

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

MANIPULACIÓN DE LA OLEADA FOLICULAR MEDIANTE
LA APLICACIÓN DE LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO LIBRE
DE ESTEROIDES O PROGESTERONA PREVIO A LA
LUTEÓLISIS PARA INCREMENTAR LA TASA DE
OVULACIÓN EN OVEJAS DE PELO

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PRESENTA

JOSÉ ENRIQUE JAVIER OLLOQUI PANG

Asesores:

MVZ PhD Carlos G. Gutiérrez Aguilar
MVZ MPA J. Alberto Balcázar Sánchez

México, D.F.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	8
2.1 Fisiología del Ciclo Estral	9
2.1.1 Proestro	9
2.1.2 Estro	9
2.1.3 Metaestro	9
2.1.4 Diestro	10
2.2 Sincronización del ciclo estral	10
2.2.1 CIDR (<i>control internal drug release dispenser</i>)	11
2.2.2 MGA (Acetato de Melengestrol)	12
2.2.3 Norgestomet	13
2.2.4 FGA (Acetato de Fluorogestona)	13
2.2.5 Prostaglandina F _{2α}	14
2.2.6 Efecto Macho	15
2.2.7 Efecto Hembra	16
2.3 Desarrollo Folicular.....	17
2.3.1 Reclutamiento Folicular.....	19
2.3.1.1 Reclutamiento inicial.	20
2.3.1.2 Reclutamiento cíclico.	20
2.3.2 Selección Folicular.....	21
2.3.3 Dominancia Folicular.....	22
2.4 Manipulación de Oleadas Foliculares.....	24
2.4.1 Uso de la Progesterona para manipular oleadas foliculares.....	25
2.5 Métodos para incrementar la tasa de ovulación.....	26
2.5.1 Administración de Gonadotropinas.....	27
2.5.2 Inmunización contra inhibina y hormonas esteroides.....	28
2.5.3 Sobrealimentación previa al apareamiento (<i>Flushing</i>).....	29
2.5.4 Líquido Folicular Equino (LFE).....	30
3. JUSTIFICACIÓN.....	33
4. HIPÓTESIS	33
5. OBJETIVO	33

CONTENIDO

6. MATERIALES Y MÉTODOS	
Localización.....	34
Animales y diseño experimental.....	34
Preparación del líquido folicular equino (LFE).....	35
Experimento 1. Efecto del Líquido Folicular Equino (LFE) dos días previos a la luteólisis en la tasa ovulatoria en ovejas de pelo.....	36
Experimento 2. Efecto de la Progesterona (P4) o Líquido Folicular Equino (LFE) dos o tres días previos a la luteólisis en la tasa ovulatoria en ovejas pelo.	37
Experimento 3. Efecto de la Progesterona (P4) dos o tres días previos a la luteólisis en la tasa ovulatoria en ovejas de pelo.	38
Variables evaluadas	39
Análisis estadísticos	39
7. RESULTADOS	
Experimento 1. Efecto del Líquido Folicular Equino (LFE) dos días previos a la luteólisis en la tasa ovulatoria en ovejas de pelo.	40
Experimento 2. Efecto de la Progesterona (P4) o Líquido Folicular Equino (LFE) dos o tres días previos a la luteólisis en la tasa ovulatoria en ovejas pelo.	41
Experimento 3. Efecto de la Progesterona (P4) dos o tres días previos a la luteólisis en la tasa ovulatoria en ovejas de pelo.	46
8. DISCUSIÓN.....	50
9. CONCLUSIONES.....	57
10. LITERATURA CITADA.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de ovejas con pariciones simples, dobles o triples del grupo control (C) y el grupo tratado con Líquido Folicular Equino dos días antes de la aplicación de PGF2 α (LFE-2)	67
Figura 2. Porcentaje de ovejas que manifestaron conducta estral del grupo control (C) y los grupos de tratamiento con Líquido Folicular Equino (LF-2 y LF-3) o Progesterona (P4-2 y P4-3)	68
Figura 3. Porcentaje de ovejas gestantes del grupo control (C) y los grupos de tratamiento con Líquido Folicular Equino (LF-2 y LF-3) o Progesterona (P4-2 y P4-3)	69
Figura 4. Porcentaje de ovejas que presentaron ovulaciones simples o múltiples del grupo control (C) y los grupos de tratamiento con Líquido Folicular Equino (LF-2 y LF-3) o Progesterona (P4-2 y P4-3)	70
Figura 5. Porcentaje de ovejas con ovulaciones simples, dobles, triples, cuádruples o quíntuples para el grupo Control y para los grupos de tratamientos, dos y tres días antes de la aplicación de PGF2 α	71
Figura 6. Porcentaje de ovejas con parición simple, doble o triple del grupo control (C) y los grupos en tratamiento (LF-2, LF-3, P4-2 y P4-3)	72
Figura 7. Porcentaje de ovejas que manifestaron conducta estral del grupo control (C) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-2 y P4-3)	73
Figura 8. Distribución de las ovejas conforme al tiempo (días) que tardaron en presentar conducta estral posterior a la aplicación de la dosis luteolítica de PGF2 α	74
Figura 9. Porcentaje de ovejas gestantes del grupo control (C) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-2 y P4-3)	75
Figura 10. Porcentaje de ovejas que presentaron ovulaciones simples o dobles del grupo control (C) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-2 y P4-3)	76
Figura 11. Porcentaje de ovejas con parición simple o doble del grupo control (C) y los grupos en tratamiento (P4-2 y P4-3)	77

SUMMARY

OLLOQUI PANG JOSÉ ENRIQUE JAVIER. **MANIPULATION OF THE FOLLICULAR WAVES USING FOLLICULAR FLUID EQUINE FREE OF STEROIDS OR PROGESTERONE BEFORE TO LUTEOLISIS FOR INCREMENT THE OVULATION RATE ON HAIR'S EWES** (Supervisor: PhD. Carlos G. Gutiérrez Aguilar and MPA. Juan Alberto Balcázar Sánchez).

The ovulation rate (OR) is a key factor with direct effect in prolificacy. The rise in OR is reflected increased in prolificacy, therefore, better productivity. The objective of these studies were to increase OR by controlling follicular selection and recruitment. The hypothesis was that follicle selection at the time of luteolysis, will lead in an increase of number of follicles selected and a rise in OR.

To make follicle selection and luteolysis coincide in time a new wave of follicular development was induce with either fluid follicular equine free of steroids (FF) or Progesterone (P4) two or three days before to start the luteolysis (caused Prostaglandin $F_{2\alpha}$) and retirement of the implants of chronogest.

On experiment 1 the effect of FF (6 ml/n= 21) (FF-2) two days before $PGF_{2\alpha}$, was evaluated on prolificacy, it was found that treatment increased ($P<0.002$) prolificacy (1.05 to 1.54) control group (C) (n= 59) compared to the FF-2.

The second experiment evaluated the effect from FF or P4 two or three days before of the retirement of progestin implants and injection $PGF_{2\alpha}$. The OR from the group control (C) (n= 25) was (1.17) and the prolificacy (1.09); Progesterone treatment three days before luteolysis (P4-3) (n= 30), increased ($P=0.01$) OR

(1.89) and prolificacy (1.52) ($P=0.002$). Similarly treatment P4 two days before to luteolysis (P4-2) ($n= 27$), increased ($P=0.008$) OR by (2.0) and prolificacy to (1.52) ($P=0.003$), follicular fluid treatment three days before to luteolysis (FF-3) ($n= 24$), increased ($P>0.05$) OR by (1.55) and prolificacy (1.47) ($P= 0.007$) whilst treatment FF two days before to luteolysis (FF-2) ($n= 29$), increased ($P=0.0002$) OR (1.8) and the prolificacy (1.54) ($P=0.05$).

Experiment 3 evaluated the effect from P4 two or three days before the retirement of the progestin implants and injection $PGF2_{\alpha}$. The OR from control ewes (C) ($n= 92$) was (1.06) and prolificacy (1.04); Progesterone treatment three days before luteolysis (P4-3) ($n= 61$), increased ($P<0.05$) OR (1.45) and prolificacy (1.25) ($P<0.01$); Progesterone treatment two days before luteolysis (P4-2) ($n= 65$), increased ($P=0.04$) OR 1.4 and prolificacy 1.33 ($P<0.01$) increased by 27.88% respect control ewes.

It is concluded that treatment with FF or P4 two or three days before to start of the luteolysis; increased the OR and prolificacy. Probably, the increase in OR is due to the demise of dominant follicle; thus, allowing the selection of two or more ovulatory follicles at the start of proestrus.

RESUMEN

OLLOQUI PANG JOSÉ ENRIQUE JAVIER. MANIPULACIÓN DE LA OLEADA FOLICULAR MEDIANTE LA APLICACIÓN DE LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO LIBRE DE ESTEROIDES O PROGESTERONA PREVIO A LA LUTEÓLISIS PARA INCREMENTAR LA TASA DE OVULACIÓN EN OVEJAS DE PELO (Bajo la dirección de: MVZ. PhD. Carlos G. Gutiérrez Aguilar y MVZ. MPA. Juan Alberto Balcázar Sánchez).

La tasa ovulatoria (TO) es un factor importante que interviene directamente en la prolificidad. El aumento en la TO refleja una mayor prolificidad y por ende, un mejor rendimiento en la producción. El objetivo de este estudio fue aumentar la TO por medio del control del reclutamiento y selección folicular. Se hipotetizó que provocar el recambio 2 o 3 días previos a la luteólisis, y hacer coincidir el momento de la selección con la luteólisis conllevará a un aumento en el número de folículos seleccionados y un aumento en TO.

Para hacer coincidir estos dos eventos se provocó el recambio folicular con progesterona (P4) o líquido folicular equino libre de esteroides (LFE), aplicándolo 2 o 3 días previos al inicio de la luteólisis (inducido por $\text{PGF2}\alpha$) y retiro del progestágeno. Se realizaron 3 estudios:

El experimento 1 se aplicó al grupo tratado 6 ml de LFE (LFE-2) (n= 21) el día 5 del ciclo estral y al día 7 se aplicó $\text{PGF2}\alpha$, se incrementó la prolificidad del grupo testigo (T) (n= 59) 1.05 a 1.54 (LFE-2) ($P<0.002$).

En el experimento 2 se aplicó a los grupos tratados LFE o P4 dos o tres días antes del retiro del implante y la aplicación de PGF2 α . La TO del grupo testigo (T) (n= 25) fue de 1.17 y la prolificidad de 1.09, para el grupo tratado con Progesterona tres días previos a la luteólisis (P4-3) (n= 30) la TO fue de 1.89 (P=0.01) con una prolificidad de 1.52 (P=0.002), para el grupo tratado con Progesterona dos días previos a la luteólisis (P4-2) (n= 27) la TO fue de 2.0 (P=0.008) con una prolificidad de 1.52 (P=0.003), para el grupo tratado con Líquido Folicular Equino tres días previos a la luteólisis (LF-3) (n= 24) la TO fue de 1.55 (P>0.05) con una prolificidad 1.47 (P= 0.007) y al grupo tratado con Líquido Folicular Equino dos días previos a la luteólisis (LF-2) (n= 29) la TO fue de 1.8 (P=0.0002) con una prolificidad de 1.54 (P=0.05).

En el experimento 3 se aplicó P4 dos o tres días antes del retiro del implante y la aplicación de PGF2 α . La TO del grupo testigo (T) (n= 92) fue de 1.06 con una prolificidad de 1.04, para el grupo tratado P4-3 (n= 61) la TO fue de 1.45 (P<0.05) con una prolificidad de 1.25 (P<0.01) y para el grupo tratado P4-2 (n= 65) la TO fue de 1.4 (P=0.04), con una prolificidad de 1.33 (P<0.01).

Se concluye que el tratamiento con LFE o P4 dos o tres días previos a la inducción de la luteólisis; incrementa la TO y la prolificidad. Probablemente el aumento en TO es debido a la eliminación del folículo dominante, lo que permite la selección de dos o más folículos ovulatorios al inicio del proestro.

INTRODUCCIÓN

Para determinar la eficiencia reproductiva en una explotación pecuaria, uno de los parámetros más importantes es la prolificidad, la cual se define como el número de crías nacidas entre el número de hembras paridas.¹ La prolificidad guarda una relación directa con la tasa de ovulación.² La tasa de ovulación se define como el número de folículos que libera un ovocito en un determinado ciclo estral. La tasa de ovulación puede ser manipulada por modificaciones de la dieta durante períodos críticos del crecimiento folicular o la administración de hormonas exógenas.³

La nutrición es el principal factor ambiental que determina la tasa ovulatoria en pequeños rumiantes. Se ha demostrado que un incremento en el suplemento de energía estimula el desarrollo folicular y aumenta la tasa ovulatoria en ovejas, a esto se le conoce como “*flushing*” .⁴ A los animales que se les aplica *flushing* presentan resultados variables, dependiendo de su condición corporal⁵, los ingredientes utilizados en la dieta^{6,7,8} y la duración de este manejo nutricional, el cual, varía entre 6 a 56 días para obtener un incremento significativo en la tasa ovulatoria.⁶ Actualmente se utilizan tratamientos de soluciones glucogénicas como suplementación a corto plazo, pero la respuesta depende de la etapa de desarrollo folicular en la que se aplique.^{10,11}

La inmunización contra inhibina o sus subunidades y hormonas esteroides, actúan promoviendo una reducción de la atresia de folículos ováricos, un incremento en el número de pulsos de hormona luteinizante (LH) y una modificación de la acción

local de los esteroides.¹² La inmunización contra inhibina actúa por una elevación significativa de hormona folículo estimulante (FSH) periférica, la cual coincide con el incremento de folículos ováricos grandes, medianos y pequeños, sin la producción excesiva de estradiol como en el caso de la administración con gonadotropinas exógenas.¹³

La administración exógena de alguna hormona con efecto de FSH va a permitir que los folículos subordinados sigan creciendo y lleguen a ovular.¹⁴ Las hormonas que pueden ser utilizadas son la FSH y eCG, ambas estimulan el crecimiento y desarrollo folicular.

El desarrollo folicular, es el proceso de crecimiento continuo y regresión de folículos antrales que conduce al desarrollo del folículo preovulatorio debido al crecimiento de dichas estructuras en oleadas o grupos.¹⁵

En un ciclo estral ocurre un desarrollo folicular acompañado de un reclutamiento, selección y dominancia, la oveja presenta de 1 a 3 oleadas de crecimiento folicular¹⁶ y en algunos casos hasta 4¹⁷ estas van asociadas con los patrones de secreción de FSH.¹⁸ La formación de una población de folículos antrales de los cuales uno o varios, son seleccionados para la ovulación se le conoce como reclutamiento.¹⁹ En cada ciclo ovárico es reclutado un grupo de folículos primordiales que crecen de manera continua debido a los incrementos en las concentraciones de FSH.²⁰

El reclutamiento ocurre durante la fase folicular temprana y la fase lútea temprana, mientras que los patrones pulsátiles de LH en estas dos etapas difieren marcadamente.²¹ Aún se desconoce el porqué algunos folículos inician su crecimiento tan pronto como se forman, mientras que otros permanecen en

latencia durante mucho tiempo.²² La selección puede deberse a la interferencia de los folículos maduros grandes ejercidos sobre los de cohorte, evitando que reciba un adecuado aporte de gonadotropinas. Esto puede lograrse mediante dos formas: una pasiva en donde los folículos grandes inhiben indirectamente el crecimiento de los subordinados, por una reducción de la concentración de FSH. La activa en donde inhibe directamente el desarrollo, por la secreción de sustancias en la sangre que reducen su sensibilidad a la FSH. Existe evidencia que la pasiva es la que ocurre en las ovejas.²¹

El folículo dominante crece a una tasa constante y el resto de los folículos subordinados sufren atresia o temporalmente crecen a una velocidad menor y posteriormente dejan de hacerlo. A este fenómeno se le denomina desviación folicular.²³ Este ocurre durante un descenso progresivo en las concentraciones circulantes de FSH y un incremento inicial en la LH.²⁴ Los factores intrafoliculares que provocan variaciones en la etapa de selección son: el sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF's), esteroides (estradiol), receptores de gonadotropinas (principalmente los receptores de LH), -implicados temporalmente- y la inhibina-A, activina-A, factores angiogénicos, entre otros.²⁵ Los IGFs funcionan como moduladores de la acción de las gonadotropinas a nivel celular, estimulando la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa y de la teca.²⁶

Los folículos seleccionados tienen concentraciones más altas de estradiol en el fluido folicular, debido a un aumento en los niveles de ARNm para la aromatasa en las células de la granulosa, promoviendo la conversión de andrógenos a estradiol.²² Los folículos son funcionalmente dominantes (capaces de ovular después de la regresión lútea) mientras continúen con su crecimiento. La

dominancia funcional se pierde en algún momento entre la fase temprana y tardía de la meseta de crecimiento, mientras que el folículo es morfológicamente de mayor tamaño (folículos grandes).¹⁹

La dominancia puede relacionarse a la secreción de factores autócrinos (IGF₁), los cuales amplifican la acción de FSH en la aromatización y en los receptores de LH del folículo dominante, los cuales definen el mantenimiento de la dominancia.²¹ En vaquillas se ha observado que las células de la granulosa del futuro folículo dominante adquieren receptores para LH justo antes de que comience la desviación, esto implica el efecto funcional que tiene la LH en las células de la granulosa provocando los eventos que conducen a la desviación y el descenso de FSH.¹⁵

El mecanismo por el cual uno o más folículos dominantes ováricos continúan su desarrollo mientras otros folículos subordinados sufren regresión, no está del todo establecido. Los folículos son funcionalmente dominantes (capaces de ovular después de la regresión lútea) mientras continúen con su crecimiento.¹⁹ La manipulación de estas etapas del desarrollo folicular proponen un avance en la reproducción de los animales domésticos.

