A. (1999). Aplicaciones de la inseminación artificial en el plan de mejora de la Agrupación Caprina Canaria. Jornadas Técnicas sobre el Desarrollo del Programa de Mejora Genética de la Agrupación Caprina Canaria. (Gran Canaria). 8-9.

Gracia A.; Cabrera F.; González F.; Batista M.; Forga J. (1997). Estacionalidad en la producción seminal de la variedad majorera de la Agrupación Caprina Canaria. Actas de la XXII Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Tenerife. (Resumen).

Gracia A.; González F.; Batista M. (1992). Fisiología reproductiva y control del ciclo sexual de la cabra. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Asociación de Estudios Ganaderos. Colección de Monografías. Nº 2.

Greiling P.C.; Van Niekerk. (1990). Puberty and the induction of puberty in female Boar goat kids. *South Africa Journal of Animal Science*. 20: 193-200.

Hatcher G. (1984). A planning guide for small scale livestock projects. Little Rock, Arkansas: Heifer Project International.

Herrera M.; Peña F.; Aparicio J.B.; Subires J. (1984). Curva de lactación y composición de la leche en cabras Malagueñas. *Actas de las IX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*. 59-66.

Herrera M.; Subires J. (1988). La Raza Caprina Malagueña. Ed. Diputación Provincial de Málaga.

Heyen D.V.; Beever J.E.; Da Y.; Evert R.E.; Green C.; Bates S.R.E.; Siegle J.S.; Lewin H.A. (1997). Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semiautomated parentage testing. *Animal Genetics*. 98: 21-27.

Hirano T.; Nakane S.; Mizoshita K.; Yamakuchi H.; Inoue-Murayama M.; Watanabe T.; Barendse W.; Sugimoto Y. (1996). Characterization of 42 highly polymorphic bovine microsatellite markers. *Animal Genetics* 27: 365-368.

Hunter R.H.F. (1982). Fisiología y tecnología de la reproducción de la hembra de los animales domésticos. Ed. Acribia. Zaragoza.

Jamieson A. (1965). The genetics of transferrin in cattle. *Heredity*. 20: 419-441.

Jamieson A. (1994). The effectiveness of using co-dominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. *Animal Genetics*. 25. Supplement 1: 37-44.

Jeffreys A.J. (1979). DNA sequence variants in the globin-genes of man. *Cell*. 72: 105-107.

Jeffreys A.J.; Wilson V.; Thein S.L. (1985a). Hypervariable minisatellite regions in human DNA. *Nature*. 314: 67-73.

Jeffreys A.J.; Wilson V.; Thein S.L. (1985b). Individual specific "fingerprints" of human DNA. *Nature*. 316: 76-79.

Kanaujia A.S.; Pander B.L.; Vinayak A.K. (1987). Reproductive traits of Beetal and Black Bengal does and their reciprocal crosses. *Indian Journal of Animal Sciences*. 57: 768-770.

Kawasaki E. (1990). Sample preparation from blood, cells, and other fluids. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. 18: 146-152.

Kemp S.J.; Hishida O.; Wambugu J.; Rink A.; Longeri M.L.; Ma R.Z.; Da Y.; Lewin H.A.; Barendse W.; Teale A.J. (1995). A panel of polymorphic bovine, ovine and caprine microsatellite markers. *Animal Genetics*. 26: 299-306.

Kogi J.; Yeh C.C.; Bhebbe E.; Burns B.M.; Ruvuna F.; Davis S.K.; Taylor J.F. (1995). Caprine microsatellite repeat polymorphisms at the SR-CRSP-11, SR-CRSP-12, SR-CRSP-13, SR-CRSP-14 and SR-CRSP loci. *Animal Genetics*. 26: 443-449.

Kossarek L.M.; Grosse W.M.; Finlay O.; Mc Graw R.A. (1993). Bovine dinucleotide repeat polymorphism RM0066. *Journal of American Science*. 71, 3179.

Khan B.U.; Sinha N.K.; Sanhi K.L. (1982). Note on gestation length in Jamunapari goats. *Indian Journal of Animal Sciences*. 52: 1258-1259.

