(180) 2-year

# Universidad Nacional Autónoma de México FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA CITOLOGIA VAGINAL EXFOLIATIVA EN LA OVEJA PRE-PUBER Y SU RELACION CON EL INICIO DE LA PUBERTAD.

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA PRESENTA

# JAVIER DE JESUS RIOJAS RODRIGUEZ



ASESOR DE LA TESIS: M.V.Z. JAVIER VALENCIA MENDEZ

> TESIS DONADA POR D. G. B. UNAM

MEXICO, D. F.





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

# DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# CONTENIDO

-	<u>páq</u> .
1 RESUMEN	1
2 INTRODUCCION	2
a) Justificación e importancia	2
b) Antecedentes	3
c) La citología vaginal	5
d) La pubertad	7
e) Hipótesis	8
f) Objetivo	9
3 MATERIAL Y METODO	10
4 RESULTADOS	- 12
5 DISCUSION	- 17
6 CONCLUSIONES	- 20
7 BIBLIOGRAFIA	- 21

## 1.- RESUMEN.

Se realizó un estudio para determinar los cambios en la citología vaginal que se suceden en la oveja durante la etapa prepuberal y el inicio de la pubertad. Se utilizaron cuatro corderas de la cruza Tabasco x Polled Dorset, de dos meses de edad, propiedad del Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria (COPEA). Este centro está localizado sobre la carretera a Topilejo, en la delegación de Tlalpan, D.F.. Se tomaron muestras de citología vaginal a partir de los dos meses de edad, hasta la aparición del primer celo. Para la detección del celo se expuso a las ovejas diariamente a la presencia de machos vasectomizados. La tinción de los frotis fue la de Papanicolaou. Al inicio de la toma de muestras el porcentaje de células encontrado en los frotis fue de: 0% de superficiales, 5-20% de intermedias y 80-90% de basales. En tres ovejas se observó un aumento de células superficiales que alcanzó el 30%, 70% y 50% a los 253, 252 y 237 días de edad, res pectivamente. Estos cambios nos sugieren que había ocurrido la primera ovulación. En las tres ovejas, 15, 18 y 16 días después de los cambios antes mencionados en la citología, se detectaron los primeros estros aparentes. Durante los días del celo los porcentajes de células fueron: superficiales 95-100%, intermedias 0-5% y basales 0%. A partir de ese momento las ovejas ciclaron ininterrumpidamente. Una de las cuatro ovejas estudiadas no presentó cambios a lo largo de todo el estudio, ni presentó comportamiento de celo. Los resultados obtenidos nos indican la posibilidad de determinar el inicio de la pubertad en la oveja a través de un método rápido, barato y relativamente sencillo, como es el de la citología vaginal exfoliativa.

#### 2.- INTRODUCCION.

a) Justificación e importancia.

México es uno de los países llamados en vías de desarrollo, esta denominación se les ha asignado por poseer una problemática común como es la dependencia tecnológica y económica, así como la explosión demográfica.

Esto último trae como consecuencia la necesidad de producir cada vez más proteína de origen animal en forma eficiente y a un precio más barato. Para lo anterior es necesario reducir lo más posible los costos de producción unitaria y aumentar la precocidad de los animales.

El ganado ovino ha sido en México una de las especies tradicional mente más descuidadas, debido a razones políticas y sociales. Ahora la producción ovina se presenta como una alternativa para aumentar la disponibilidad de proteína para la población que no tiene fácil acceso a ella, y que son las gentes de las clases sociales más bajas. Estas gentes son las que en su mayoría detentan la posesión de las cabezas de ganado ovino, ya que en México, el 95.2% de este ganado está en manos de ejidatarios y es ganado criollo. (17)

Además de lo anotado anteriormente, el ganado ovino presenta muchas cualidades que no han sido exhaustivamente aprovechadas y que le dan características muy favorables para merecer nuestra atención, éstas son:

- su rusticidad, que le hacen requerir minimas atenciones en cuanto a alimentación y alojamiento (16),
- su instinto gregario, que permite un fácil manejo de los animales (16).
- menor erosión de las praderas por el tamaño más pequeño y compacto de las heces (14),
- menor necesidad relativa de agua (14).