Diversos estudios demuestran la posibilidad de manipular el desarrollo folicular de ovinos con diferentes tratamientos hormonales, tales como esteroides, prostaglandinas, progesterona y gonadotropinas. La manipulación del desarrollo folicular puede presentar resultados variables, por la influencia de distintos factores como ambientales, estado reproductivo, longitud del período postparto, número de lactación, entre otros.²⁷ Cuando la fase lútea es extendida artificialmente con dosis bajas de progesterona exógena, el patrón normal de

desarrollo folicular es alterado y el folículo ovulatorio crece por un período prolongado de tiempo.¹⁹ El incremento de la concentración de progesterona suprime la secreción pulsátil de LH y el crecimiento folicular, ocasionando el surgimiento de una nueva oleada folicular.²⁸

El Líquido Folicular Equino Libre de Esteroides (LFE), se asocia con la supresión en la síntesis y secreción de la FSH en la hipófisis anterior^{29,30,31}. En la aplicación de LFE la secreción de LH no se ve afectada.³²

García, Hernández y Valencia (2001)³³ administraron 3 ml de LFE cada 8 horas durante 72 horas aumentando la tasa ovulatoria, por el efecto inhibitor del LFE y obtener un efecto de “rebote” en el incremento de FSH.

Sin embargo, no se ha intentado incrementar la tasa ovulatoria por medio de la manipulación de la etapa de desarrollo folicular, y así promover el recambio folicular dos o tres días antes de que ocurra la luteólisis, induciendo un nuevo reclutamiento folicular y provocar la selección de dos o más folículos ovulatorios.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

Las ovejas de pelo son una importante fuente de alimentos en muchas áreas tropicales de Latinoamérica, las principales ventajas son el alto grado de adaptación al medio tropical y la ausencia de un anestro estacional profundo. La principal desventaja es su menor productividad debido a la poca selección genética, nutrición inadecuada y su limitado manejo reproductivo.¹⁷

La selección de razas que no presenten una marcada estacionalidad es una forma de hacer más eficiente programas reproductivos, se conoce que las borregas de pelo como las de la raza pelibuey son capaces de ovular durante todo el año (60%) con un anestro corto estacional de 65 ± 46 días; mientras que las de raza suffolk sufren un anestro estacional más marcado de 166 ± 43 días.³⁴

Para determinar la eficiencia reproductiva en producción ovina, uno de los parámetros más importantes es la prolificidad, la cual se define como el número de crías nacidos por el número de hembras paridas.¹ La prolificidad guarda una relación directa con la tasa ovulatoria.² La tasa ovulatoria se define como el número de folículos liberados en cada ovulación en un determinado ciclo estral.

En un estudio realizado con ovejas pelibuey³⁵ observaron una alta tasa ovulatoria mediante el conteo directo de cuerpos lúteos de 1.2 a 2.2 cuerpos lúteos por ovulación.

Por estas razones, el conocer la tasa ovulatoria mediante el conteo directo de cuerpos lúteos, es una herramienta eficiente para pronosticar la prolificidad.

2.1 Fisiología del Ciclo Estral

La duración promedio del ciclo estral es de 17 ± 2 días con variaciones debido a diferencias de raza, latitud geográfica, el clima y el manejo bajo los cuales se realice su cría.³⁶ González *et al.*, (1992)³⁵ encontraron que la actividad estral en ovejas pelibuey es continua durante todo el año bajo condiciones de pastoreo y suplementación nocturna en corral, en una latitud de 22°; presentando una actividad más baja, durante los meses de marzo y abril y más alta durante agosto y septiembre ($P < 0.05$).

Los ciclos estrales pueden clasificarse de acuerdo a su longitud de tal manera observamos ciclos estrales cortos (<14 días), largos (20-26 días) y múltiples (>27 días). Con base en sus etapas se dividen en dos: la fase folicular (proestro y estro) y la fase lútea (metaestro y diestro).³⁷

2.1.1 El Proestro. Dura aproximadamente 2 días se caracteriza por el continuo crecimiento folicular e inicia cuando ocurre la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y concluye con la receptividad sexual.³⁶

2.1.2 El Estro. Tiene una duración de 24-48 horas ésta es influida por la raza, edad, la estación del año y la presencia del macho.³⁸ La oveja es considerada de ovulación espontánea, la cual ocurre aproximadamente unas 24-30 horas después del inicio del estro.³⁶

2.1.3 El Metaestro. Tiene una duración de dos días, inicia cuando termina la receptividad sexual. El ovario se comienza a llenar de sangre en el o los folículos que ovularon constituyendo lo que se conoce como cuerpo hemorrágico y esta etapa concluye con la formación de un cuerpo lúteo bien establecido.³⁶

2.1.4 El Diestro. Tiene una duración de 12 días y en este período predomina la influencia de la progesterona secretada por el cuerpo lúteo, la cual prepara al útero a recibir una posible gestación.³⁶

2.2 Sincronización del ciclo estral

Para que las ovejas manifiesten estro en un momento predecible, una práctica muy empleada es la sincronización del ciclo estral la cual nos permite realizar montas naturales, inseminaciones artificiales, agrupar nacimientos y programar destetes.³⁹

Una forma de sincronizar el estro puede ser mediante métodos naturales como la bioestimulación (efecto macho y efecto hembra) y manipulación del fotoperíodo o por métodos hormonales como la aplicación de progestágenos. Dentro de este grupo se encuentra la progesterona natural: CIDR⁴¹ y progestágenos sintéticos: acetato de melengestrol (MGA), el norgestomet y el acetato de fluorogestona (FGA).⁴¹ Así también como la aplicación de prostaglandina F_{2α}.

2.2.1 CIDR (*control internal drug release dispenser*)

El CIDR es un dispositivo intravaginal hecho de un elastómero de silicón impregnado con 9% de progesterona (0.37 g). El CIDR-S fue un prototipo desarrollado para ser utilizado en ovinos, principalmente las que acaban de parir, posteriormente se desarrolló el CIDR-G con algunas modificaciones para aquellas borregas con vaginas pequeñas o hembras primíparas. En un estudio realizado por Wheaton *et al.*, (1993)⁴⁰ en ovinos durante los meses de septiembre, octubre y noviembre se utilizó el CIDR por 12 días y dos días después de remover el dispositivo se introdujeron machos (3 machos por cada 25 hembras). El 75% de 129 hembras tratadas presentaron conducta estral al día 3 después del retiro del CIDR, al día 5 el 91% y al día 19 el 100%. El grupo control presentó conducta estral alrededor de los 50 días.

Godfrey *et al.*, (1999)⁴², utilizaron CIDR (300mg), esponjas con progesterona (500mg) y 2 inyecciones de 15 mg de PGF2 α , i.m., con intervalo de 10 días, para sincronizar borregas de pelo en trópico en el mes de enero, en donde, todas las ovejas tratadas con CIDR, el 94.4% de las ovejas con esponjas y el 72.2% de las tratadas con PGF2 α demostraron comportamiento estral.

García (1996)⁴³, comparó el efecto de inducción de estros en cabras lecheras durante anestro entre el CIDR y las esponjas intravaginales (FGA) por 9 días más la administración 300 UI de PMSG (eCG) al retiro del implante, concluyendo que

ambos tratamientos fueron muy similares sin diferencia estadística significativa en los resultados: la presentación del estro, tasa de gestación y prolificidad.

2.2.2 MGA (Acetato de Melengestrol)

Dentro de los progestágenos el Acetato de Melengestrol (MGA) es el de más fácil aplicación y su mecanismo de acción se basa en la disminución de la secreción pulsátil de LH, impidiendo así la maduración de los folículos y por consiguiente, la ovulación⁴⁴.

Imwalle *et al.* (2002)⁴⁵ determinaron que el principal efecto del MGA es inhibir los mecanismos neuroendócrinos que controlan el pico preovulatorio de LH. Patterson *et al.* (1989)⁴⁶ utilizaron en bovinos tratamientos cortos de MGA durante 7 días con PGF2 α con resultados en la fertilidad variables.

En un estudio realizado por Quispe (1994)⁴⁷ para comparar el grado de sincronización en 280 ovejas aplicando 0.22 mg de MGA por oveja/día, las cuales el 79.5% entraron en estro y de estas, el 74.1% entraron al día 3,4, y 5 después de finalizar el tratamiento con MGA durante 14 días. En otro estudio donde se aplicó una dosis de 0.125 mg de MGA dos veces al día por 8 días, Daniel *et al.* (2001)⁴⁸ indujeron el estro en borregas en época no reproductiva (abril, mayo, junio) concluyendo su efectividad.

Sin embargo la aplicación de este progestágeno se dificulta en condiciones de pastoreo ya que no se puede asegurar el consumo integral del MGA, mientras que en estabulación el consumo es más uniforme.⁴⁹

2.2.3 Norgestomet

Es un progestágeno que se utiliza para la inducción y sincronización del estro, principalmente en bovinos. Su presentación comercial (Crestar) consiste en un implante auricular y una inyección intramuscular que contiene norgestomet y valerato de estradiol administrado al tiempo del inicio del implante. El implante de norgestomet permanece durante nueve días y tiene la función de suprimir el estro, la inyección de estradiol provoca la regresión del cuerpo lúteo, el efecto del estradiol depende del día en que es inyectado.⁵⁰

2.2.4 FGA (Acetato de Fluorogestona)

La dinámica folicular observada en borregas en anestro tratadas con esponjas intravaginales se asemeja a lo observado durante el ciclo estral normal en la oveja.⁵²

En un estudio en ovejas, en donde se compararon dos métodos para sincronizar estros mediante dos dosis (100 µg) de cloprostenol i.m. cada 10 días o la inserción de esponjas intravaginales (40 mg de FGA) por 14 días, la tasa de sincronización fue de 81.5% de cloprostenol contra 72.4% de FGA, sin embargo, en las borregas tratadas con cloprostenol se incrementó las concentraciones de estradiol en plasma durante la fase folicular.⁵³

Crosby, *et al.* (1991)⁵⁴ sugiere para inducir el estro, a los progestágenos sintéticos (FGA) ya que presentan mejores resultados en comparación a la progesterona

natural (CIDR) particularmente en época reproductiva (67% y 77% respectivamente) obteniendo una tasa de prolificidad alta.

Husein y Ababneh (2008)⁵⁵, mencionan que en etapa no reproductiva, mediante la suplementación de progesterona (25 mg i.m.) 24 horas antes del retiro de los implantes intravaginales obtienen un alto porcentaje de ovejas en estro e intervalos largos entre estros($P < 0.05$).

Huerta (2007)⁵⁶, comparó la respuesta al tratamiento en ovejas de lana durante 12 días de tratamiento con media esponja impregnada con FGA (20 mg de FGA) y con esponja completa conteniendo el mismo principio (40 mg de FGA) ambos grupos al retiro de los implantes se les aplicó 100 UI de eCG, concluyendo que no había diferencia estadística entre sincronizar con 20 mg o 40 mg de FGA ($P > 0.05$) en época reproductiva. Recientemente se introdujo a México una esponja vaginal con 20 mg de FGA de liberación controlada para cualquier raza o sistema productivo.⁵¹

2.2.5 Prostaglandina $F_{2\alpha}$

En ovejas, la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) provoca regresión del cuerpo lúteo y como consecuencia la presentación de la conducta estral. La capacidad de la $PGF_{2\alpha}$ para provocar regresión del cuerpo lúteo depende de la dosis, el día de aplicación (día del ciclo estral), la ruta utilizada (sistémica o uterina) y frecuencia de exposición.⁵⁷

La respuesta de la $\text{PGF2}\alpha$ para inducir conducta estral en borregas de ciclos cortos o largos fue de 1.9 ± 0.1 días y 2.3 ± 0.1 días, respectivamente.⁵⁸

2.2.6 Efecto Macho

Las técnicas de bioestimulación ofrecen un uso potencial en la práctica para una mayor eficiencia reproductiva en ganado en regiones tropicales, promoviendo una reducción de anestros postparto y adelantando la entrada de la pubertad.⁵⁹

El efecto macho se define como la introducción del carnero a las hembras, las cuales no han sido expuestas a observar, oír, u oler a machos previamente durante 30 días, esto induce a las hembras a ovular⁴⁸ debido a un aumento en la actividad de picos de LH. La bioestimulación ocurre a través de las feromonas, las cuales son sustancias químicas secretadas por el animal en orina, heces o glándulas cutáneas provocando una reacción específica.

Knight y Lynch (1980)⁶⁰ demostraron que con una combinación de orina y cera del macho es suficiente para inducir la ovulación en borregas, mientras que Walkden-Brown *et al.*, (1993)⁶¹ asume que es necesario el contacto físico total de ambos sexos, para que exista una estimulación del macho.

Bartlewski *et al.*, (2002)⁶² menciona que el contacto ligero de las hembras con un carnero de 25 semanas de edad, permite un incremento en el tamaño del folículo y estimula la formación de algunas estructuras lúteas y subsecuentemente con un carnero de 29 semanas de edad incrementa marcadamente el número de estructuras lúteas.

Ungerfeld *et al.*, (2008)⁶³ realizaron un experimento en época no reproductiva con borregas que eran estimuladas con un carnero de un año o con un adulto. Con los machos adultos ovularon más ovejas (78.5 contra 61.6%) y presentaron más conductas estrales (47.9 contra 35.5%), que con el carnero joven.

Adicionalmente, pretratamientos con progestágenos incrementa la proporción de hembras en estro en respuesta a la introducción del macho.⁴⁸

2.2.7 Efecto Hembra

Otro medio de bioestimulación, es el “efecto hembra”, el cual se basa en la introducción de hembras en estro para inducir la ovulación en ovejas anéstricas.⁶⁴

En bovinos se ha documentado la posibilidad que el efecto hembra sea mediada por feromonas provenientes de hembras en estro, estas sustancias pueden encontrarse en secreciones como el moco cervical u orina.⁶⁵

Está demostrado que la información química que proviene de las hembras puede ser usada por sus compañeras para inducir y sincronizar su actividad sexual,⁶⁶ aun en la ausencia total del macho.⁶⁷

Cuando se introducen hembras en estro, éstas presentan una elevación de la concentración plasmática de LH y la mayoría de las cabras anéstricas aproximadamente 15 horas después responden de la misma forma.⁶⁸

El efecto hembra dependerá de la profundidad del anestro, en el caso de ovejas que presentan anestro profundo se elimina la respuesta ovulatoria ante la presencia de hembras en estro, mientras que aquellas en anestro superficial responden de manera significativa.⁶⁹

Zarco *et al.*, (1995),⁷⁰ demostraron que las ovejas en estro inducen la ovulación en las anéstricas, pero los resultados van a depender del grado de contacto entre las hembras en celo.