Kuriakose K.K.; Iyer C.P.N.; Madhavan E.; Raja C.K.S.V. (1983). Factors influencing gestation in goats. *Tropical Veterinary and Animal Science Research*. 1: 1.

Lee J.S.; Kwack D.O.; Park C.S. (1985). Fluctuations of serum progesterone concentration during seasonal anoestrus in Korean native goats. *Korean Journal of Animal Science*. 27: 749-755.

Lemos A.M.; Teodoro R.L.; Barbosa R.T.; Freitas A.F.; Madalena F.E. (1984). Comparative performance of six Holstein-Friesian x Guzera grades in Brazil. *Animal Production*. 38: 157-164.

López J.L.; Capote J.; Argüello A.; Fresno M. (1992). Crecimiento de los cabritos de la Agrupación Caprina Canaria en los dos primeros meses de vida. *Terra Arida. Chile*. 11: 50-59.

López J.L. (1990). Estudio etnológico y productivo de la Agrupación Caprina Canaria. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.

López J.L.; Argüello A.; Fabelo F.; Capote J. (1993). Comparación del crecimiento de cabras de la Agrupación Caprina Canaria desde el nacimiento hasta los seis meses, bajo dos sistemas de crianza. *Archivos de Zootecnia*. 158: 281-284.

López J.L.; Argüello A.; Fabelo F.; Capote J. (1993). Crecimiento en cabras de la Agrupación Caprina Canaria, desde los seis meses hasta el primer parto. *Archivos de Zootecnia*. 158: 285-288.

López J.L.; Capote J.; Fresno M.; Mayans S. (1992). Prolificidad de la agrupación Caprina Canaria. *Terra Arida. Chile*. 11: 99-103.

López J.L.; Fabelo F.; Argüello A.; Capote J. (1992). Estudio de la aplicación de lactancia artificial en cabritos pertenecientes a la Agrupación Caprina Canaria. Actas de las XVI Jornadas Científicas de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia. 148-155.

Lorenzo I.; Alabart J.L.; Valderrábano J. (1996). Evolución de la concentración de progesterona plasmática y aparición de celos tras el efecto macho en cabras de Angora en anoestro estacional. ITEA-Producción Animal. 92ª, 1: 3-9.

Lorenzo M.; Fresno M.; Darmanin N.; Molina A.; Ramos R. (1997a). Estudio del comportamiento reproductivo y calidad seminal de los machos y de la fertilidad mediante inseminación artificial en la Agrupación Caprina Canaria. Actas de las XXII Jornadas Científicas de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Tenerife. 307-312.

Lorenzo M.; Fresno M.; Darmanin N.; Molina A.; Díaz J. (1997b). Efecto crioprotector del suero sanguíneo en diluyentes seminales. Actas de las XXII Jornadas Científicas de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Tenerife. 319-326.

Machín P. y Santiago M. (1997). Situación actual de la ganadería en la Isla de La Gomera. Actas del VII Encuentro de los Veterinarios de Canarias, Madeira y Las Azores. Gran Canaria. 20-41.

Maeda K.I.; Mori Y.; Kano Y. (1988) Involvement of melatonin in the seasonal changes of the gonadal function and prolactin secretion in female goats. *Reproduction and Nutrition Development*. 28: 287-297.

Maeda K.I.; Mori Y.; Sawasaki T.; Kano Y. (1984) Diurnal changes in peripheral melatonin concentration in goats and effects of light or dark interruption. *Japanese Journal of Veterinary Science*. 46: 837-842.

Maniatis T.; Fritsch E.; Sandbrook J. (1982). *Molecular cloning*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor. New York.

Marklund S.; Ellegren H.; Sandberg K.; Andersson L. (1992). Prospects for an automated paternity testing system in the horse based on microsatellite polymorphisms. *Animal Genetics*. 23: 66

Martín P.; China E.; Corbella M.; Fresno M.; Capote J.; Darmanin N. (1991). Control de calidad de la Leche de cabra en Tenerife. *ILE*. 145: 48-51.

Martín P.; China E.; León A.; Fresno M.; Capote J.; Darmanin N. (1990). Estudio de la calidad de la leche en la Agrupación Caprina Canaria para su caracterización productiva. *ILE*. 139: 45-50.