- la capacidad de caminar grandes distancias en busca de agua y alimento (16),
- dada su condición de rumiantes no compiten en el consumo de granos con los humanos (16),
- la gran variedad de razas que los hacen adaptables prácticamente a cualquier medio ambiente (8),
- la baja inversión que se necesita para su explotación (8),
- el corto período de gestación que presenta con un número relativamente elevado de partos múltiples (6),
- el corto intervalo entre partos en relación a especies mayores (6),
- los diversos productos que son capaces de proporcionar: carne, lana, leche, piel y lanolina (16).

Para aumentar la productividad del ganado ovino es necesario aprovechar todo su potencial y dentro de esto se inscribe la necesidad de conocer ampliamente sus aspectos reproductivos, para explotarlos debidamente. (14)

Para poder explotar correctamente y al máximo al ovino es necesario conocer a fondo su fisiología reproductiva. Como en todos los animales domésticos, es importante determinar lo más pronto posible el momento en que las hembras inician su actividad sexual y por lo tanto son capaces de empezar a reproducirse. Esto debe aprovecharse para que los animales a más temprana edad inicien su vida productiva, lo que redundará en beneficios económicos para el ganadero.

# b) Antecedentes.

El método más utilizado, hasta ahora, para el diagnóstico de la pubertad, es exponer a la hembra a la presencia de un macho vasectomizado.

Si permite ser montada nos indica que se encuentra en celo. Este método no es exacto, ya que en ocasiones la oveja ya está en celo y no se deja montar. La primera ocasión en que se dejan montar se ha tomado como el momento de inicio de la pubertad; sin embargo este primer calor en realidad significa la segunda ovulación. (2)

Muchos autores prefieren mencionar la edad del primer parto como método indirecto para inferir la edad aproximada en que ocurrió la pubertad, como lo indica la revisión hecha por Dyrmundsson. (7)

La citología vaginal exfoliativa representa una buena posibilidad de lograr un diagnóstico más exacto de la pubertad en las corderas. Los estudios sobre citología vaginal se han realizado también en otras especies. Estos estudios se han hecho tanto para detectar cambios en el ciclo, como para ver alteraciones patológicas ( lo último principalmente en la mujer). La citología vaginal exfoliativa se ha estudiado en: el humano, el ratón, la rata, el cuyo, el bovino, el porcino, el mandril y el mono. (22)

Dentro de la literatura revisada se encuentran trabajos relacionados tanto con la citología vaginal de las ovejas, algunos, como con la pubertad de las mismas otros. Dentro de los primeros están principalmente los de Grant (11), Radford (19), Cole (4) y Sanger (21 y 22) y con relación a la pubertad se encuentra fundamentalmente el de Dyrmundsson (7). Respecto a los estudios sobre citología vaginal, se informa de investigaciones sobre raspados vaginales de la oveja. Los resultados reportados por los autores antes mencionados muestran que, en general, durante el proestro se encuentra poco material en la muestra y se observan pocas células epiteliales; durante el estro el material de la muestra es más abundante y se ven al microscopio células cornificadas que son las que provienen del estrato superior del epitelio

## vaginal. (21)

En un estudio realizado en las muestras que fueron tomadas durante el estro, Sanger (21), encontró que todas las células eran superficiales escamosas. Aproximadamente dos tercios de ellas eran basófilas (en proceso de cornificación) y el resto eran eosinófilas (lo que indicaba que estaban ya cornificadas). La mayoría de las células tenían el núcleo picnótico.

No se encontró información sobre la utilización de la citología vaginal para determinar la pubbertad de las ovejas.

## c) La citología vaginal.

Papanicolaou (18), que es de los iniciadores de los estudios sobre citología vaginal, menciona la presencia de cinco estratos celulares en la pared vaginal de la mujer. Reporta también que las células encontradas en los raspados vaginales, provienen tanto de estos estratos como del ectocervix.