Los métodos de sincronización del ciclo estral es una herramienta muy empleada para un eficiente manejo reproductivo. El uso de métodos hormonales así como los efectos de bioestimulación presentan resultados que van a variar dependiendo de factores como la época reproductiva, tiempo de aplicación, etc.

2.3 Desarrollo Folicular

En el desarrollo folicular interviene señales endócrinas, parácrinas y autócrinas dentro del ovario y un intercambio de señales endócrinas entre los ovarios y la hipófisis y envuelve una combinación de interacciones entre hormonas, factores de crecimiento, sistemas de comunicación celular y genes.¹⁵

El desarrollo folicular es el proceso de crecimiento continuo y regresión de folículos antrales que conduce al desarrollo del folículo preovulatorio debido al crecimiento de dichas estructuras en oleadas o grupos.¹⁵ El número de folículos antrales de las ovejas aparentemente es mayor en los ovarios antes de las 4 semanas de edad, posteriormente, el número de folículos antrales disminuye. En la etapa prepuberal temprana el número y tamaño de folículos antrales ováricos se incrementan, esto coincide con una disminución en la secreción pulsátil de FSH y un segundo incremento en número y tamaño de folículos antrales ocurre tan pronto llegue la primera ovulación, esto probablemente, por un incremento en la frecuencia de pulsos secretorios de LH.⁷¹

Mossa *et al.*, (2007)⁷² concluyeron que borregas con un alto número de folículos (≥ 8) durante la primera oleada folicular tienen una mejor respuesta superovulatoria (En términos de cuerpos lúteos y calidad de embriones).

Ginther *et al.*, (1995)⁷³ mencionan que existe una estrecha relación entre los incrementos transitorios en la concentración de FSH y las ondas de emergencia folicular a lo largo de los intervalos ovulatorios, con dos eventos aproximadamente durante cuatro días.

El crecimiento folicular se asocia con la producción de estradiol y se asume como resultado de una estimulación intraovárica, o por estimulación de gonadotropinas e interacciones inhibitorias entre folículos, donde los folículos grandes suprimen el crecimiento de los más pequeños⁷⁴.

Las ovejas jóvenes presentan entre 40,000 y 300,000 folículos primordiales. En un ciclo estral ocurre un desarrollo folicular acompañado de un reclutamiento, selección y dominancia, la oveja presenta de 1 a 3 oleadas de crecimiento folicular¹⁶ y en algunos casos hasta 4¹⁸ estas van asociadas con los patrones de secreción de FSH.⁷⁵

El ciclo estral es más largo en las ovejas que presentan más oleadas foliculares, ya que se prolonga la fase lútea.⁷⁶ Si la fase lútea declina tempranamente, el folículo más grande de la oleada pasada alcanza su diámetro máximo, permanece viable y se transforma en un folículo ovulatorio.⁷⁷

Para los ciclos de 2 oleadas, el reclutamiento de la oleada 1 se identifica en el día de la ovulación (D0), y por el día 3 se presenta un folículo dominante y llega hasta su tamaño ovulatorio el día 6, esto se mantiene estático por unos días hasta que la siguiente onda inicia alrededor del día 10, convirtiéndose en folículo ovulatorio, en el caso de 3 oleadas se caracteriza por una corta fase estática del folículo dominante de la oleada 1 y por una fase lútea larga, la cual permite que el tiempo

de la oleada 2 sea más pequeña para el desarrollo , y la oleada 3 provee al folículo ovulatorio.⁷⁶

En las oleadas foliculares no se requiere de cambios en la secreción de LH para el crecimiento y emergencia de folículos antrales ováricos; pero pueden existir cambios en la sensibilidad de folículos ováricos a las concentraciones séricas de LH.⁷⁸

Independientemente del número de oleadas foliculares, cada oleada presenta tres fases: 1) reclutamiento, en la que un grupo de folículos adquiere la habilidad para responder a las gonadotropinas y empieza a crecer rápidamente; 2) selección, en la que un grupo de folículos es escogida para escapar del proceso de atresia y continuar creciendo y 3) dominancia en la que el o los folículos se desarrollan de forma más rápida que el resto, suprimiendo el crecimiento de los subordinados e impidiendo el reclutamiento de un nuevo grupo de estructuras foliculares.¹⁵

2.3.1 Reclutamiento Folicular

La formación de una población de folículos antrales de los cuales uno o varios, son seleccionados para la ovulación se le conoce como reclutamiento.⁷⁹ En cada ciclo ovárico es reclutado un grupo de folículos primordiales que crecen de manera continua debido a los incrementos en las concentraciones de FSH.²⁰

El reclutamiento ocurre durante la fase folicular temprana y la fase lútea temprana, mientras que los patrones pulsátiles de LH en estas dos etapas difieren marcadamente.²¹

Aún se desconoce el porqué algunos folículos inician su crecimiento tan pronto como se forman, mientras que otros permanecen en latencia durante mucho tiempo.²²

McGee y Hsueh (2000)⁸⁰ propusieron dos conceptos en cuanto al reclutamiento folicular, el reclutamiento inicial y el reclutamiento cíclico.

2.3.1.1 Reclutamiento inicial.

En esta fase dejan de presentarse algunos factores inhibitorios que mantenían a los folículos en latencia. Se considera que es un proceso continuo que se inicia poco después de la formación del folículo y mucho antes de la pubertad.⁸¹ En el momento en el ocurre la formación del folículo, algunos de ellos dejan la reserva y empiezan a crecer, a este proceso se le conoce como activación folicular.²²

2.3.1.2 Reclutamiento cíclico.

Este tiene inicio después de la pubertad y resulta del incremento en los niveles de la FSH en la circulación sanguínea durante cada ciclo ovárico en que se rescata a un grupo de folículos antrales de la atresia.⁸¹

La FSH es la principal hormona que controla el crecimiento folicular, esta es controlada por el estradiol y la inhibina A procedente de el o los folículos dominantes.^{3,21}

El pico sérico de la FSH ocurre al momento o poco antes de que el futuro folículo dominante de la oleada resultante alcanza un diámetro de 4 mm.⁸¹

Al aproximarse el estro, se registran dos picos de LH temporalmente adyacentes. El primero, corresponde al pico preovulatorio que induce la ovulación, y el segundo ocurre poco después de la liberación del ovocito y se asocia con la emergencia de la primera oleada folicular.⁸²

La regulación de la angiogénesis folicular es un factor importante para el desarrollo de folículos ovulatorios, particularmente el factor de crecimiento endotelio vascular (VEGF), el cual es producido primero en las células de la granulosa en el ovario y puede ser estimulado por las gonadotropinas. La administración de VEGF se utiliza para estimular el crecimiento folicular preantral y el incremento de folículos preovulatorios.³

2.3.2 Selección Folicular

La selección puede deberse a la interferencia de los folículos maduros grandes ejercidos sobre los de la cohorte, evitando que reciba un adecuado aporte de gonadotropinas.²¹ Una vez seleccionado, el folículo ovulatorio(s) se convertirá en dominante y buscará llegar a la ovulación, mientras que los folículos subordinados sufrirán atresia.³

El folículo dominante crece a una tasa constante y el resto de los folículos subordinados sufren atresia o temporalmente crecen a una velocidad menor y posteriormente dejan de hacerlo. A este fenómeno se le denomina desviación folicular.²³ Este ocurre durante un descenso progresivo en las concentraciones circulantes de FSH y un incremento inicial en la LH.²⁴ Se conoce que cuando ocurre la selección, las células de la granulosa del futuro folículo dominante

adquieren receptores para LH justo antes de que comience la desviación, esto implica el efecto funcional que tiene la LH en las células de la granulosa provocando los eventos que conducen a la desviación y el descenso de FSH.¹⁵

Los factores intrafolículos que provocan variaciones en la etapa de selección son: el sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF), esteroides (estradiol), receptores de gonadotropinas (principalmente los receptores de LH), implicados temporalmente, la inhibina-A, activina-A y factores angiogénicos, entre otros.²⁵ Los IGFs funcionan como moduladores de la acción de las gonadotropinas a nivel celular, estimulando la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa y de la teca.²⁶

Los folículos seleccionados tienen concentraciones más altas de estradiol en el fluido folicular, debido a un aumento en los niveles de ARNm para la aromatasa en las células de la granulosa, promoviendo la conversión de andrógenos a estradiol.²²

En vaquillas y yeguas se ha observado que las células de la granulosa del futuro folículo dominante adquieren receptores de para LH justo antes de que empiece la desviación ocasionando una serie de eventos que llevan a la desviación durante el descenso de la FSH.⁸³

2.3.3 Dominancia Folicular

Los folículos son funcionalmente dominantes (capaces de ovular después de la regresión lútea) mientras continúen con su crecimiento. La dominancia funcional se pierde alguna vez entre la fase temprana y tardía de la meseta de crecimiento,

mientras que el folículo es morfológicamente de mayor tamaño (folículos grandes).¹⁹

La dominancia puede relacionarse a la secreción de factores autócrinos (IGF₁), los cuales amplifican la acción de FSH en la aromatización y en los receptores de LH del folículo dominante, los cuales definen el mantenimiento de la dominancia.²¹

El mecanismo por el cual uno o más folículos dominantes ováricos continúan su desarrollo mientras otros folículos subordinados sufren regresión, no está del todo establecido. Según Evans y Martin (2000)⁸⁴ factores MAPKs (*mitogen activated protein kinases*) como Erk1/Erk2 y Akt, juegan un papel muy importante regulando el crecimiento, división y diferenciación celular en ovinos.

Gonzalez-Bulnes *et al.*, (2004)⁸⁵ mencionan que el efecto de dominancia es mediado por cambios en la concentración de FSH, desde que los niveles de FSH bajan por el crecimiento de folículos dominantes y éste se relaciona a la disminución en el número de folículos de cohorte.

El efecto del folículo dominante se pierde durante la mitad de la fase lútea, porque el número de folículos pequeños que lo acompañan fue menor en la onda I y III en comparación con la onda 2 (6.3 ± 0.9 comparado con 3.4 ± 0.8 y 2.3 ± 0.7), estos resultados indican que la presencia de un cuerpo lúteo funcional puede ejercer efectos sistémicos y locales en la población de folículos, por un efecto supresor de la progesterona e inhibina, afectando la dominancia ejercida por los folículos grandes.¹⁷

Gonzales-Bulnes *et al.*, (2003)⁸⁶, mencionan que los efectos inhibitorios de los folículos grandes de borregas en latitudes bajas, no son tan marcados en época no reproductiva; manteniendo una tasa ovulatoria igual sin diferencia estadística.

In vivo, los eventos foliculares son similares en época reproductiva y en anestro, excepto porque no hay ovulación, pero al final de estos, los folículos pierden una gran parte de su capacidad de aromatización.⁵¹

Los folículos preovulatorios presentan un tamaño de 6-8 mm, con una cantidad aproximada 3×10^6 de células de la granulosa.²¹

Existe evidencia de que la foliculogénesis, hasta la etapa en que se forma el antro folicular, es independiente de la hormona folículo estimulante (FSH) y se ha confirmado que la fase inicial de la foliculogénesis es estimulada por otros factores²⁰, mientras que el folículo antral requiere de gonadotropinas. El proceso gradual de desarrollo y diferenciación de un folículo, desde una estructura primordial hasta el folículo preovulatorio, toma aproximadamente 6 meses en mamíferos mayores, como el humano y el bovino.²²

2.4 Manipulación de Oleadas Foliculares

Diversos estudios demuestran la posibilidad de mejorar la reproducción de borregos con diferentes tratamientos hormonales, tales como corticoesteroides, prostaglandinas, progesterona y gonadotropinas, con distintos resultados, por la influencia de distintos factores como ambientales, estado reproductivo, longitud del período postparto, número de lactación, tamaño de camada entre otros.²⁷

Barrett *et al.*, (2002)⁸⁷, administró PGF2 α en diferentes estadios de la fase lútea en ovejas, logrando un incremento en la tasa de ovulación por aproximadamente del 50% de lo que se conoce normalmente y lo atribuyó al reclutamiento de folículos ovulatorios de las oleadas foliculares de emergencia antes o después de la aplicación de PGF2 α .

2.4.1 Uso de Progesterona para manipular oleadas foliculares

Las concentraciones de progesterona (P4) en la circulación sistémica juega un rol muy importante en la regulación de la población folicular.⁸⁸

En la oveja, las concentraciones séricas de progesterona son bajas durante los primeros 3 días del ciclo estral, y se incrementa gradualmente desde los días 3 al 8, permanecen relativamente constantes desde los días 8 al 14 y declinan rápidamente por los siguientes dos días a niveles basales o indetectables.⁸⁹

Cuando la fase lútea es extendida artificialmente con dosis bajas de progesterona exógena, el patrón normal de desarrollo folicular es alterado y el folículo ovulatorio crece por un período prolongado de tiempo.⁷⁹ El incremento de la concentración de progesterona suprime la secreción pulsátil de LH y el crecimiento folicular²⁸.

Rubianes *et al* (1996)⁹⁰ trabajaron con ovejas concluyendo que los niveles de progesterona superiores a los observados en la fase lútea afectan el crecimiento del folículo mayor de la oleada uno, promoviendo el recambio folicular.

Viñoles *et al.* (1999)¹⁶ indicaron que en la oveja cuando los niveles de progesterona (endógena/exógena) son inferiores a los observados en la fase

lútea normal y que son generados durante los días 6 y 9 del ciclo, el efecto de dominancia del folículo más grande se extiende a los subordinados.

Driancourt, Guet y Magallon (2000)⁷⁵ señalaron que altas concentraciones de progesterona pueden inducir la salida del siguiente folículo dominante reduciendo la frecuencia de los pulsos de LH. El tiempo en el cual el folículo dominante permanece como tal varía, dependiendo el estado del folículo dominante y la cantidad total de progesterona circulante (endógena/exógena).

Callejas *et al.* (2006)⁸⁸, mencionan que en vaquillas, cuando la progesterona está elevada y el folículo dominante alcanza su tamaño máximo, después este sufre regresión y es remplazado por otro folículo dominante de una nueva oleada folicular.

Contreras-Solis *et al.*, (2008)¹⁷, investigaron la ruta de administración (intramuscular) y el vehículo (aceite de olivo) para la administración de 25 mg progesterona, por vía intramuscular, determinando el tiempo en que la concentración de progesterona en plasma llega a su pico (1.80 ± 0.58 h), su absorción (0.21 ± 0.02 h) y su eliminación (23.31 ± 1.50 h).

Toda esta información sustenta el papel que juega la progesterona en el recambio folicular de los rumiantes.

2.5 Métodos para incrementar la tasa de ovulación

Diferencias genéticas en la tasa ovulatoria han sido encontradas en distintas razas, éstas diferencias son una herramienta para conocer los mecanismos en el control de la ovulación.³

Fortune *et al.*, (1991)¹⁹ sugieren que algunas especies con alta tasa ovulatoria, lo logran mediante un incremento de folículos en el reclutamiento, mientras que otras en un incremento en la selección.

Gibbons *et al.*, (1999)⁹¹ indican que los factores que envuelven un incremento en la tasa de ovulación no es ejercida por las concentraciones de FSH, pero ésta se relaciona con una fase de crecimiento corta y diámetros máximos muy pequeños de los folículos.

La tasa de ovulación puede ser manipulada por la administración de hormonas exógenas o modificaciones de la dieta durante períodos críticos del crecimiento folicular.³

2.5.1 Administración de Gonadotropinas

El fundamento para aumentar la tasa ovulatoria mediante la aplicación de gonadotropinas se debe a que en la etapa de dominancia, el folículo dominante produce y libera inhibina para bloquear la producción de FSH hipofisiaria, la cual requieren los folículos subordinados para continuar con su desarrollo.⁹²

La administración exógena de alguna hormona con efecto de FSH va a permitir que los folículos subordinados sigan creciendo y lleguen a ovular.¹⁴

Las hormonas que pueden ser utilizadas son la FSH y eCG, ambas estimulan el crecimiento de los folículos. Farmacocinéticamente, la eCG presenta una vida media larga, por lo que solo necesita una aplicación, mientras que la FSH (extracto hipofisiario, porcina u ovina) su vida media es más corta, por lo cual se administra varias veces. Por lo cual el uso de la eCG está más difundida.