Mata J. (1999). Control de paternidad mediante el establecimiento de pautas de manejo reproductivo. Actas de las Jornadas Técnicas sobre el Desarrollo del Programa de Mejora Genética de la A.C.C. (Gran Canaria). 20-23.

Mata J.; Bermejo L.A. (1999a). Uso racional ganadero del Parque Rural de Anaga (Tenerife). Memoria Proyecto. Cabildo de Tenerife.

Mata J.; Bermejo L.A. (1999b). Uso racional ganadero del Parque Rural de Valle Gran Rey (La Gomera). Memoria Proyecto. Consejería de Medio Ambiente del Gobierno de Canarias.

Mata J.; Camacho M.E.; Delgado J.V.; Molina A.; Fresno M.R. (1997). Análisis de la variabilidad del periodo gestacional en la A.C.C., aplicada al control de paternidad. Avances de Alimentación y Mejora Animal. Volumen XXXVII. 23.

Mata J.; Darmanin N.; Camacho A.; Camacho M.E. (1997). Estudio de la prolificidad en la Agrupación Caprina Canaria. Archivos de zootecnia. 147: 169-173.

Mayans S.; Capote J.; Fresno M.; López J.L y Darmanin N. (1992). Caracterización de las explotaciones caprinas en Tenerife. Terra Arida. Chile. 11: 68-75.

McDowell R.E.; Bove L. (1977). The goat as a producer of meat. Cornell International Mimeo. 56. Ithaca. New York: Cornell University.

Mclsaac M.; Kemp S.J.; Teale A.J. (1993). The specificity and polymorphism of bovine microsatellite primers in other ruminant. Small Ruminant-CRSP. Proceeding of the Eleventh Scientific Workshop. 225-227.

Mehla R.K.; Mishra R.K. (1980). Days open, gestation length and dry period in Beetal, Alpine x Beetal and Saanen x Beetal. Indian Journal of Dairy Science. 33: 411-413.

Mehta V.M.; Patel A.V.; Deshpande S.B.; Pai J.; Tiwari S.R. (1992). Growth and biometry of testis and scrotum in Surti and Marwari kids from birth to sexual maturity. Proceedings of V International Conference on Goats. 1111-1116.

Melián V.; Sánchez J.C.; Darmanin M.; Capote J.; Fresno M. (1992). Caracterización de las explotaciones caprinas de Fuerteventura. (Islas Canarias). Actas de las XVI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. 389-395.

Mellado M. (1994). Manejo reproductivo del ganado caprino en agostadero. Memorias de la IX Reunión Nacional de Caprinocultura. La Paz. México. 79-97.

Mishra R.K.; Nivsarkar A.E.; Arora C.L. (1979). A note on the analysis of gestation length in Sirohi goats. Indian Journal of Animal Sciences. 49: 967-968.

Mishra R.K.; Singh D.; Gour D.; Rawat P.S. (1983). Effect of Breed and age of buck and season of breeding on reproduction. Tropical Animal Health Production. 15: 13-14.