De los cinco estratos, el más profundo es la zona basal que es un estrato conformado por células cúbicas o columnares. Las células de esta zona normalmente no se desprenden y por lo tanto es muy raro encontrarlas en los raspados vaginales. (18)

El siguiente estrato, la zona parabasal, está conformada por varias capas de células redondas. Por razones prácticas del trabajo, denominaremos a las células de este estrato, CELULAS BASALES.

El tercer estrato, la zona intermedia, está formada por células de forma navicular, de tamaño mayor, pero con el núcleo más pequeño que las células del estrato anterior. Estas células son más pequeñas y tienen un núcleo más grande que las células escamosas superficiales, de las cuales se pueden diferenciar por su forma. La forma de estas células que aquí llamaremos CELULAS INTERMEDIAS, es más definida que la de las células del estrato super-

ficial.

Las células del cuarto estrato no pueden ser distinguidas de las células escamosas superficiales en los raspados vaginales, por lo que se les agrupa con las del estrato siguiente.

El quinto estrato, la zona superficial, está formado por células largas, planas, algunas veces aparecen dobladas, de forma irregular o poligonal y un núcleo pequeño y picnótico. Algunas de estas células son basófilas (en proceso de cornificación) y otras acidófilas (cornificadas). La cornificación se debe principalmente al nivel de hormonas estrogénicas presente en ese momento en el organismo, lo cual está en íntima relación con la etapa del ciclo o de la vida reproductiva en que se encuentra el sujeto estudiado. En este trabajo nombraremos CELULAS SUPERFICIALES a las células de este estrato, independientemente del grado de cornificación que presenten.

Como se mencionó anteriormente, los cambios hormonales del animal tienen un efecto directo sobre el tipo de citología vaginal que presenten en un momento determinado. Sobre esto, Sanger (21) menciona lo siguiente:" Los estrógenos, naturales o sintéticos, tienen un efecto directo sobre el epitelio vaginal de la mayoría de las hembras mamíferas. Los cambios celulares ocurren en una secuencia ordenada (durante el ciclo estral) y pueden ser encontrados estudiando raspados vaginales tomados a intervalos regulares de tiempo."

El aumento de estrógenos en el organismo estimula el crecimiento del número de células de las capas medias y superficial de la vagina. Este aumento hace que se movilice glucógeno al interior de las células y esto causa la cornificación del estrato superficial y consocuentemente la esfoliación de las células de este estrato, al disminuir los niveles

# estrogénicos. (21)

A medida que los animales pre-púberes van creciendo, los niveles de estrógenos y de otras hormonas (FSH, ACTH y prolactina ) van sien\_ do cada vezmayoros hasta alcanzar el grado en que facilitan la aparición del primer calor o estro aparente. (10) d) La pubertad.

La pubertad ha tenido varias definiciones a través de los estudios que se han hecho de ella. La más ampliamente aceptada es la que menciona Dyrmundsson (7) en su trabajo. Esta define la pubertad como el momento en el que el animal es capaz de reproducirse por primera vez. Este mo-

mento se caracteriza por la producción de células reproductoras (gametos).

En las corderas es necesario hacer una distinción entre pubertad y madurez sexual, ya que éstas no logran totalmente su potencial reproductivo hasta que llegan a su peso adulto. En cambio, la pubertad entendida como el inicio de su capacidad reproductiva, la alcanzan aproximadamente cuando tienen el 60% de su peso adulto. (15)

Hafez (12) menciona que la pubertad en las ovejas se presenta cuando éstas tienen de 6-9 meses de edad. Sin embargo esto puede variar por distintos factores, por ejemplo, los niveles nutricionales. Si el crecimiento es acelerado por sobrealimentación, el animal alcanza la pubertad a más temprana edad; por otro lado, si el crecimiento es retardado por subalimentación la pubertad se presenta más tarde.

Factores de manejo y climáticos, principalmente, modifican la edad a la que se presenta la pubertad. En animales, como las evejas, en los

que la actividad reproductiva está relacionada con los cambios estacionales como la fotoperiodicidad, la edad a la que la primera ovulación ocurre varía mucho.