La administración de eCG se puede realizar en anestro o durante época reproductiva, para ello se requiere sincronizar previamente, esta puede ser aplicada en los últimos dos días de la sincronización. La dosis de eCG utilizada es de 200 UI por vía intramuscular o subcutánea, esta dosis debe manejarse con cuidado, porque de sobrepasar la dosis (400-750 UI) provoca una superovulación, lo cual si no se va a realizar un programa de transferencia de embriones, provocaría pariciones de tres o más crías muy pequeñas y con pocas posibilidades de sobrevivir.¹⁴

En las hembras superovuladas con eCG, se observa una gran proporción de animales con regresión prematura de cuerpos lúteos y una menor cantidad de embriones transferibles.⁹³

Otra desventaja en el caso de la tasa ovulatoria, es la variación a la respuesta entre los animales, dicha variación se debe a diferencias genéticas, idiosincrásicas de la oveja así como la pureza y calidad comercial de las gonadotropinas, el origen de la preparación, etc.⁹³

2.5.2 Inmunización contra inhibina y hormonas esteroides

Los mecanismos que envuelven la inmunización contra inhibina o sus subunidades y hormonas esteroides envuelve una reducción de la atresia de folículos ováricos, un incremento en el número de pulsos de LH y una modificación de la acción local de los esteroides.¹²

La inmunización con inhibina da como resultado una elevación significativa de FSH periférica, la cual coincide con el incremento de folículos ováricos grandes,

pequeños y medianos, sin la producción excesiva de estradiol como en el caso de la administración con gonadotropinas exógenas.¹³

La inhibina ha sido purificada, definiendo sus propiedades físicas, químicas y biológicas, y así poder conocer la secuencia, el papel fisiológico y clonar los genes que codifican cada subunidad por la cual está constituida.²⁹

La inmunización contra inhibina, consiste en que las hembras reciben un régimen inmunizador que reducen el efecto inhibitorio sobre el hipotálamo y la hipófisis. La inmunización contra inhibina durante la fase folicular conducirá a un incremento en las concentraciones de FSH periférico y un incremento en el número de folículos ovulatorios.¹³

La inmunización contra androstenediona incrementa la tasa ovulatoria debido a que reduce la atresia de folículos grandes, esta se puede realizar con el producto comercial Fecundin, con dos aplicaciones a intervalo de 16 días.⁵¹ En los años siguientes las ovejas sólo requieren de una aplicación cuatro semanas antes de introducirlas con el macho. Se realizó un estudio en Australia y Europa en donde presentó un incremento de un 40-80% en la tasa de ovulación.¹²

2.5.3 Sobrealimentación previa al apareamiento (*Flushing*)

La nutrición es el principal factor ambiental que determina la tasa ovulatoria en pequeños rumiantes. Se ha demostrado que un incremento en el suplemento de energía estimula el desarrollo folicular y aumenta la tasa ovulatoria en ovejas, a esto se le conoce como “*flushing*” .⁴

Se han utilizado tratamientos con distintas variaciones como la condición corporal del animal⁵, los ingredientes en la dieta como el gluten de maíz⁷, harina de soya⁸ y grano de lupin⁶ así como la administración oral de soluciones glucogénicas.¹¹ Otro factor es la duración del manejo, la cual tiende a ser cada vez más corto y coincidiendo con períodos claves en el crecimiento folicular.^{6,9,10}

El mecanismo por el cual el *flushing* incrementa la tasa ovulatoria aún no se comprende completamente. Sin embargo, es asociado con un incremento en las concentraciones de glucosa e insulina.^{11,94}

2.5.4 Líquido Folicular Equino (LFE)

El Líquido Folicular Equino Libre de Esteroides (LFE), ha sido utilizado en estudios *in vitro*. En la mayoría de los estudios se asocia con la supresión en la síntesis y secreción de la FSH en la hipófisis anterior.^{29,30,31} Mientras que la secreción de LH no se ve afectada.⁹⁵ El líquido folicular puede incrementar la tasa de ovulación en razas de baja prolificidad.⁹⁶

García Álvarez *et al*, (2001)³³ administró LFE cada ocho horas durante 72 horas, incrementando la tasa ovulatoria de ovejas, sin incremento de FSH, al suspender la administración de LFE.

También se asocia en experimentos para retrasar el estro, tratado con carbón vegetal activado o no.⁹⁵

Balcázar (1995)⁹⁷ realizó un estudio con LFE en conjunto con hCG para evitar cuerpos lúteos de corta duración encontró que la inhibición del desarrollo folicular resulta en una menor producción de estrógenos los cuales evitan la luteolisis

prematura en ovejas en anestro. Posteriormente las indujo a ovular con HCG dando como resultado un CL de duración normal.

En un estudio realizado por Ginther *et al.* (2002),⁹⁸ en donde midió la concentración de los factores presentes en el Líquido Folicular Bovino de los dos folículos seleccionados durante la desviación folicular, encontró que presentan valores, que oscilan entre los 0.02-0.2 ng/ml para progesterona, 0.4-0.5 pg/ml de estradiol, 0.03 ng/ml de androstenediona, 0.01 ng/ml libres de IGF-1, 0.13 pg/ml de inhibina A 0.1-0.05 ng/ml de activina A, 1.9 pg/ml de inhibina B.

McNeilly (1984),⁹⁹ encontró que el Líquido folicular bovino después del tratamiento con carbón vegetal activado, presentaba unas concentraciones de estradiol, androstenediona, testosterona y progesterona todas menores de 5pg/ml.

La capacidad del LFE de suprimir el desarrollo folicular y el subsiguiente retraso del estro no se debe solamente a la supresión selectiva de la inhibina.¹⁰⁰ Existen factores que suprimen la actividad de FSH y presentan una estructura distinta que la inhibina, pero presenta una homología del 40% con otras proteínas como carboxilasa fosfenolpiruvato, proteína ligada al calcio intestinal bovino y el precursor del interferón α -1 humano, y solo esta última proteína presenta actividad en la regulación del crecimiento.¹⁰¹

Las altas concentraciones de inhibina A, estradiol y progesterona en el LFE están asociadas con el crecimiento y tamaño folicular,¹⁰² así como la ovulación, independientemente de la temporada en la que se realice la recolección.¹⁰³

La principal fuente de inhibina son los folículos antrales grandes “estrogénicos”, los cuales producen alrededor del 55% de la producción total de inhibina, mientras

que los folículos medianos y pequeños “no estrogénicos” el 45% restante,¹⁰⁴ esto explica la poca variación de las concentraciones de inhibina en diferentes estadios del ciclo estral.¹⁰⁵

La inhibina es una hormona glicoproteica producida por las células de la granulosa y está presente en el LFE, se compone por dos subunidades: la α y la β unidas por puentes de disulfuro. Por esto podemos encontrar dos tipos, la inhibina A ($\alpha\beta_A$) y la inhibina B ($\alpha\beta_B$). En el caso de la especie *Equus* y *Ovis* presenta dos subunidades, la α y β_A , es decir, Inhibina A.¹⁰⁶ La homología entre especies es de aproximadamente del 85% de la estructura primaria de la subunidad α y de un 100% para la β_A .²⁹

El LFE en ovejas es capaz de suprimir el desarrollo folicular, sobre todo en los folículos que sobrepasan los 4 mm de diámetro.¹⁰⁷ El Líquido Folicular pospone el reclutamiento de la nueva oleada folicular.⁷⁵

Scaramuzzi *et al* (1993)¹⁰⁸ mencionan la posibilidad de eliminar el folículo dominante con LFE, lo que permitiría una nueva oleada folicular y un aumento en el número de folículos potencialmente reclutables por la FSH.

3. JUSTIFICACIÓN

La tasa ovulatoria es un factor importante que interviene directamente en la prolificidad, el aumento en la tasa ovulatoria refleja una mayor prolificidad y por ende, un mejor rendimiento en la producción.

4. HIPÓTESIS

El promover el recambio folicular dos o tres días antes de que ocurra la luteólisis, induce un nuevo reclutamiento folicular coincidente con la luteólisis, lo que provoca la selección y ovulación de dos o más folículos.

5. OBJETIVO

Determinar si existe un aumento en la tasa de ovulación por medio del control del reclutamiento y selección folicular a través de la aplicación estratégica de Líquido Folicular Equino libre de esteroides o Progesterona para que coincida en la luteólisis.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 LOCALIZACIÓN

El presente trabajo se realizó en el rancho “Tenextepec” ubicado en el municipio de Atlixco, Puebla a 1840 msnm en 18° 58’ 30” de latitud norte y 98° 33’ 36” longitud oeste. El clima es templado con verano fresco largo con precipitación pluvial anual de 826 mm y temperatura promedio anual de 16.6 °C (Cb(m)wigw)¹¹⁹.

6.2 ANIMALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En el rancho “Tenextepec” se realiza un manejo reproductivo intensivo continuo en ovejas, lo que permitió realizar tres experimentos en los empadres de 1)noviembre-diciembre, 2)marzo-abril y 3)junio-julio. Se utilizaron borregas de la raza Pelibuey, Dorper y F1 Pelibuey-Dorper, mantenidas en un sistema estabulado alimentadas con heno de alfalfa (*Medicago sativa*) *ad libitum*. El sistema de producción es continuo con 2 meses de lactación. Al destete las borregas fueron sincronizadas con progestágenos.

La conducta estral fue detectado por medio de un macho con arnés marcador. Una vez que la oveja fue servida por el macho se separó para que no interfiera en la detección de celos y montas del resto de las ovejas. Los machos se mantuvieron con las borregas por 24 horas, después de lo cual se cambiaban por otro macho.

La tasa ovulatoria se detectó a las ovejas que manifestaron estro y se determinó por el conteo directo de cuerpos lúteos presentes en los dos ovarios entre los días 6 y 14 posteriores al celo, por medio de ultrasonografía transrectal utilizando un equipo de ultrasonografía de imagen real ALOKA 500 con un transductor lineal de 7.5 Mhz, adaptado a un soporte rígido que permitió su manipulación por vía transrectal.

La tasa de Gestación se estimó por medio de las ovejas gestantes respecto al total de ovejas que presentaron conducta estral. La prolificidad se estimó mediante el conteo del número de crías nacidas producto del empadre realizado.

6.3 PREPARACIÓN DEL LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO (LFE)

El LFE fue colectado de yeguas sacrificadas en un rastro local. Inmediatamente después del sacrificio se succionó el líquido de los folículos ováricos visibles y se conservó en refrigeración hasta el traslado al laboratorio. El LFE se centrifugó a 1500 g durante 15 minutos a 4°C para la separación de detritos celulares.

Con la finalidad de remover las hormonas esteroideas, se le adicionaron 10 mg/ml de carbón vegetal activado y 0.1 mg/ml de dextrán, permaneciendo en agitación magnética por una hora. Posteriormente se centrifugó a 1500 g a 4°C por 30 minutos, este proceso se repitió cuatro veces.

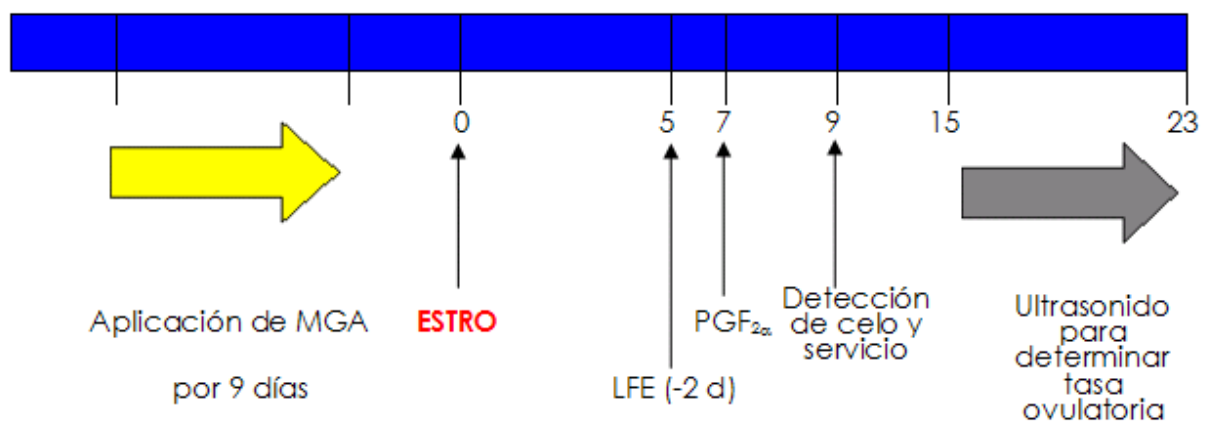
Después se filtró el sobrenadante con filtro Whatman (Whatman Internacional Ltd Maidstone England) del no. 1 y se le adicionó 100 UI/ml de penicilina G y se conservó en congelación a -20°C hasta su utilización.¹⁰⁷

6.4 EXPERIMENTO 1. EFECTO DEL LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO (LFE) DOS DÍAS PREVIOS A LA LUTEÓLISIS EN LA TASA OVULATORIA DE OVEJAS PELO.

Este estudio se realizó en los meses de noviembre a diciembre en el que 97 ovejas que recién destetaron a sus crías fueron sincronizadas a estro por medio de la administración de 0.5 mg Acetato de Melengestrol (MGA),⁴¹ mezclado en el alimento diario durante 8 días. Tres días después de suspender la administración de MGA se detectó el estro por un macho con mandil. Las ochenta ovejas que presentaron conducta estral fueron tratadas con PGF_{2α} el día 7 del ciclo y fueron asignadas a uno de dos grupos:

El grupo LFE fue tratado con 6 ml de LFE por vía intravenosa que se administró dos días previos a la inducción de la luteólisis con PGF_{2α} (n=59). El grupo testigo (n=21) sólo se monitoreó durante todo el proceso.

A partir del día 9 del ciclo se detectaron celos y se dieron servicios por monta natural.

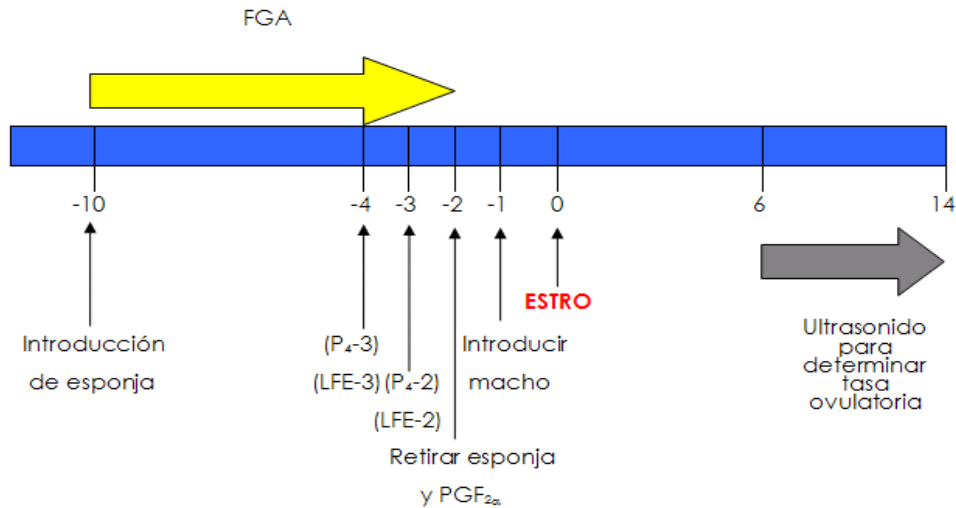


6.5 EXPERIMENTO 2. EFECTO DE LA PROGESTERONA O LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO DOS O TRES DÍAS PREVIOS A LA LUTEÓLISIS EN LA TASA OVULATORIA EN OVEJAS DE PELO.