- Mittal J.P.** (1981). Comparative study on reproductive performance of Barbari and Jamnapari goats. *Indian Veterinary Journal*. 58: 794-799.
- Mohanty K.C.; Patro B.N.; Mishra P.K.** (1985). Inheritance of some reproductive traits in Ganjam goats. *Indian Journal of Animal Sciences*. 55: (12) 1104-1106.
- Moazami-Goudarzi K.; Laloë D.; Furet J.P.; Grosclaude F.** (1997). Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*. 28: 338-345.
- Mommens G; Van Zeveren A.; Peeman L.J.** (1998). Effectiveness of bovine microsatellites in resolving paternity cases in American bison, *Bison bison*. *Animal Genetics*. 26: 12-17.
- Montoro V.; Aguado M.J.; Blanco J.A.; Madridano J.M.; Rescalvo L.A.; Gracia O.; Garrido D.; Pérez S.** (1994). Actas de las XVIII Jornadas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. 513-517.
- Montsma G.; Smith O.B.; Bosman H.G.** (1988). Productivity of the West African Dwarf goat in a temperate environment: small is beautiful. Goat Production in the humid tropics. Proceedings of a workshop at the University of Ife. Nigeria. 38-43.
- Moore S.S.; Sargeant L.L.; King T.J.; Mattick J.S.; Georges M.; Hetzel J.S.** (1991). The conservation of dinucleotide microsatellite among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. *Genomics* 10: 654-660.
- Moore S.S.; Byrne K.; Berger K.T.; Barendse W. McCarthy F.; Womack J.E.; Hetzel D.J.S.** (1994). Characterization of 65 bovine microsatellites. *Mammalian Genome*. 5: 84-90.
- Moore S.S.; Evans D.; Byrne K.** (1995). A set of polymorphic DNA microsatellite useful in swamp and river buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal Genetics*. 26: 355-359.
- Morales H.; Aguilar J.A.; Hinojosa J.A.** (1983). Comportamiento reproductivo de un hato de Holstein en la Chontalpa, Tabasco. II Periodo de gestación e intervalo entre partos. *Veterinaria. México*. 14: 74-79.
- Mori Y.; Kano Y.** (1984) Changes in plasma concentrations of LH, progesterone and oestradiol in relation to the occurrence of luteolysis, oestrus and time of ovulation. *Journal of Reproduction and Fertility*. 72: 223-230.
- Mori Y.; Maeda K.; Sawazaki T.; Kano Y.** (1984). Effects of long days and short days on oestrus cyclicity in two breeds of goats with different seasonality. *Japan Journal of Animal Reproduction*. 30: 239-245.

- Mori Y.; Tanaka M.; Maeda K.; Hoshino K.; Kano Y.** (1987). Photoperiodic modification of negative and positive feedback effects of estradiol on LH secretion in ovariectomized goats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 80: 523-529.
- Mukundan G.; Bhat P.N.; Khan B.U.** (1983). Reproduction traits in Malabari goats and their half-breds with Saanen. *Indian Journal of Animal Sciences*. 1: 90-93.
- Mullis K.; Faloona F.; Scharf S.; Saiki R.; Horn G.T.; Erlich H.** (1986). Specific amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*. 51: 263-273.
- Murugaiyah M.** (1992). Changes in the semen characteristics of Kambing x Katjang crossbred bucks under hot and humid environmental temperatures. *Proceedings V International Conference on Goats*. New Delhi. 1126-1129.
- Musci I.; Turi L.** (1988). Gestation length in synchronised sheep. *Allatlenyesztes Takarmanyozas*. 37: 432-439. *Animal Breeding Abstracts*. 57: 4203.
- Nadarajah K.; Burnside E.B.; Schaeffer L.R.** (1989). Factors affecting gestation length in Ontario Holsteins. *Canadian Journal of Animal Sciences*. 69: 1083-1086.
- Nakamura Y.; Leppert M.; O'Connell P.; Wolff R.; Holm T.; Culver M.; Martin C.; Fujimoto E.; Hoff M.; Kumlin E.; White R.** (1987). Variable number of tandem repeat (VNRT) markers for human gene mapping. *Science*. 235: 1616-1622.
- Nei M.** (1972). Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* 106: 283-292.
- Nelson E.A.; Kooyman D.L.; Lin T.Y.; Fonda E.S.** (1987). Effect of season on ejaculate characteristics in the dairy goat. *Proceedings of IV International Conference on Goats*. Brasilia. 1528.
- Nunes H.; Ferreira.** (1987). Fatores de meio e herança como causas de variação do intervalo entre partos, peso ao nascimento e período de gestação em rebanho da raça Santa Gertrudis. *Proceedings de la XXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 455.
- Okeyo A.M.; Ruvuna F.; Cartwright T.C.; Lumuti G.I.** (1985). Fertility levels, postpartum intervals and other reproductive traits of East African, Galla and their crosses. *Proceedings SR CRSP Kenya Workshop*. Nairobi. Kenya. 69-71.
- Otchere E.O.; Nimo M.C.** (1975). Observation on reproductive behaviour in West African Dwarf goat. *Ghana Journal of Agricultural Science*. 3: 187-190.
- Ott R.S.; Nelson D.R.; Hixon J.E.** (1980). Effect of presence of the male on initiation of oestrus cycle activity of goats. *Theriogenology*. 13: 183-190.