El momento de la primera ovulación está marcadamente afectado por la época del año en que nació el animal. Ovejas que presentaron maduración sexual temprana es que nacieron al inicio de la primavera (marzo-abril). Estos animales ciclarán y concebirán a los 6-8 meses de edad; mientras que los que nacieron al final de la primavera (mayo-junio), no ciclarán hasta que tengan alrededor de 16 meses, o sea el otoño del siguiente año.

La temperatura ambiente es otro factor que también influye en la presencia de la pubertad, ya que se ha visto en animales que viven en climas máscálidos la presencia de ésta a más temprana edad. (7)

Un último factor que influye sobre el momento en que se presente el primer estro es la presencia o no de machos con las ovejas. Cuando hay contínuo contacto con machos la pubertad se presenta más temprano que cuando no tienen ningún contacto con ellos. (7) e) Hipótesis.

La hipótesis del presente trabajo es: Habrá una maduración progresiva del epitelio vaginal a causa de que aumentan gradualmente los niveles de estrógenos durante el tiempo precedente al primer celo. Por esta maduración progresiva los raspados vaginales, que se tomarán periódicamente, traerán células en distinto grado de maduración, dependiendo de lo más o menos cerca de la pubertad que se halla tomado la muestra. Al inicio de la pubertad se espera que aparezcan las células que han cumplido su ciclo de maduración completamente (células superficiales), y entonces se-

rá posible identificar la pubertad con la presencia de estas células. f) Objetivo.

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio preliminar (prueba piloto), sobre la citología vaginal exfoliativa de las corderas desde los dos meses de edad, hasta el inicio de su actividad sexual, para determinar si se producen cambios celulares que nos indiquen que han alcanzado la pubertad.

#### 3.- MATERIAL Y METODO.

El estudio se realizó en el COPEA de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en el Distrito Federal en la delegación Tlalpan, sobre el camino a Topilejo que entronca en el km. 29 de la carretera federal México-Cuernavaca. Este centro se encuentra a 19°10' latitud Norte y 99°10' longitud Oeste, a 2800 m. de altura sobre el nivel del mar y con un clima templado sub-húmedo. La temperatura media anual es de 13.7°c.

El trabajo se llevó a cabo durante los meses de marzo a octubre de 1980.

Se utilizaron cuatro corderas de la cruza Tabasco x Polled Dorset de dos meses de edad.

Los animales se encontraban estabulados en explotación intensiva y la alimentación consistía en forraje y concentrado.

Las muestras de la citología vaginal se tomaron de la porción anterior o fornix de la vagina, con un hisopo humedecido en solución salina fisiológica. Para la toma de muestra se utilizaron un espéculo y una fuente de luz.

Una vez tomada la muestra con el hisopo, se hizo un frotis sobre un portaobjetos y se fijó con cito-spray.

Los frotis fueron tomados cada tercer día hasta la presentación del primer celo. La tinción de las laminillas se hizo de acuerdo al método de Papanicolaou. (18)

Para la detección del celo las hembras fueron expuestas diariamente a la presencia de un macho vasectomizado, de acuerdo al método descrito por Valencia et al (24). Los días del primer celo se tomaron como

el último período en que se muestrearía.

En el laboratorio se evaluaron los frotis observándolos al microscopio de luz a 400x y estableciendo el porcentaje encontrado de cada tipo celular con respecto al total: Células basales + Células intermedias + Células superficiales = 100% de las células del frotis.

Se evaluaron los porcentajes de los distintos tipos celulares durante la etapa de la pre-pubertad, buscando algunas constantes y se compararon con los porcentajes de células durante los días del primer celo.