Este estudio se realizó en los meses de marzo-abril donde se sincronizaron a 126 borregas a estro por medio de esponjas impregnadas con FGA (20 mg de cronogest de Intervet Productions S.A.) durante 9 días. Se formaron 5 grupos:

Al Grupo P4-3 (n= 30) se le administró tres días previos al retiro de las esponjas 25 mg de Progesterona. Al Grupo P4-2 (n=27) 12.5 mg de Progesterona dos días previos al retiro de las esponjas (50 mg/ml de Fort Dodge Animal Health) por vía intramuscular.¹⁷ Al Grupo LFE-3 (n=24) se le administró 6 ml de LFE tres días previos al retiro de las esponjas y al Grupo LFE-2 (n=29) se le administró 6 ml de LFE dos días previos al retiro de las esponjas por vía intravenosa. Al grupo “testigo” (n=25) sólo se monitoreó durante todo el proceso.

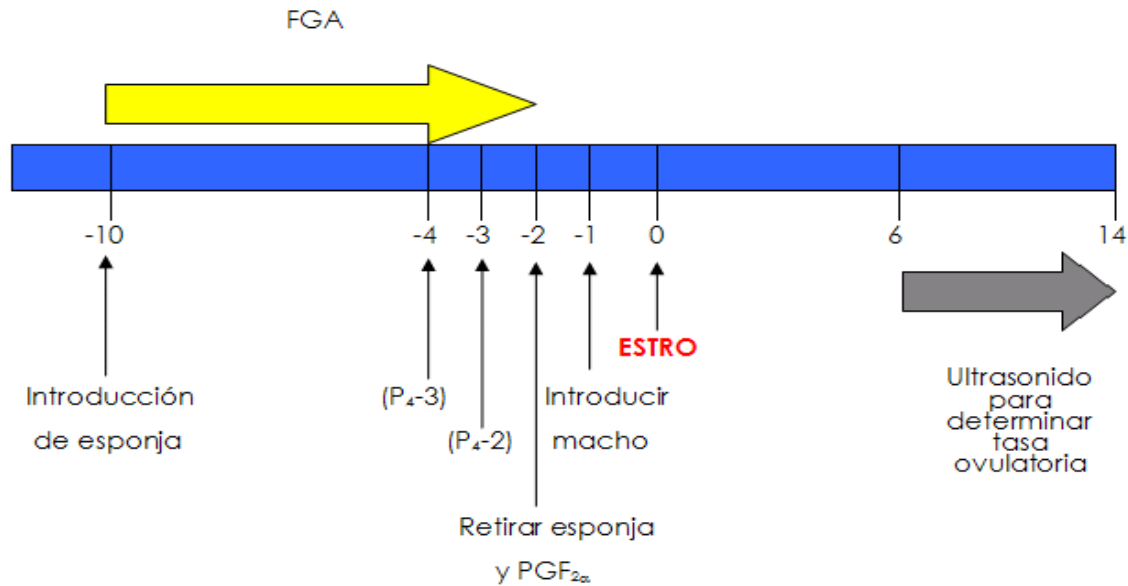
Al día 9 se retiraron esponjas y se aplicó una dosis luteolítica de PGF₂ α (0.075 mg de cloprostenol) a todos los grupos. Posteriormente, dos días después se detectaron celos y se dieron servicios por monta natural. La tasa ovulatoria fue determinada contando el número de cuerpos luteos en el diestro.



6.6 EXPERIMENTO 3. EFECTO DE LA PROGESTERONA DOS O TRES DÍAS PREVIOS A LA LUTEÓLISIS EN LA TASA OVULATORIA EN OVEJAS DE PELO.

Este estudio se realizó en los meses de junio-julio en donde se sincronizaron a 218 borregas a estro por medio de esponjas impregnadas con FGA (20 mg de cronolone de Intervet Productions S.A.) durante 9 días. Se formaron 3 grupos de los cuales al Grupo P4-3 (n=61) se le administraron tres días previos a la luteólisis 25 mg de Progesterona, el Grupo P4-2 (n=65) se le administraron dos días previos a la luteólisis 12.5 mg de Progesterona (50 mg/ml de Fort Dodge Animal Health) por vía intramuscular; mientras que el Grupo “testigo” (T) (n=92) sirvió sólo se monitoreó durante todo el proceso. Al día 9 se retiraron esponjas y se aplicó una dosis luteolítica de PGF_{2α} (0.075 mg de cloprostenol) a todos los grupos. Posteriormente, dos días después se detectaron celos y se dieron servicios por monta natural. La tasa

ovulatoria fue determinada por ultrasonografía contando el número de cuerpos lúteos en el diestro de 10 a 15 animales por grupo.



6.7 VARIABLES EVALUADAS

Las variables evaluadas fueron:

- Manifestación de conducta estral (Experimento 1, 2 y 3).
- Tiempo en que tardaron las ovejas en presentar conducta estral posterior a la dosis de luteolítica de PGF_{2α} y al retiro de las esponjas intravaginales (Experimento 3).
- Tasa ovulatoria (Experimento 2 y 3).
- Tasa de gestación (Experimento 1, 2 y 3).
- Prolificidad (Experimento 1, 2 y 3).

6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico se realizó por medio del programa Genstat (Genstat release 10.2 PC Windows, 1995). Para las variables manifestación de conducta estral, tasa ovulatoria, tasa de gestación y prolificidad se realizó una prueba de χ^2 . Para el tiempo (días) que tardaron las borregas en presentar conducta estral posterior a la aplicación de la dosis luteolítica de PGF 2α se realizó una prueba de U de Mann-Whitney.

7 RESULTADOS

7.1 EXPERIMENTO 1. EFECTO DEL LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO DOS DÍAS PREVIOS A LA LUTEÓLISIS EN LA TASA OVULATORIA DE OVEJAS DE PELO.

El 100% de las borregas del grupo testigo y del grupo LFE-2, presentaron conducta estral y quedaron gestantes.

La prolificidad para el grupo testigo (T) fue de 1.04. En el grupo tratado con LFE-2 hubo un aumento en la prolificidad hasta de 1.54 ($P < 0.002$).

La distribución del tipo de parición del grupo testigo y el LFE-2 se muestra en el cuadro 1 y Figura 1. Se puede observar que hubo un incremento en partos múltiples en el grupo tratado ($P < 0.002$).

Cuadro 1. Porcentaje de ovejas con parición sencilla, doble y triple del grupo Testigo (T) y el grupo tratado con 6 ml de Líquido Folicular Equino dos días antes de la aplicación de $\text{PGF2}\alpha$ (LFE-2).

Grupo	N	Tipo de parto			Prolificidad
		Simple (%)	Doble (%)	Triple (%)	
1) T ^a	21	95	5	0	1.05
2) LFE-2 ^b	59	47	51	2	1.54

a y b. Distinta literal en la misma columna difiere para la distribución (χ^2) del número de pariciones entre el control y el tratamiento ($P < 0.002$).

7.2 EXPERIMENTO 2. EFECTO DE LA PROGESTERONA O LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO DOS O TRES DÍAS PREVIOS A LA LUTEÓLISIS EN LA TASA OVULATORIA DE OVEJAS DE PELO.

En el Cuadro 2 se muestra el porcentaje de ovejas que presentaron conducta estral después de la sincronización con FGA y el tratamiento (Figura 2).

El 86.67% del grupo P4-3 (n=30) manifestaron conducta estral, 77.78% del grupo P4-2 (n=27), 83.33% del grupo LFE-3 (n=24), 65.52% del grupo LFE-2 (n= 29) y el 84% de ovejas del grupo testigo (n=25) presentaron conducta estral. La presentación de conducta estral fue de 79.46% en promedio sin diferencia entre grupos.

Cuadro 2. Porcentaje de ovejas que manifestaron conducta estral de los grupos de tratamiento: grupo P4-3, grupo P4-2 grupo LFE-3 y grupo LFE-2 así como del grupo testigo (T). No existió diferencia estadística en la presentación de estros entre grupos tratados respecto al testigo ($P > 0.05$).

Grupos	%
T n= 25	84
P4-3 n= 30	86.67
P4-2 n= 27	77.78
LF-3 n= 24	83.33
LF-2 n= 29	65.52

El porcentaje de gestación, en el grupo P4-3 fue de 88.46% (n=26), el grupo P4-2 de 90.48% (n=21), el grupo LFE-3 de 95% (n=20), el grupo LFE-2 de 42.11% y el grupo testigo (T) fue de 100%.

La tasa de gestación fue de 86.37% en promedio sin diferencia estadística entre el control y los grupos tratados ($P > 0.05$), excepto por el grupo tratado con LF-2. En el Cuadro 3 se muestra el porcentaje de ovejas gestantes respecto a las que presentaron conducta estral (Figura 3).

Cuadro 3. Porcentaje de ovejas gestantes de los grupos de tratamiento: el grupo 1 tratado (P4-3), el grupo 2 (P4-2), el grupo 3 (LFE-3) y el grupo 4 (LFE-2); así como del grupo 5 testigo (T).

Grupos	% de Gestación	P
T n= 21	100	>0.05
P4-3 n= 26	88.46	>0.05
P4-2 n= 21	90.48	>0.05
LF-3 n= 20	95	>0.05
LF-2 n= 19	57.89	0.006

La tasa ovulatoria para los grupos tratados fue de 1.82 en promedio y 1.17 para el testigo. En el Cuadro 4 se muestra el porcentaje de ovulaciones sencillas y múltiples de los grupos tratados respecto al testigo (T). Existió diferencia en la proporción de ovejas con ovulaciones simples y múltiples entre el grupo testigo (T) y los grupos tratados (Figura 4).

Cuadro 4. Porcentaje de ovejas que presentaron ovulaciones simples o múltiples del grupo testigo y los grupos de tratamiento: el grupo P4-3, el grupo P4-2, el grupo LFE-3 y el grupo LFE-2. La P indica la diferencia de probabilidad entre los tratamientos y el testigo.

Ovulaciones	Simple (%)	Multiple (%)	P
Testigo (n=23)	82.6	17.4	
P4-3 (n=28)	35.7	64.3	<0.001
P4-2 (n=20)	40	60	0.004
LF-3 (n=18)	61.1	38.9	0.12
LF-2 (n=25)	24	76	<0.001

En el Cuadro 5 se muestra el porcentaje de ovulaciones sencillas, dobles, triples, cuádruples o quíntuples difiriendo ($P < 0.01$) entre el grupo testigo (T) y los grupos tratados. (Figura 5).

La proporción de ovejas con ovulaciones sencillas, dobles, triples, cuádruples o quíntuples difirió entre el grupo testigo (T) y los tratados: el grupo P4-3, el grupo P4-2 y el grupo LFE-2.

Cuadro 5. Porcentaje de ovejas con ovulaciones simples, dobles, triples, cuádruples o quíntuples para el grupo testigo y para los grupos de tratamientos, dos y tres días antes de la aplicación de $PGF2\alpha$. La proporción de ovulaciones simples y múltiples difirió entre el testigo y los tratamientos: P4-3, P4-2 y LFE-2.

Grupo (n)		Simple %	Doble %	Triple %	Cuádruple %	Quíntuple %
T ^a	(23)	82.61	17.39	0	0	0
P4-3 ^b	(28)	35.71	50	7.14	3.57	3.57
P4-2 ^c	(20)	40	40	0	20	0
LFE-3 ^a	(18)	61.11	22.22	16.67	0	0
LFE-2 ^d	(25)	24	72	4	0	0

Distinta literal en la misma columna indican diferencia para la distribución del número de ovulaciones entre el control y el tratamiento.

a-b. ($P=0.01$)

a-c. ($P= 0.008$)

a-d. ($P= 0.0002$)

La prolificidad fue de 1.09 para el grupo testigo (T), para el grupo P4-3 la prolificidad se incrementó 39.45% (1.52), el grupo P4-2 se incrementó 34.86% (1.47), en el grupo LFE-3 se incrementó 39.45% (1.52) y el grupo LFE-2 se incrementó 41.28% (1.54). Existió diferencia estadística entre grupos tratados respecto al grupo control ($P = < 0.01$). En el Cuadro 6 se muestra el porcentaje de ovejas con parición simple, doble o triple del grupo testigo (T) y los grupos en tratamiento (P4-3, P4-2, LFE-3 y LFE-2) (Figura 6).

Cuadro 6. Porcentaje de ovejas con parición simple, doble o triple del grupo testigo (T) y los grupos tratados: el grupo P4-3, el grupo P4-2, el grupo LFE-3 y el grupo LFE-2. El valor de P indica la diferencia de probabilidad entre el testigo y el tratamiento.

Grupos	Simple (%)	Doble (%)	Triple (%)	Prolificidad	P
Testigo (n=21) ^a	90.48	9.52	0	1.09	
P4-3 (n=23) ^b	47.83	52.17	0	1.52	0.002
P4-2 (n=19) ^c	47.37	52.63	0	1.52	0.003
LF-3 (n=19) ^d	52.63	47.37	0	1.47	0.007
LFE-2 (n=11) ^e	54.55	36.36	9.09	1.54	0.05

7.3 EXPERIMENTO 3. EFECTO DE LA PROGESTERONA DOS O TRES DÍAS PREVIOS A LA LUTEÓLISIS EN LA TASA OVULATORIA DE OVEJAS DE PELO.

En el Cuadro 7 se muestra el porcentaje de ovejas que presentaron conducta estral después de la sincronización con FGA y el tratamiento (Figura 7).

El 77.17% (n=92) de ovejas del grupo testigo (T), el 69.23% (n=61) del grupo P4-3 y el 73.77% (n=65) del grupo P4-2 manifestaron conducta estral. No existió diferencia estadística entre grupos en la manifestación de la conducta estral.

Cuadro 7. Porcentaje de ovejas que manifestaron conducta estral del grupo testigo (T) y los grupos de tratamiento: grupo P4-3 y el grupo P4-2. No existió diferencia estadística entre grupos tratados respecto al testigo ($P>0.05$).

Grupos	%
T n= 92	77.17
P4-3 n= 61	73.77
P4-2 n= 65	69.23

En el Cuadro 8 se muestra la distribución de las ovejas conforme al tiempo (días) que tardaron en presentar conducta estral posterior a la aplicación de la dosis luteolítica de $PGF2\alpha$. El tiempo en que tardaron en presentar conducta estral no difirió entre grupos (Figura 8) ($P>0.05$). El día en que más ovejas presentaron conducta estral posterior a la aplicación de una dosis luteolítica de $PGF2\alpha$ fue el

día 3 para todos los grupos. El grupo testigo con 48.61% (n= 72), el grupo P4-3 55.81% (n=43) y el grupo P4-2 con 63.04% (n=46).

Cuadro 8. Distribución de las ovejas conforme al tiempo (días) que tardaron en presentar conducta estral posterior a la aplicación de la dosis luteolítica de PGF2 α . El tiempo en que tardaron en presentar conducta estral no difirió entre grupos tratados y el testigo (P>0.05).

	Día 2 (%)	Día 3 (%)	Día 4 (%)	Día 5 (%)	Día 6 (%)	Día 7 (%)
T n= 72	13.89	48.61	23.61	8.33	2.78	2.78
P4-3 n= 43	13.95	55.81	27.91	2.33		
P4-2 n= 46	19.57	63.04	13.05	2.17	2.17	

En el Cuadro 9 se muestra el porcentaje de ovejas gestantes respecto a las que presentaron conducta estral (Figura 9).

El porcentaje de gestación en las ovejas del grupo 3 testigo (T) fue de 64.79% (n=66), 77.78% (n= 26) del grupo P4-3 y 66.67% (n=21) del grupo P4-2. La tasa de gestación fue de 69.75% (n=113) en promedio sin diferencia entre el testigo y los grupos tratados (P>0.05).

Cuadro 9. Porcentaje de ovejas gestantes del grupo 3 testigo y los grupos tratados: grupo P4-3 y el grupo P4-2. No existe diferencia entre los grupos tratados y el testigo (P>0.05).