Pandit R.K.; Agrawal R.G.; Shukla S.P. (1986): Studies on gestation period in relation to effect of breed parity, sex and birth weight in cattle. Archives Experimental of Veterinary Medicine. Leipzig. 3: 440-444.

Patterson S.D.; Bell K. (1987). Frequencies of plasma protease inhibitor alleles in Australian horse breeds and the recognition of two new alleles. Animal Genetics. 18: 181-186.

Pastor J.M. (1997). Duración de la gestación en ganado vacuno Retinto: aplicación práctica en el plan de mejora. Tesina de Licenciatura. Universidad de Córdoba.

Peelman L; Mortiaux F; Van Zeveren A; Dansercoer A; Mommens G; Coopman F; Bouket Y; Burny A; Reneville R; Portetelle D. (1998). Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. Animal Genetics. 29: 161-167.

Pelle E. (1984). The gestation period of ewes. Allatlenyesztes Takarmanyozas.33 : 257-261. Animal Breeding Abstracts. 54: 307.

Pépin L.; Amigues Y.; Lépingle, A.; Berthier, J.L.; Bensais A.; Vaiman D. (1995). Sequence conservation of microsatellites between *Bos taurus* (cattle), *Capra hircus* (goat) and related species. Examples of use in parentage testing and phylogeny analysis. Heredity. 74: 53-61.

Polastre R.; Villares J.B.; Ramos A.A. (1982). Parametros genéticos e fatores ambientais relacionados com a duração da gestação na raça Jersey. Rev. Soc. Brasileira de Zootecnia. 11: 668-680.

Ponz R.; Tejedor M.T.; Monteagudo L.V.; Arruga M.V.; Barrao R. (2000). Análisis estadístico de la duración de la gestación como criterio para el cálculo de la fertilidad de la inseminación artificial en Rasa Aragonesa. Actas de las XXV Jornadas Científicas y IV Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Teruel. 583-586.

Poto A.; Goyena M.; Sánchez C.; Goyena E. (1994). Control de paternidad en el ganado caprino de la raza Murciano-Granadina. Actas de la XVIII Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. 559-561.

Prasad S.P.; Bhattacharyya N.K. (1979). A note on the characteristics of puberal oestrus and oestrus cycle in Barbari nannies. Indian Journal of Animal Science. 49: 969-970.

Prasad S.P.; Das S.C.; Bhattacharyya N.K. (1980). A study on the characteristics of graffian follicles and ovulation sequences in nullipara Barbari nannies. Indian Journal of Animal Science. 50: 53-57.

Prasad S.P.; Pandey M.D. (1981). Observation on sexual activity and foetal membranes in Barbari nannies. Indian Veterinary Journal . 58: 380-386.