#### 4.- RESULTADOS.

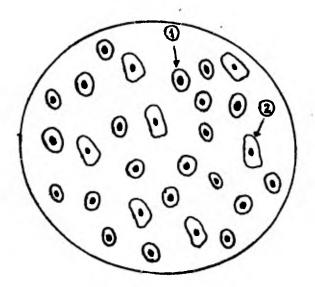
Desde que se empezaron a tomar las muestras de la citología vaginal hasta 15-18 días antes de que las ovejas presentaran su primer celo, los rangos encontrados en los porcentajes de células del frotis vaginal de las ovejas fue de: 0% de superficiales, 5-20% de intermedias y 80-90% de basales. (fig. 1)

De 15-18 días antes de la primera manifestación de signos de estro se encontró un aumento de células superficiales que llegó a 30%, 70% y 50% en tres corderas, respectivamente (fig. 2). Esto duró en un caso dos días y en dos casos un día. Posteriormente disminuyó su porcentaje sin desaparecer totalmente, manteniéndose alrededor del 20% hasta que presentaron el primer celo.

Durante los días del primer celo los porcentajes evaluados fueron: 95-100% de células superficiales, 0-5% de intermedias y 0% de basales. (fig.3)

La presencia de leucocitos en las muestras a lo largo del estudio fue intermitente, baja y sin ninguna secuencia.

Solamente la oveja #1 no fue detectada en calor por el macho vasectomizado y no se encontraron cambios en su citología vaginal. Esta cordera se dejó de muestrear a los 300 días de edad con un peso de 40 kgs., es decir habiendo rebasado los limites de peso y edad normales para empezar a ciclar, según lo reportado por Dyrmundsson para ovejas de esta raza. (7)



Fifura 1.- Imagen de la citología vaginal exfoliativa de la oveja durante la época prepuberal. Predominan las células basales (1) sobre las intermedias (2).

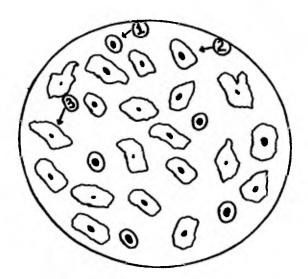


Figura 2.- Imagen de la citología vaginal exfoliativa de la oveja entre 15 y 18 días antes de que se presentaran los primeros signos de celo. Ya hay presencia de células superficiales (3). También hay intermedias (2) y muy pocas basales (1).

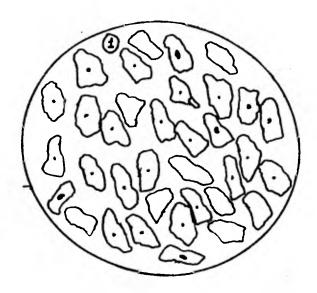


Figura 3.- Imagen de la citología vaginal exfoliativa en la oveja durante el primer estro aparente. Hay predominio casi total de células superficiales (1).

# CUADRO 1

# de oveja	edad a la pubertad (dfas)	peso a la pubertad (kgs.)	aparición de céls. superficiales y %	porcentajes durante los días del primer celo. (s/i/b)*
1	-	-	-	-
2	268	27.5	15 dias antes del primer celo (30%)	90 / 10 / 0
3	270	28	18 dfas antes del primer celo (70%)	100 / 0 / 0
4	253	26	16 dias antes del primer celo (50%)	95 / 5 / 0

<sup>\*</sup> s= superficiales

i= intermedias

b= basales.

#### 5.- DISCUSION.

La edad y el peso a que apareció la pubertad en las tres corderas en que fue diagnosticada, se encuentran dentro de los rangos que marca Dyrmundsson (7) para ovejas de esta cruza. Por lo tanto se puede decir que apareció normalmente en estos tres animales.

La etapa de la pre-pubertad y pubertad, en las ovejas, se puede dividir en varias partes de acuerdo al tipo de citología vaginal exfoliativa que presenten: la.) desde los dos meses de edad (o antes), hasta un promedio de 17 días antes de que se presente el primer celo; 2a.) una etapa que dura de 1 a 2 días y que ocurre entre 15 y 18 días antes de que se presente el primer celo; 3a.) desde que termina la anterior etapa hasta que la oveja acepta al macho y 4a.) los días que dura el primer celo.

Durante la primera fase, el porcentaje de células basales es predominante. Hay aparición progresiva de células intermedias. Esta etapa dura hasta que empiezan a aparecer en porcentajes significativos (+ del 30%), las células superficiales. En esta etapa hay apariciones esporádicas de células superficiales.