Grupos	%
T n= 66	64.79
P4-3 n= 26	77.78
P4-2 n= 21	66.67

La tasa ovulatoria de este experimento para los grupos de tratamiento fue de 1.43 y 1.06 para el testigo. La proporción de ovejas con ovulaciones sencillas o dobles difirió entre el grupo testigo (T) y los de los grupos tratados: grupo P4-3 y grupo P4-2 (Cuadro 10 y Figura 10).

Cuadro 10. Porcentaje de ovejas que presentaron ovulaciones simples o dobles del grupo testigo y los grupos tratados: grupo P4-3 y el grupo P4-2.

Ovulaciones	Simple (%)	Doble (%)	P
Testigo (n=15)	93.33	6.67	
P4-3 (n=11)	54.55	45.45	< 0.05
P4-2 (n=10)	60	40	0.04

La prolificidad fue de 1.04 para el grupo testigo, el grupo P4-3 se incrementó 20.19% (1.25) y el grupo P4-2 se incrementó 27.88% (1.33). Existió diferencia entre grupos tratados respecto al grupo control. En el Cuadro 11 se muestra el porcentaje de ovejas con parición simple o doble del grupo testigo y los grupos P4-3 y P4-2, difiriendo entre el grupo testigo y los grupos tratados (Figura 11).

Cuadro 11. Porcentaje de ovejas con parición simple o doble del grupo testigo (T) y los grupos tratados: grupo P4-3 y el grupo P4-2. El valor de P indica la probabilidad de la prueba entre el testigo y los tratamientos.

Grupos	Simple (%)	Doble (%)	Prolificidad	P
Testigo (n= 47) ^a	95.74	4.26	1.04	
P4-3 (n= 35) ^b	74.29	25.71	1.25	< 0.01
P4-2 (n= 30) ^c	66.67	33.33	1.33	< 0.01

Distinta literal en la misma columna indican diferencia para la distribución del número de pariciones entre el testigo y los tratamientos.

a-b (P=0.0006)

a-c (P=0.0048)

8. DISCUSIÓN

El presente estudio muestra que el reclutamiento de una nueva oleada folicular previo a la luteólisis con la administración estratégica de LFE o 25 mg de progesterona, aumenta la tasa ovulatoria de ovejas F1 (Pelibuey/Dorper). El aumento en la tasa ovulatoria, es debido a la eliminación del folículo dominante, lo que permite un aumento en el número de folículos potencialmente reclutables por la FSH. Es el primer estudio en mostrar que únicamente el control de desarrollo folicular puede resultar en cambios en la tasa ovulatoria.

El mecanismo supresor del LFE^{29,30,31,97,99} sobre la FSH, es bien conocido. Gonzalez-Bulnes *et al* (2003),⁸⁶ menciona que el efecto de dominancia es mediado por cambios en la FSH, cuando la FSH disminuye, el número de folículos concomitantes también disminuye. Asimismo, el aumento en FSH posterior al tratamiento indica el reclutamiento de una nueva oleada folicular.

En el caso de este estudio, la disminución en FSH provoca la atresia folicular y el reclutamiento de una nueva oleada. Existen evidencias que las concentraciones de FSH están asociadas con el crecimiento folicular, así que el retiro de FSH en la ausencia de LH resulta en atresia folicular.⁷⁸ El comportamiento de la FSH es influenciada por las concentraciones de inhibina y estradiol, entre otros factores locales intraováricos.⁸⁵

Vanmontfort *et al.* (1998)¹¹⁰ midió los niveles de FSH e inhibina durante el ciclo estral en cuatro distintas razas, no encontraron una diferencia entre razas de los

niveles de FSH, pero si en las concentraciones de inhibina, concluyendo que la interacción FSH-inhibina, no es el único factor responsable para determinar la tasa de ovulación en distintas razas de ovejas.

Por su parte la progesterona provoca un recambio folicular, por su efecto supresor de la frecuencia de pulsos de LH, y esta disminución de pulsos inhibe el crecimiento de los folículos grandes.⁹⁰ Esta disminución de pulsos se debe a una retroalimentación negativa en el eje hipófisis-hipotálamo en el control de la secreción de LH y/o directamente en el control del folículo dominante, controlando la acción de las gonadotropinas.^{88,111}

La concentración sérica de progesterona debe ser mayor de 1 ng/ml, como indicativa de actividad lútea (Diestro).¹¹² Sin embargo, Kim *et. al.* (2003)¹¹³ mencionan que en cabras se necesitan por lo menos alcanzar 2.5 ng/ml sérico para afectar la frecuencia pulsátil de la secreción de LH. Contreras-Solis *et al.*, (2008)¹⁷ analizaron la farmacocinética de la progesterona exógena diluida en aceite de oliva como vehículo (12.5 mg/ml) por vía intramuscular; obteniendo un tiempo de permanencia de 23.75 ± 5.37 horas con una concentración en plasma ≥ 5 ng/ml de progesterona, después de este tiempo ocurre una liberación de LH provocando un recambio folicular. Existe evidencia de que la progesterona controla la frecuencia de los pulsos de LH.⁷⁸ Así, altas concentraciones de progesterona sistémica se asocian con la inhibición del crecimiento del folículo dominante.¹¹⁴

Sanchez *et al.* (1995)¹¹⁵ utilizaron implantes de Norgestomet en vaquillas, para duplicar las concentraciones de progesterona que se presentan en la mitad de la

fase lútea, por medio de la concentración de progesterona modulando los pulsos de LH, afectando el crecimiento folicular.

De la misma manera, se han realizado estudios en caprinos donde la aplicación de progesterona exógena, previo a la gestación induce una mayor fertilidad de folículos preovulatorios y una mejor calidad de las siguientes ovulaciones.¹¹⁶

En diversos estudios se ha incrementado la tasa ovulatoria, mediante la aplicación de métodos para aumentar el crecimiento folicular.^{13,95} O'Shea *et al.* (1994)¹³ inmunizaron a ovejas con varias preparaciones de inhibina (inhibina nativa, péptidos sintéticos o una fusión de proteínas recombinantes de inhibina α) logrando un incremento en la concentración de FSH en plasma y así aumentaron la tasa ovulatoria. Miller y Martin (1993)⁹⁶ trabajaron en ovejas administrándoles Líquido Folicular Bovino incrementando la tasa ovulatoria, por efecto de un aumento de FSH y obteniendo un incremento del 40% respecto al grupo control. En el presente estudio existió correlación entre los datos obtenidos para tasa ovulatoria y los registros en la prolificidad. Se observó un incremento en la tasa ovulatoria de los tratamientos con progesterona y LFE respecto al grupo control y se mantuvo esta misma tendencia en lo que respecta a prolificidad. Demostrando la eficacia de la ultrasonografía transrectal para estimar el número de cuerpos lúteos y la relación estrecha entre la tasa ovulatoria y la prolificidad. En un estudio empleado para estimar el número de cuerpos lúteos y folículos ováricos a través de ultrasonografía transrectal comparándolos con hallazgos *postmortem*, se

concluyó con un valor predictivo de 98-100% y una sensibilidad de 90-95% la eficiencia del método ultrasonográfico.¹¹⁷

El presente trabajo obtiene buenos resultados con una metodología sencilla, económica y práctica para aumentar la tasa ovulatoria y prolificidad, comparados con otros estudios en ovejas donde se aplicaron tratamientos hormonales^{12,13} o nutricionales.¹¹⁸ Este método tiene ventajas sobre tratamientos con inmunizaciones ya que las inmunizaciones requieren de dos aplicaciones en intervalos de 16 días y una aplicación en los siguientes años antes de introducir al macho,¹² eso es un mayor costo y manejo. Los tratamientos hormonales requieren de una aplicación cada vez que se realiza un empadre, además la dosis debe de regularse con cuidado, ya que si se rebasa la dosis se puede superovular, la cual si no se va realizar un programa de transferencia de embriones, provocaría pariciones de tres o más crías muy pequeñas y con pocas posibilidades de sobrevivir.¹⁴ También existe una variación en la respuesta entre los animales, dicha variación se debe a diferencias genéticas, idiosincráticas, pureza y calidad comercial de las gonadotropinas, origen de la preparación, etc.⁹²

El tratamiento mediante una sobrealimentación energética (flushing) incrementa la tasa ovulatoria, aumentando la cantidad de folículos sensibles a FSH.¹¹⁶ Sin embargo, existen variaciones según su condición corporal⁵, los ingredientes utilizados en la dieta^{6,7,8} y la duración óptima de este manejo nutricional en donde han sido necesarios desde 56 días de flushing⁹ hasta 6 días de tratamiento para obtener un incremento significativo en la tasa ovulatoria.¹¹ Esto puede explicar porque hay variaciones en la respuesta al *flushing*.

El mecanismo por el cual el *flushing* incrementa la tasa ovulatoria aún no se comprende completamente. Los estudios en ovinos muestran que el *flushing* aparentemente no altera el patrón de secreción de gonadotropinas. Sin embargo, se asocia a un incremento en las concentraciones de glucosa e insulina circulante así como por la acción de los IGF's a nivel intraovárico.¹⁰

A diferencia del *flushing*, los tratamientos que se realizaron mediante la aplicación estratégica del Líquido Folicular Equino libre de esteroides (LFE) o Progesterona (P4) busca estimular la mayor cantidad de folículos en el inicio de la oleada que coincidirán en el momento que se induzca la luteólisis, (retiro de la esponja de FGA o con la aplicación de PGF2 α) y así incrementar la tasa ovulatoria.

El incremento significativo de la tasa ovulatoria del presente trabajo se ve reflejado también en el porcentaje de prolificidad, obteniendo un incremento del grupo LFE-2 de 1.05 hasta 1.54 (P= <0.002). Estos resultados muestran que únicamente el control de desarrollo folicular puede resultar en cambios en la tasa ovulatoria y prolificidad.

En el experimento 3 no se encontró diferencia en el tiempo de presentación de conducta estral después de la luteólisis en los tratamientos con P4-3 y P4-2 respecto al grupo control, esto quizás se deba al efecto de la progesterona residual inhibiendo la frecuencia de los pulsos de LH.¹⁷ Suponemos que debido al "efecto hembra"^{66,67} influyó en la aparición de conducta estral hasta el día 7 posterior a la luteólisis en el grupo control. Debido al método que se utilizó para detectar calores (observaciones periódicas) la variable, tiempo en la presentación de calor después de la luteólisis se comporta como categórica.

La tasa de gestación depende de factores como el estado corporal, genética, estacionalidad, entre otros.¹¹⁹ Se encontró diferencia en la tasa de gestación en el presente estudio debido a distintos factores, pero en los meses de empadre existió diferencia debido a la época reproductiva en la que se realizó el trabajo, a pesar de que no presentaron un fotoperíodo marcado.¹²¹ Mitchell *et al.*, (2002)¹²² observaron en ovejas que en la época de anestro es afectada la fertilidad de los ovocitos, el número de embriones con menos de 16 células y la calidad del embrión. Cabe mencionar que en tasa ovulatoria no hay una diferencia significativa entre la época reproductiva o cualquier otro mes,⁸⁶ como en el caso de la tasa de gestación, donde existen factores que pueden afectar la fertilidad de la oveja.

La edad de la hembra influye en la supervivencia embrionaria. Se ha observado que las ovejas primaras tienen más pérdidas embrionarias que las adultas, y posiblemente se deba a que las primaras aún no han alcanzado la madurez plena que se requiere en los sistemas que controlan la actividad reproductiva, por ende, son más susceptibles de padecer pérdidas embrionarias.¹²²

Otro factor que afecta la tasa de gestación es la tasa ovulatoria, ya que se relaciona de manera inversa con la supervivencia embrionaria¹²¹. Sin embargo, Wallace, McNeilly y Baird (1985),¹²⁰ trabajando con ovejas determinaron que el líquido folicular bovino no afecta la supervivencia embrionaria.

Kleemann y Walker (2005)¹²³ observaron una supervivencia embrionaria de 83.4 y 56.2% para las ovejas con ovulaciones simples y dobles, respectivamente. Las altas temperaturas al momento de la monta, afectan la fertilización y la supervivencia embrionaria. El mecanismo por el cual el estrés calórico provoca

mortalidad embrionaria no está comprendido completamente. Se ha observado que los embriones en etapa de segmentación son más susceptibles a altas temperaturas.¹²⁴

Otra forma de estrés es el manejo continuo intensivo al que fueron sometidas las ovejas durante el presente estudio, por lo que afectó la tasa de gestación y la presentación de calores. Es bien conocido los efectos negativos provocados en la fertilidad de los rumiantes.¹²⁵ Estos factores que conllevan al estrés, afectan al eje hipotálamo-hipófisis-ovario, reduciendo la frecuencia de pulsos de LH, y por consecuencia afectan el desarrollo folicular y la calidad del ovocito.¹²⁶

En el experimento 3 se observó un ligero aumento en la tasa de gestación de los grupos tratados con progesterona respecto al grupo control, posiblemente se debe al efecto del reclutamiento de un nuevo folículo, el cual al ser más “joven” presenta una mayor tasa de fertilización respecto a folículos más “viejos”.^{127,128}

9. CONCLUSIONES

Del presente trabajo se concluye que el tratamiento con 6 LFE o P4 dos o tres días previos a la inducción de la luteólisis, incrementa la tasa ovulatoria y prolificidad. Probablemente el aumento en la tasa ovulatoria es debido a la eliminación del folículo dominante, lo que permite la selección de dos o más folículos ovulatorios al inicio del proestro. Es necesario realizar estudios de perfiles hormonales en donde se determine la correlación entre un nuevo reclutamiento y el patrón de FSH, así como determinar la cantidad de hormonas esteroideas del LFE y conocer la farmacocinética de la progesterona utilizada en este estudio.

12. ANEXO

EXPERIMENTO 1

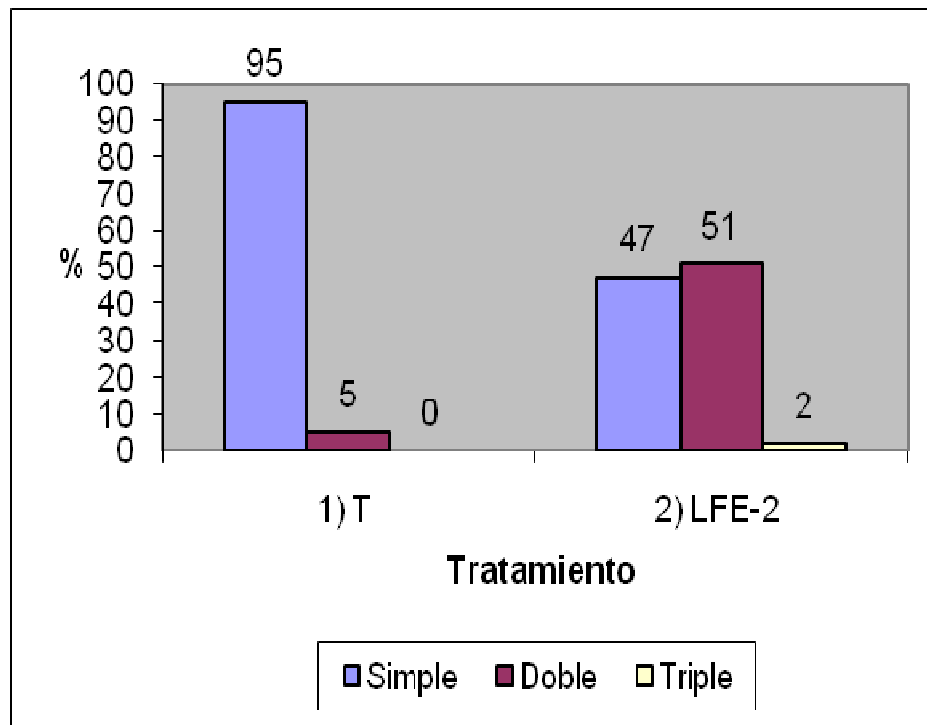


Figura 1. Porcentaje de ovejas con pariciones simples, dobles o triples del grupo testigo (T) y el grupo tratado con Líquido Folicular Equino dos días antes de la aplicación de $PGF2\alpha$ (LFE-2) ($P < 0.002$).