- Ramírez R.G.** (1994). Composición y calidad nutritiva del forraje seleccionado por cabras en pastoreo en los agostaderos del Noreste de México. Actas de la IX Reunión Nacional de Caprinocultura. La Paz. México.
- Rao V.H.; Bhattachayya N.K.** (1980). Ovulation in Black Bengal nanny goats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 58: 67-69.
- Ricordeau G.** (1981). Genetics: Breeding Plans. In *Goat Production* (ed. C. Gall), 137-141. Academic Press. London.
- Reed P.W.; Davies J.L.; Copeman J.B.; Bennett S.T.; Palmer S.M.; Pritchard L.E.; Gough S.C.L.; Kawaguchi, Y.; Cordell H.J.; Balfour K.M.; Jenkins S.C.; Powell E.E.; Vighal A.; Todd J.A.** (1994). Chromosome – specific microsatellite sets for fluorescence – based, semi – automated genome mapping. *Nature Genetics*. 7: 390 – 395.
- Restall B.J.** (1992). The male effect in goats. *Proceedings of V International Conference on Goats*. New Delhi. Vol. I. Part II. 322-331.
- Robles T.P.A.; Pedroza J.; Del Río.** (1994). Determinación de parámetros reproductivos en un hato caprino estabulado en la Comarca Lagunera. *Memorias IX Reunión Nacional de Caprinocultura*. México. 202-204.
- Roca J.; Martínez E.; Sánchez –Valverde M.A.; Ruiz S.; Vásquez J.M.** (1992). Seasonal variations of semen quality in male goats: study of sperm abnormalities. *Theriogenology*. 38: 115-125.
- Romano J.E.** (1993). Effect of service on oestrus duration in dairy goats. *Theriogenology*. 40: 77-84.
- Romano J.E.** (1994). Effect of service number on oestrus duration in dairy goats. *Theriogenology*. 41: 1273-1277.
- Romano J.E.; Fernández-Abella D.** (1997). Effect of service on duration of oestrus and ovulation in dairy goats. *Animal Reproduction Science*. 47: 107-112.
- Ron M.; Band M.; Wyler A.; Weller J.** (1993). Unequivocal of sire allele origin for multiallelic microsatellites when only sire and progeny are genotyped. *Animal Genetics*. 4: 171-175.
- Ron M.; Blanc Y.; Band M.; Ezra E.; Weller J.** (1996). Misidentification rate in the Israeli dairy cattle population and its implications for genetic improvement. *Journal of Dairy Science*. 79: 676-681.
- Ruvuna F.; Cartwright T.C.; Blackburn H.; Okeyo M.; Chema S.** (1988). Gestation length, birth weight and growth rates of pure-bred indigenous goats and their crosses in Kenya. *Journal of Agriculture Science*. 111: 363-368.

- Saiki R.; Scharf F.; Faloona F.; Mullis K.; Horn H.; Erlich A.; Arnheim N.** (1985). Enzymatic amplification of B-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 230: 1350-1354.
- Saiki R Gelfand D.; Stoffel S.; Scharf S.; Higuchi R.; Horn G.; Mullis K. Erlic H.** (1988). Primer directed amplification of DNA with a thermoestable DNA polymerase. *Science*. 239: 487-491.
- Saitbekova N.; Gaillard C.; Obexer-Ruff G.; Dolf G.** (1999). Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics*. 30: 36-41.
- Sambrook J.; Fritsch E.F.; Maniatis T.** (1989). In molecular cloning: a laboratory Manual. 2^o Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor. New York.
- Sanchez-Palma A.; Serradilla J.M.** (1996). Programas de selección aplicados al ganado caprino. ITEA. Vol . 92A. N^o 3: 117-141.
- Sands M.; McDowell.** (1978). The potential of the goat for milk production in the tropics. Department. of Animal Science. Cornell University . Ithaca. New York.
- Santos D.O.; Simplicio A.A.; Machado R.** (1992). Induction of parturition in goats by intramuscular injection of cloprostenol. *Revista Brasileira de Reproducao Animal*. 16: 1-2.
- Serrano I.; Capote J.; Casa C.; Zaro N.; Delgado J.V.; Moreno A.; Fresno M.** (1989). Ethnologic (morphologic and biochemical) characterization of Canarian goat group. Proceedings 40^o Annual Meeting of the EAAP. Dublin. 171-172.
- Serrano I.; Fresno M.; Capote J.; Delgado J.V.** (1989). Estudios preliminares para la elaboración de un plan de selección en la A.C.C. Actas de las III Jornadas sobre Producción Animal. Zaragoza. ITEA. Vol IX. 436-439.
- Setiadi B.; Sutama I.K.; Budiarsana I.G.M.** (1997). Reproductive and productive efficiencies of Etawah grade goats under various mating managements. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 2: (4) 233-236.
- Sevaraju M.; Kathiresan D.; Pattabiraman S.R.** (1997). Effect of oestrus synchronization and method of breeding on oestrus duration in Tellichery goats. *Indian Journal of Animal Reproduction*. 18: (1) 15-17.
- Shah K.A.; Shrivastava A.K.; Sinha A. K.; Singh D.K.; Singh R.A.** (1997). Effect of follicular fluid on attainment of puberty in female halfbred kids. *Indian Journal of Animal Reproduction*. 19: (3) 99-103.
- Shelton M.** (1978). Reproduction and breeding of goats. *Journal of Dairy Science*. 61: 994-1010.