Durante la segunda etapa se presenta un marcado aumento de células superficiales, (+ del 30%); este momento muy probablemente corresponde a la primera ovulación que no va acompañada de celo.

La tercera etapa es entre la primera ovulación (hipotética), que no fue acompañada de celo, y la segunda, ésta sí con aceptación del macho. En esta etapa hay una disminución del porcentaje de células superficiales, pero no desaparecen totalmente. Hay porcentajes variables de células intermedias y basales.

La cuarta etapa corresponde a los días en que la oveja muestra su

primer celo; dura de 2 a 3 días y en el raspado vaginal hay predominancia casi total de células superficiales (95-100%). Las células intermedias están en bajos porcentajes (0-5%) y las basales no se observan.

El aumento de células superficiales que se encontró 15-18 días antes de la aparición del primer celo, es probablemente debido a la primera ovulación. Esta primera ovulación en las ovejas normalmente no va acompañada de aceptación del macho, como lo marcan varios autores, entre ellos Mc Donald (15) y Austin and Short (2). Es probable que esto se deba a que es necesaria la progesterona de esta primera ovulación para facilitar la presencia de signos de estro en el siguiente ciclo, que en este caso ya sería el segundo. (2)

Lo anterior sugiere que la prueba de la citología vaginal puede ser utilizada como prueba de detección temprana de la pubertad, al observarse el momento de la primera ovulación. Después del diagnóstico de la primera ovulación, puede esperarse que la cordera acepte al macho más o menos 17 días después.

Los resultados obtenidos de las evaluaciones de los días del primer celo, corresponden a los mismos tipos de células que encontró Sanger (21) durante el estro en su estudio sobre la citología vaginal exfoliativa durante el ciclo estral. Esto sugiere que desde el primer celo se observa un tipo de frotis característico del estro, que se identifica por la predominancia casi total de células superficiales.

La oveja #1 no mostró cambios en la citología vaginal ni fue detectada en celo por el macho vasectomizado hasta la edad de 300 días, que fue el momento en que terminó el estudio. Probablemente lo que sucedió con este enimal fue que alcanzó el peso adecuado para presentar su primer celo en una época del año que coincidió con el anestro estacional de esta especie en México. Valencia et al (24), mencionan una reducción en la presentación de estros en los meses de febrero a junio en ovejas Dorset y Criollas.

La hipótesis de este trabajo se comprobó al corroborarse que hubo una maduración progresiva del epitelio vaginal desde que empezaron a muestrearse los animales, hasta que terminó el estudio. Lo antes mencionado se verifica al ver que junto con el estro hay un elevado nivel de descamación de células superficiales.

El número de animales utilizado en este trabajo fue bastante reducido, aunque suficiente para realizar el estudio preliminar. Este último punto sugiere la necesidad de continuar la investigación con un número mayor de animales.

## 6.- CONCLUSIONES.

Se observó un aumento de cólulas superficiales en tres ovejas 15 a 18 días antes del primer celo aparente, lo que probablemente indique que en esas ovejas ocurrió la primera ovulación en esos días y por lo mismo la aparición de la pubertad.

La pubertad en tres ovejas fue alcanzada a los 268, 270 y 253 días de edad.

Una oveja no mostró cambios en al citología vaginal exfoliativa a lo largo de todo el período de observación.

De acuerdo a lo anterior, se puede concluir que es posible la identificación de la primera ovulación y la predicción del primer celo en la oveja a través del método de la citología vaginal exfoliativa. Esto se hace por medio de la identificación del porcentaje de células superficiales que aparezca en el frotis vaginal teñido con la técnica de Papanicolaou.

Una última conclusión que se puede obtener de este trabajo es que a partir del primer estro se encontrará el mismo tipo de porcentajes celulares en esta etapa del ciclo estral. Estos porcentajes serán de casi un 100% de células superficiales en los días del celo.