EXPERIMENTO 2

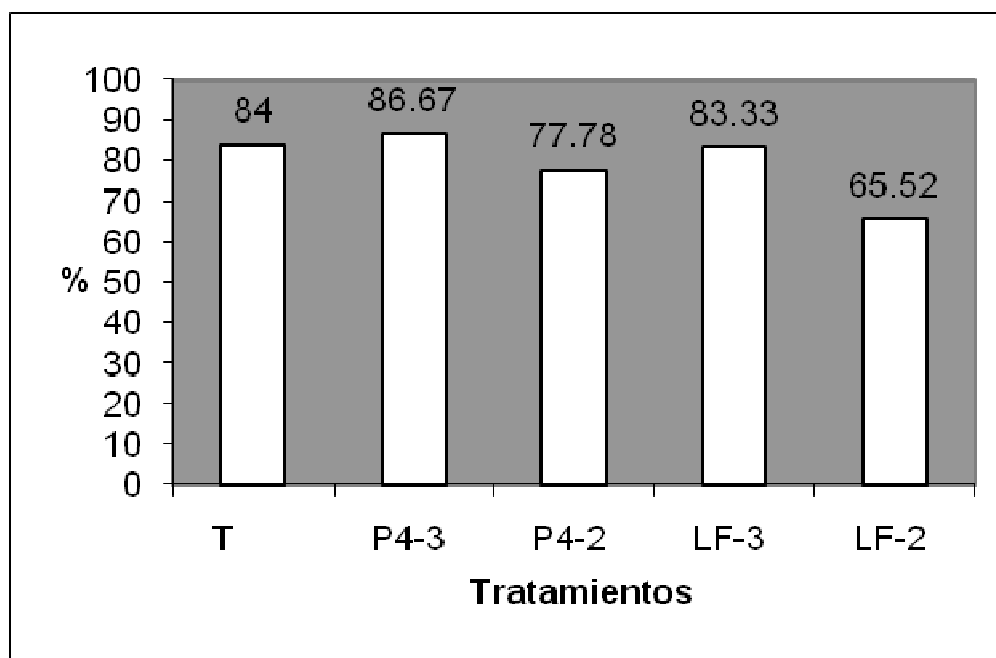


Figura 2. Porcentaje de ovejas que manifestaron conducta estral del grupo testigo (T) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-3 y P4-2) o Líquido Folicular Equino (LF-3 y LF-2). No existió diferencia estadística entre grupos tratados respecto al testigo ($P > 0.05$).

EXPERIMENTO 2

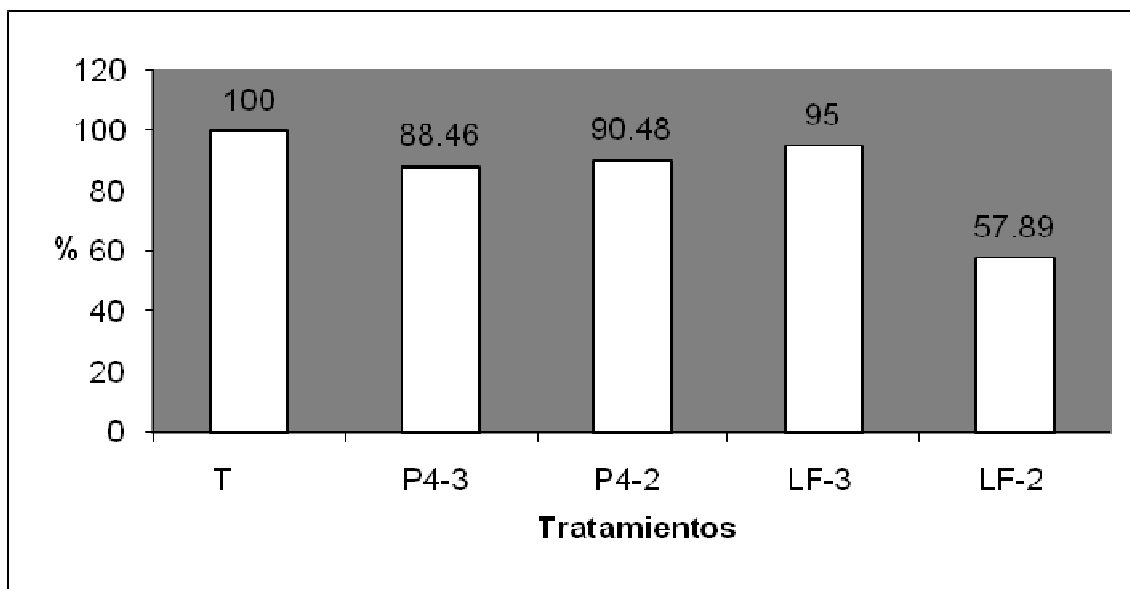


Figura 3. Porcentaje de ovejas gestantes del grupo testigo (T) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-3 y P4-2) o Líquido Folicular Equino (LF-3 y LF-2). Existió diferencia entre el grupo testigo (T) y el grupo de LF-2 ($P= 0.006$).

EXPERIMENTO 2

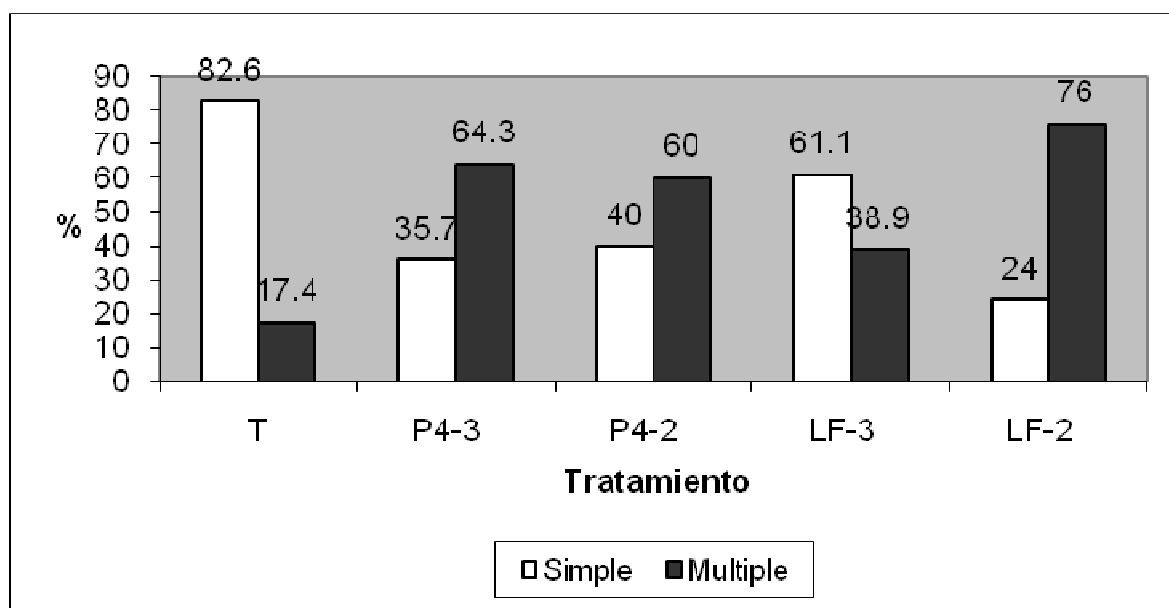


Figura 4. Porcentaje de ovejas que presentaron ovulaciones simples o múltiples del grupo testigo (T) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-3 y P4-2) o Líquido Folicular Equino (LF-3 y LF-2). Existió diferencia estadística entre el grupo testigo (T) y los grupos tratados P4-3, P4-2 y LF-2 ($P < 0.005$).

EXPERIMENTO 2

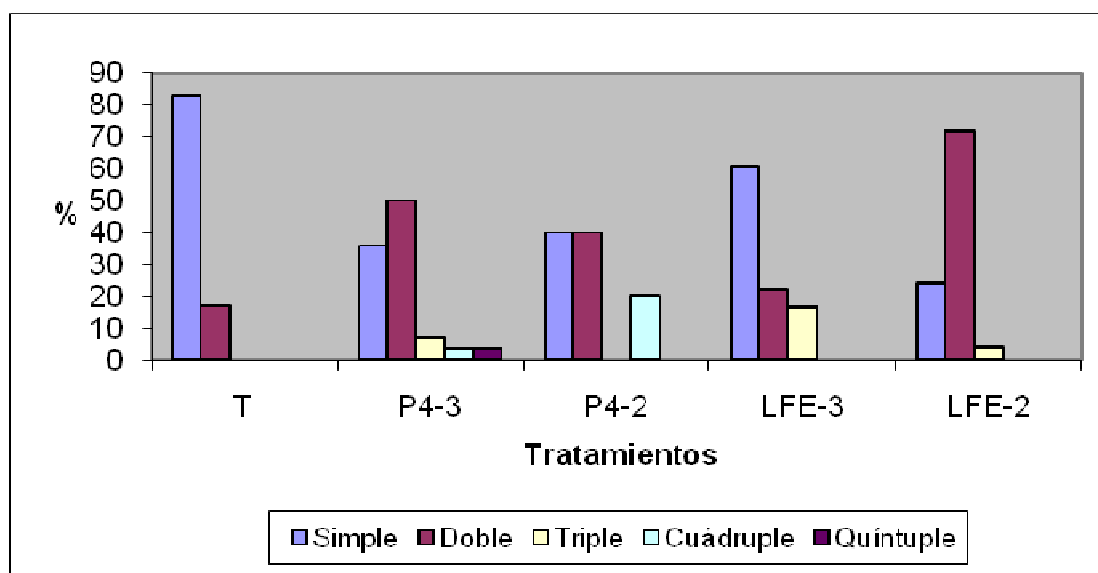


Figura 5. Porcentaje de ovejas con ovulaciones simples, dobles, triples, cuádruples o quintuples para el grupo testigo (T) y para los grupos de tratamientos (P4-3, P4-2, LFE-3 y LFE-2). La proporción de ovulaciones simples y múltiples difirió entre grupos tratados con respecto al grupo control, excepto por el grupo tratado LFE-3 ($P < 0.01$).

EXPERIMENTO 2

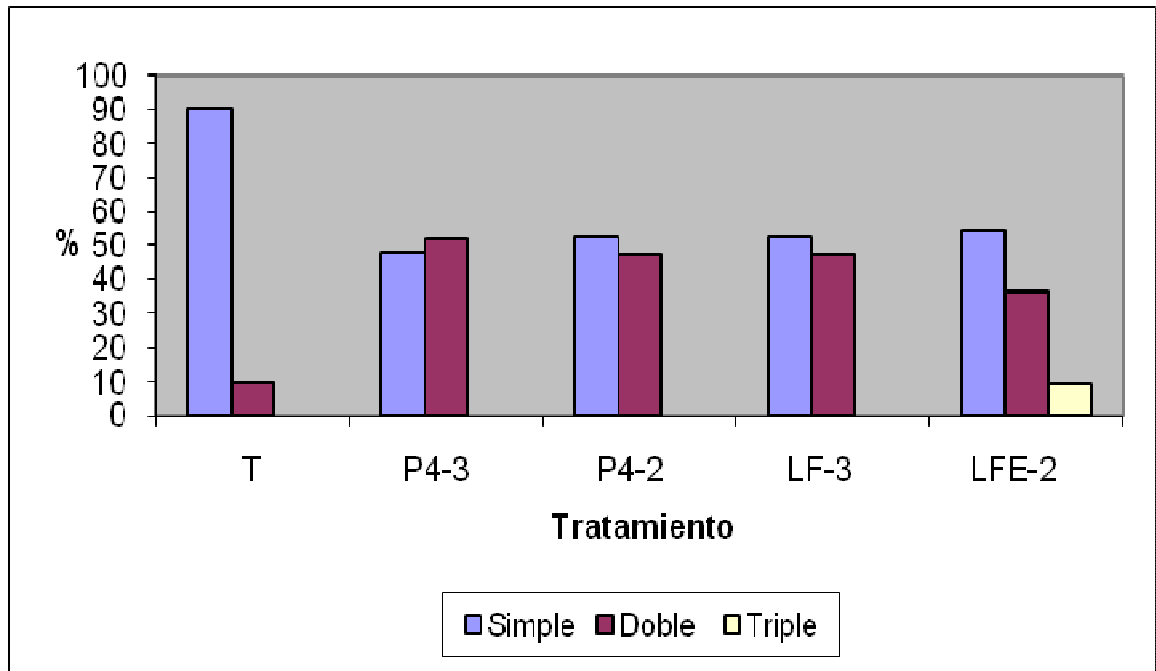


Figura 6. Porcentaje de ovejas con parición simple, doble o triple del grupo testigo (T) y los grupos en tratamiento (P4-3, P4-2, LF-3 y LF-2). Existió diferencia estadística entre el grupo testigo (T) y los grupos tratados ($P < 0.05$).

EXPERIMENTO 3

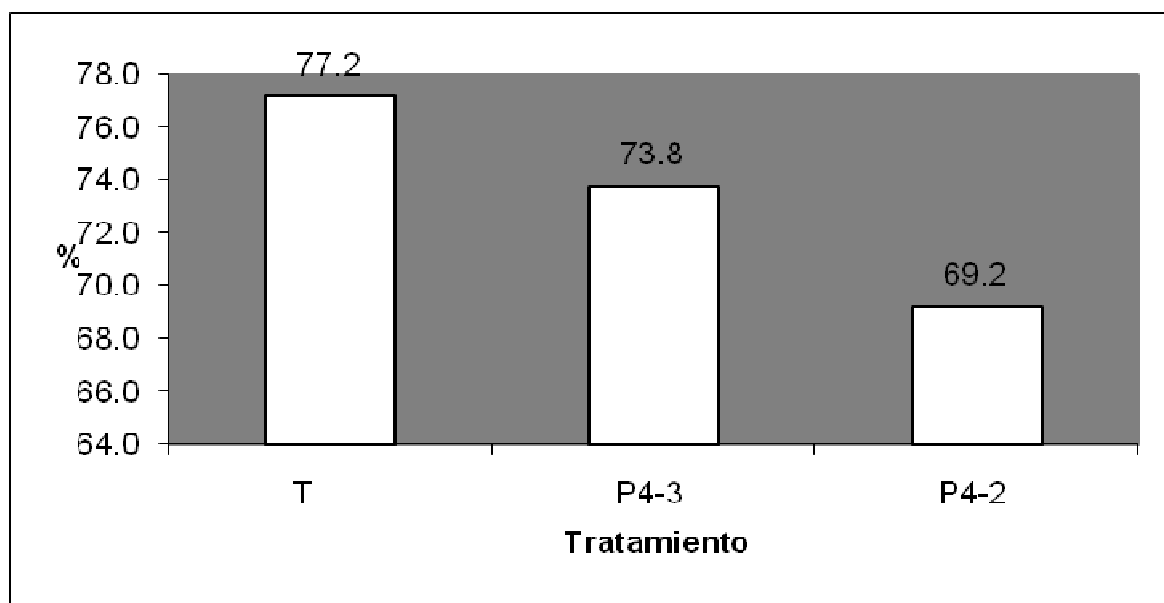


Figura 7. Porcentaje de ovejas que manifestaron conducta estral del grupo testigo (T) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-3 y P4-2). No existió diferencia estadística significativa entre grupos tratados respecto al control ($P > 0.05$).