- Skalet L. H.; Rodríguez H.D.; Goyal O.H.; Maloney M.A.; Vig M.M.; Noble R.C.** (1988). Effect of age and season on the type and occurrence of sperm abnormalities in Nubian bucks. *American Journal of Veterinary Research*. 49: 1284-1289.
- Skinner J.D.** (1970). Post-natal development of the reproductive tract of the male Boer Goat. *Agroanimalia*. 2: 177-180.
- Silva F.; Nunes A.D.; Simplicio J. S.; Rieiria S.G.** (1984). Seasonal effects on reproductive traits in goats in Brasil. *Reproduction des ruminants en zone tropicale*. Reunion Internationale. Pointe a Pitre. Guadeloupe. 327-337.
- Silva H.C.M.** (1972). Fatores genéticos e ambientais como causas de variação na duração da gestação no gado Holandês. Belo Horizonte. Escola de Veterinária da UFMG.
- Singh D.K.; Singh C.S.P.** (1983). Effect of kid's genotype on gestation period, birth weight and weight of placenta in Black Bengal goats. *Indian Journal of Animal Sciences*. 53: 678-680.
- Singh D.K.; Singh C.S.P.; Singh L.B.** (1987). Reproductive traits of Black Bengal goats. *Indian Journal Animal Sciences*. 57: 605-608.
- Sinha N. K.; Sanhi K. L.** (1982). A note on the factors affecting gestation period on certain Indian breeds of goat. *Veterinary Research Journal*. 5: 73-77.
- Sinha N.K.; Wani G. M.; Sanhi K.L.** (1981). Factors affecting gestation period in Muzaffarnagri and crossbreed sheep. *Veterinary Research Journal*. 4: 128-133.
- Slate J.; Coltman D.W.; Goodman S.J.; Mac Lean I.; Pemberton J.M.; Williams J.L.** (1998). Bovine microsatellite loci are highly conserved in red deer (*Cervus elaphus*), sika deer (*Cervus nippon*) and Soay sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics*. 29: 307-315.
- Smith A.J.; Hulme D.J.; Silk J.P.; Redwin J.M.; Beh K.J.** (1995). Thirteen polymorphic ovine microsatellites. *Animal Genetics*. 27: 277-278.
- Southern E.M.** (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology*. 98: 503-527.
- Stallings C.J.; Ford A.F.; Nelson D. Torney D.C.; Hildebrand C.E.; Moyzis R.K.** (1991). Evolution and distribution of (GT)_n repetitive sequences in mammalian genomes. *Genomics*. 10: 807-815.
- Surgie T.; Soma T.** (1970). The survival and development of fertilised ova transferred reciprocally between Saanen and Japanese native goat. *Bulletin of the National Institute of Animal Industry*. Japan. 23: 7-19.

- Takezaki N.; Nei M.** (1996). Genetic distances and reconstruction of Phylogenetic trees from DNA. *Genetics*. 144: 389-399.
- Tautz D.** (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*. 17: 6463-6471.
- Tautz D.; Renz M.** (1984). Simple sequences repetitive components of eukariotic genomes. *Nucleic Acids Research*. 12: 4127- 4138.
- Tena S.** (1973). Incidencia estacional del momento del parto duración de la gestación y peso en el nacimiento en ganado vacuno frisón. *Archivos de Zootecnia*. 85: 61-68.
- Tilbrook A.J.** (1984). Ram mating preferences. *Reproduction in sheep*. Supervising Editors: Lindsay D.R and Pearce D.T. Cambridge University Press. 47-49.
- Vaiman D.; Oste R.; Mercier D.; Grohs C.; Levezid H.** (1992). Characterisation of five new bovine dinucleotide repeats. *Animal Genetics*. 24: 537-541.
- Vaiman D.; Mercier D.; Mouzami - Goudarzi K.** (1994). A set of 99 cattle microsatellites: characterization, synteny mapping and polymorphism. *Mammalian Genome*. 5: 288 – 297.
- Vallejo M.; Sánchez L.; Fuente L.F.** (1989). Caracteres reproductivos de la raza Rubia Gallega. III Duración de la gestación, relación sexual y peso de las crías al nacimiento. *Archivos de Zootecnia*. 142: 279.
- Vankan D.M.; Hefford C.G.** (1998). Efficacy and reliability of paternity testing in cattle using DNA microsatellite. *Proceedings XXVI International Conference on Animal Genetics*. Auckland. (Abstract).
- Vankan D.M.; Moore S.S.; Bell K.; Hetzel D.J.S.** (1994). Evaluation of DNA microsatellites for parentage and paternity testing of cattle. *Proceedings XXIV International Conference on Animal Genetics*. Prague. (Abstract).
- Verma A.K.; Pandit R.K.; Porwal.** (1990). Observations on effects of sex and type of kidding on gestation length and birth weight in goats. *Indian Veterinary Journal*. 67: 887-888.
- Verma R.R.P.; Singh B.K.; Singh M.P.; Singh B.** (1991). Factors affecting reproductive performance in black Bengal Goats. *Indian Veterinary Journal*. 68: 235-239.
- Villette H.; Brelurut A.** (1980). Variations et implications de la durée de gestation dans un troupeau ovin. *Bull. Tech. Theif. INRA*. 41.