### 7.- BIBLIOGRAFIA.

- 1) Asdell, S.A.: Patterns of mammalian reproduction. 2nd. ed. <u>Comstock</u> Publishing <u>Associates</u>, New York, 1964.
- 2) Austin, C.R. and Short, R.V.: Reproduction in mammals; Hormones in reproduction. Cambridge University Press, London, 1972.
- 3) Basson, W.D.: Growth and puberty of lambs raised under intensive conditions. Proc. S. Afr. Soc. Anim. Prod., 9: 171-175 (1970).
- 4) Cole, H.H.: Vaginal smear of the ewe. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 28: 841-843 (1931).
- 5) Cole, H.H.: Reproduction in domestic animals. 3rd. ed. <u>Academic</u> Press, New York, 1977.
- 6) Departamento de Reproducción: Manual de prácticas en reproducción. Fac. Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1980.
- 7) Dyrmundsson, O.R.: Puberty and early reproductive performance in .
  sheep; I. Ewe lambs. Anim. 8reed. Abst., 41: 273-289 (1973).
- 8) Ensminger, M.E.: Producción ovina. 2a. ed. <u>El Ateneo</u>, Buenos Aires, 1976.

- 9) Foote, W.C.: Puberal estrous and ovulation and subsequent estrous cycle patterns in the ewe. J. Anim. Sci., 30: 86-90 (1970).
- 10) González-Padilla, E.: La aparición de la pubertad en vaquillas. Ciencia Veterinaria, 2: 293-324 (1978).
- 11) Grant, R.: Studies of the physiology of reproduction in the ewe. Tr. Roy. Soc. Edin., 58, part I: 1-47 (1933-1934).
- 12) Hafez, E.S.E.: Reproduction in farm animals. 4th. ed. <u>Lea and</u> Febiger, Philadelphia, 1980.
- 13) Joubert, D.M.: Puberty in female animals. Anim. Breed. Abst., 31: 295-306 1963).
- 14) Jurgenson, E.M.: Prácticas aprobadas en la explotación del ganado lanar. 2a. ed. <u>Compañía Editorial Continental</u>, S.A., México, D.F., 1979.
- 15) Mc Donald, L.E.: Reproducción y endocrinología veterinarias. 2a. ed. Interamericana, México, D.F., 1978.
- 16) Mendoza, G.: Evaluación de la eficiencia reproductiva y productiva de tres explotaciones ovinas en la zona de Ajusco, D.F. Tesis de licenciatura, Fac. Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1977.

- 17) Moreno, R.: Estado actual y perspectivas de la producción ovina en México. Vet. Méx., 7: 136-141 (1976).
- 18) Papanicolaou, G.H.: Atlas of exfoliative citology. Commonwealth Fund., New York, 1954.
- 19) Radford, H.M.: Changes in the vaginal contents of the merino ewe throughout the year. Am. J. Agric. Res., 6: 431-445 (1955).
- 20) Robertson, H.A.: Reproduction in the ewe and the goat. En: Cole, H.H. y P.T. Cupps (ed). Reproduction in domestic animals, 3rd. ed. Academic Press, New York, pp. 477-479, 1977.
- 21) Sanger, V.L.: The vaginal citology of the ewe during the estrous cycle. Am. J. Vet. Res., 19: 283-287 (1958).
- 22) Sanger, V.L.: Evidence of estrogenic estimulation in anestrous ewes pastured on ladino clover and birdsfoot trifoil, as revealed by vaginal smears. Am. J. Vet. Res., 19: 288-294 (1958).
- 23) Terril, C.E.: Sheep in: Reproduction in farm animals. Hafez, E.S.E. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1980.
- 24) Valencia, J., Barrón, C. y Fernández-Baca, S.: Variaciones estacionales de la presentación de estros en ovejas Dorset y Criollas en México. Vet. Méx., 9: 45-50 (1978).

- 25) Valencia, J., Barrón, C. y Ortiz, A.: Presentación de estros en ovejas criollas a lo largo del año. Vet. Méx., 11: 71-74 (1980).
- 26) Wheeler, A.G.: Seasonal variation in estrous and ovarian activity of Finish landrace, Tasmanian merino and Scottish black face ewes.

  Anim. Prod., 24: 363-376 (1977).