Vitalkar P.H.; Takarkhede R.C.; Kolte A.Y.; Dhore R.N.; Barmase B.S. (1998). Non hormonal methods of oestrous synchronization in does. *Indian Veterinary Journal*. 75: 88-89.

Walkden-Brown S.W.; Restall B.J.; Scaramuzzi R. (1992). Reproductive seasonality in Australian Cashmere bucks. *Pre-Conference Proceedings. V International Conference on Goats*. New Delhi. 1: 316.

Walkden-Brown S.W.; Restall B.J.; Henniawati. (1993 a). The male effect of the Australian cashmere goat. 2. Role of olfactory cues from the male. *Animal Reproduction Science*. 32:1-2: 55-67.

Walkden-Brown S.W.; Restall B.J.; Henniawati. (1993 b). The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrus female. *Animal Reproduction Science*. 32:1-2: 69-84.

Weber J.L.; May P. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*. 44: 388-396.

Weber J. (1990). Informativeness of Human (dC-dA)_n - (dG-dT)_n Polymorphisms. *Genomics*. 7: 524-530

Wiggans G.; Misztal I.; Van Vleck L. (1988). Implementation of an animal model for genetic evaluation of dairy cattle in the United States. *Journal of Dairy Sciences*. 2: 54.

Wilkinson J.M.; Stark B.A. (1987). The nutrition of goats. En: Haresing W. and Cole D.J.A. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Butterworths: London. 91-106.

Williams J.L.; Usha A.P.; Urquhart B.G.D.; Kilroy M. (1997). Verification of identity of bovine semen using DNA microsatellite markers. *Veterinary Record*. 140: 446-449.

Wintero A.K.; Fredholm M. (1992). Genetic variation at twenty porcine (dG-dT)_n - (dC-dA)_n microsatellite loci. *Proceedings XXXIII International Conference of Animal Genetics*. (Abstract).

Wray N.R.; Quaas R.L.; Pollak E.J. (1987). Analysis of gestation length in american simmental cattle. *Journal of Animal Science*. 65: 670-674.

Yeh C.C.; Koyi J.K., Holder M.T.; Guerra T.M., Davis S.K.; Taylor J.F. (1997). Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphism at the SR-CRSP21, SR-CRSP22, SR-CRSP23, SR-CRSP24, SR-CRSP25, SR-CRSP26 and SR-CRSP27 loci. *Animal Genetics*. 28: 370-383.

Zajc Y.; Mellersh C.; Kelly E.P.; Sampson J. (1994). A new paternity testing for dogs, based on microsatellite sequences. *Veterinary Record*. 135: 545-547.

Zamorano M.J. (1999). Utilización de marcadores genéticos en el control de la genealogía. Actas de las Jornadas Técnicas sobre el Desarrollo del Programa de Mejora Genética de la A.C.C. (Gran Canaria). 12-17.

Zygoiannis D.; Katsaounis N.; Karatzas G. (1989). The effect of method of breeding on reproductive performance in indigenous goats (*capra prisca*) mated at the beginning of the breeding season . *Animal Production*. 49:291-297.