EXPERIMENTO 3

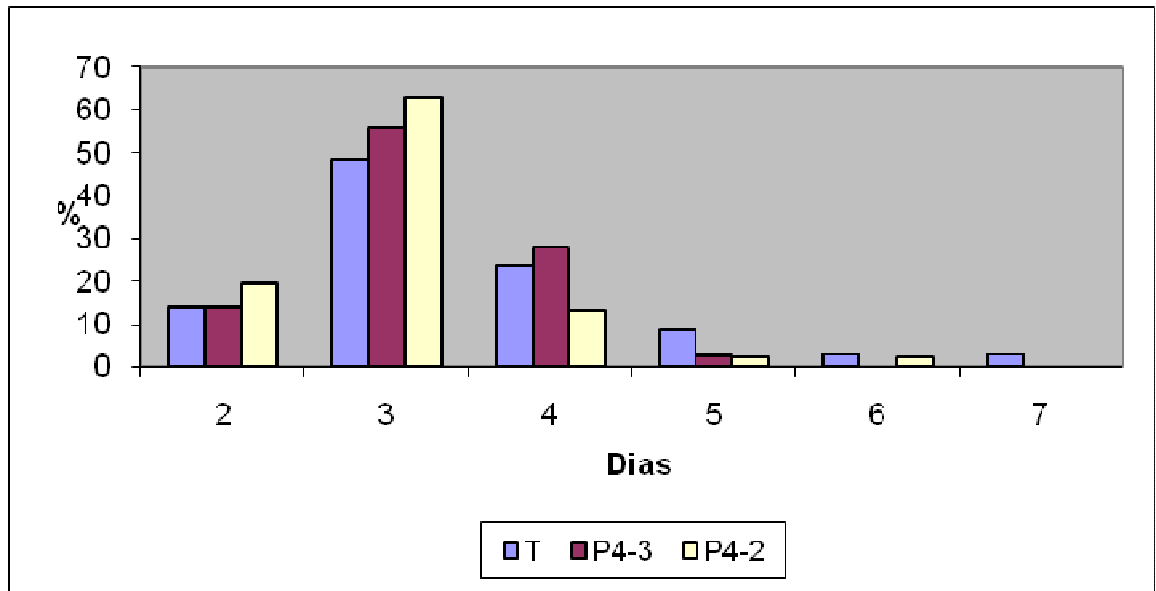


Figura 8. Distribución de las ovejas conforme al tiempo (días) que tardaron en presentar conducta estral posterior a la aplicación de la dosis luteolítica de PGF2 α . El tiempo en que tardaron en presentar conducta estral no difirió entre grupos ($P > 0.05$).

EXPERIMENTO 3

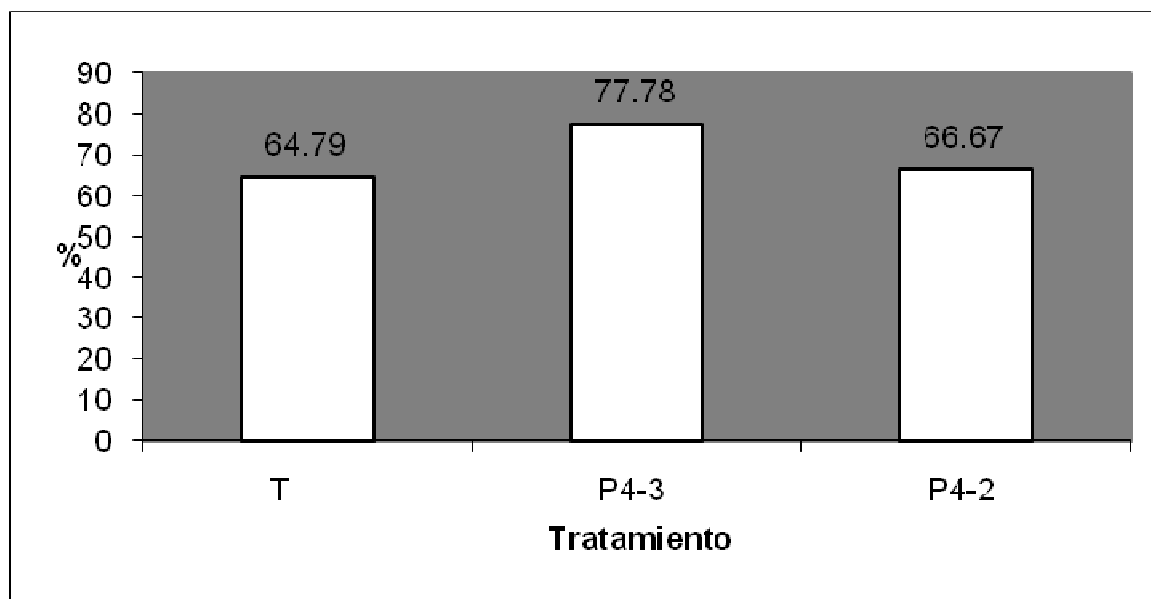


Figura 9. Porcentaje de ovejas gestantes del grupo testigo (T) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-3 y P4-2). No existió diferencia estadística entre el grupo testigo (T) y los grupos tratados ($P > 0.05$).

EXPERIMENTO 3

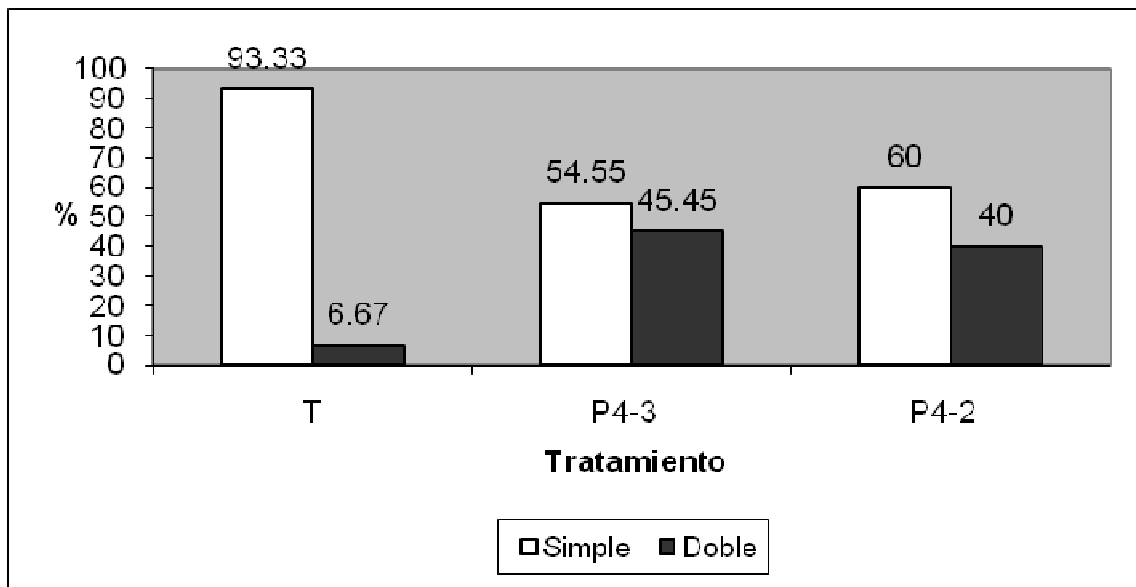


Figura 10. Porcentaje de ovejas que presentaron ovulaciones simples o dobles del grupo testigo (T) y los grupos de tratamiento con Progesterona (P4-3 y P4-2). Existió diferencia estadística entre el grupo testigo (T) y los grupos tratados ($P < 0.05$).

EXPERIMENTO 3

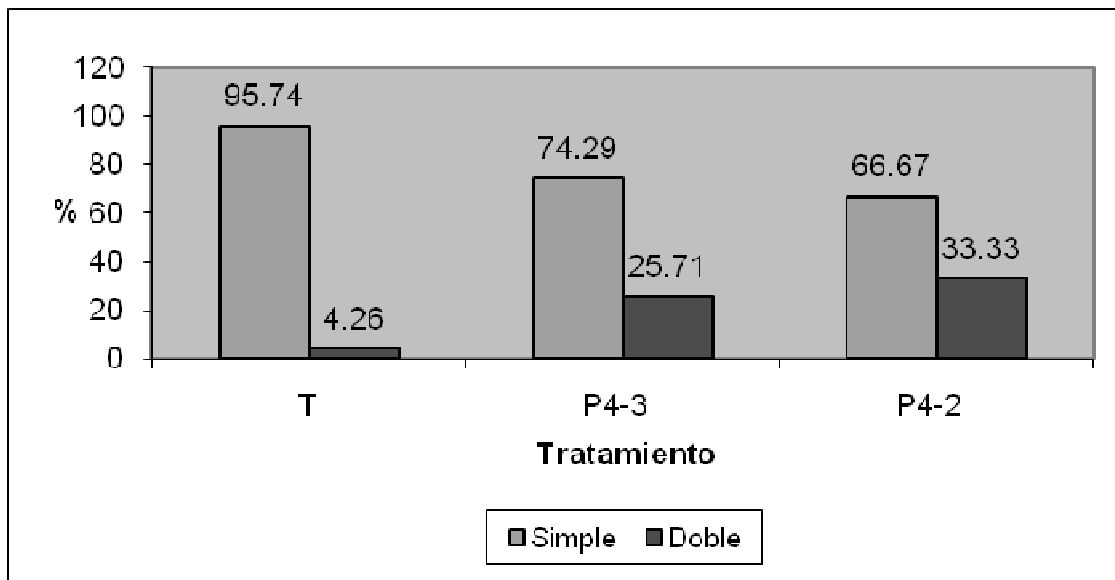


Figura 11. Porcentaje de ovejas con parición simple o doble del grupo testigo (T) y los grupos en tratamiento (P4-3 y P4-2). Existió diferencia estadística entre el grupo testigo (T) y los grupos tratados ($P < 0.01$).

10. LITERATURA CITADA

1. Devendra C and Burns M 1983 Goat production in the tropics, Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough, U K
2. Mahieu M, Cognié Y, Chemineau P. Ovulation rate, litter size and prenatal losses in hair sheep of the french west indies. *Reprod. Nutr. Dev.* 2004; 44: 333-339.
3. Hunter MG, Robinson RS, Mann Ge, Webb R. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 82-83:461-477.
4. Downing JA, Joss J, Scaramuzzi RJ. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of oestrus cycle. *Journal of Endocrinology.* 1995; 146: 403-410.
5. Morley FHW, White DH, Kenney PA, Davis IF. Predicting ovulation rate from liveweight in ewes. *Agricultura Systems.* 1978; 3: 27-45.
6. Nottle MB, Kleemann DO, Grosser TI, Seamark RF. Evaluation of a nutritional strategy to increase ovulation rate in merino ewes mated in late spring-early summer. *Anim. Reprod. Sci.* 1997; 47: 255-261.
7. Branca A, Molle G, Sitzia M, Decandia M, Landau S. Short-term dietary effects on reproductive wastage after induced ovulation and artificial insemination in primiparous lactating sarda ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 58: 59-71.
8. Molle G, Landau S, Branca A, Sitzia M, Casu S, Landau S, Zoref Z. Effect of grazing background and flushing supplementation on reproductive performance in sarda ewes. *Small Ruminant Research.* 1995; 17: 245-254.
9. Goonewardene LA, Withmore W, Jaeger S, Borchert T, Okine E, Ashmawy O, Edmond S. Effect of prebreeding maintenance diet on subsequent reproduction by artificial insemination in alpine and saanen goats. *Theriogenology.* 1997; 48:151-159.
10. Martínez TV. Efecto del tratamiento con una solución glucogénica oral sobre la tasa de ovulación de ovejas pelibuey (tesis de maestría). México, UNAM. 2004.
11. Gutierrez CG, Saharrea A, Palacios T, Alvarez J, Aguilera I, Lopez N. The effect of short-term administration of a glycogenic solution on plasma glucosa concentration and ovulation rate in pelibuey sheep. *J. Reprod. Fert., abstract series (25) 55*, Julio 2000.
12. Terqui M, Wrathall JHM, Driancourt MA, Knight PG. Modulation of ovarian function by steroid and inhibin immunization. *Livestock Production Science.* 1995; 42:181-192.

13. O'Shea T, Hillard MA, Anderson ST, Bindon BM, Findlay JK, Tsonis CG, Wilkins JF. Inhibin immunization for increasing ovulation rate and superovulation. *Theriogenology*. 1994; 41:3-17.
14. Saharrea MA. Métodos para la inducción del estro, incremento de la prolificidad y superovulación en caprinos; noviembre 9-12; México, D.F: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1998: 28-33.
15. Espinoza-Villavicencio JL, Ortega Perez R, Palacios Espinoza A, Valencia Méndez J, Aréchiga Flores CF. Crecimiento Folicular Ovárico en Animales Domésticos: Una revisión. *Interciencia*. 2007; 32, N2: 93-98.
16. Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*. 1999; 51: 1351-1361.
17. Contreras-Solis I, Diaz T. Lopez G, Caigua A, Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 2008; 104 (1): 47-55.
18. Driancourt MA. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 2001; 55: 1211-1239.
19. Fortune JE, Sirois J, Turzillo AM, Lavoie M. Follicle selection in domestic ruminants. *J. Reprod. Fert.* 1991; Suppl. 43: 187-198.
20. Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, Armstrong DG. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction Supplement*. 2003; 61: 71-90.
21. Driancourt MA. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*. 1991; 35 (1): 55-71.
22. Fortune JE, Rivera GM, Evans ACO, Turzillo AM Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 2001; 65: 648-654.
23. Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Wiltbank MC. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology*. 1997; 48: 75-87.
24. Beg MA, Ginther OJ. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction*. 2006; 132: 365-377.
25. Ireland JLH, Jiménez-Krassel F, Winn ME, Burns DS, Ireland JJ. Evidence for autocrine and paracrine roles of α 2-macroglobulin in regulation of estradiol production by granulosa cells and development of dominant follicles. *Endocrinology*. 2004; 145: 2784-2794.
26. Armstrong DG, Webb R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev. Reprod.* 1997; 2: 139-146.
27. Rosado J, Silva E, Galina MA. Reproductive management of hair sheep with progesterone and gonadotropins in the tropics. *Small Ruminant Research*. 1998; 27 (3): 237-242.
28. Sukanuma C, Kuroiwa T, Tanaka T, Kamomae H. Changes in the ovarian dynamics and endocrine profiles in goats treated with a progesterone

- antagonist during the early luteal phase of the estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 2007; 101: 285-294.
29. Knight PG. Identification and purification of inhibin and inhibin-related proteins. *J. Reprod. Fert.* 1991; Suppl. 43:111-123.
 30. Knight PG, Wrathall JHM, Glencross RG, McLeod BJ. Effects of bovine follicular fluid on the secretion of LH and FSH in inhibin-immunized seasonally anoestrous ewes. *Journal of Endocrinology.* 1991; 128: 403-410.
 31. Larson GH, Mallory DS, Dailey RA, Lewis PE. Gonadotropin concentrations, follicular development, and luteal function in pituitary stalk-transected ewes treated with bovine follicular fluid. *J. Anim. Sci.* 1991; 69: 4104-4111.
 32. McNeilly. Changes in FSH and pulsatile secretion of LH during of delay in Oestrus induced by treatment of ewes with bovine follicular fluid. *J. Reprod. Fertil.* 1984; 72: 165-172.
 33. García AA, Hernandez CJ, Valencia J. Efecto de la administración de líquido folicular equino libre de esteroides durante la fase lútea sobre la tasa de ovulación en ovejas rambouillet. *Vet. Méx.* 2001. 32(1): 1-5.
 34. Arroyo LJ, Gallegos-Sánchez J, Villa-Godoy A, Berruecos JM, Perera G, Valencia J. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Anim. Reprod. Sci.* 2007; 102:24-30.
 35. Gonzalez A, Murphy BD, Foote WC, Ortega E. Circannual estrous variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. *Small Ruminant Research.* 1992; 8; 225-232.
 36. Galina HC. Reproducción de animales domésticos. Edit. Limusa 2ª. Edición. México, D.F. 2006.
 37. Hunter RHF. Reproducción de los animales de granja. 1ª ed. Acribia. España, 1987.
 38. Hafez ESF-Hafez B. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Edit. McGraw-Hill. 7ª. Edición. 2002.
 39. Llewelyn CA, Oгаа JS, Obwolo MJ. Plasma progesterone profiles and variation in cyclic ovarian activity throughout the year in indigenous goats in Zimbabwe. *Anim. Reprod. Sci.* 1993; 30:301-311.
 40. Wheaton JE, Carlson KM, Windels HF, Johnston LJ. CIDR: A new progesterone releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 1993; 33: 127-141.
 41. Valenzuela JN. Relaciones temporales entre el inicio del estro, pico preovulatorio de LH, momento de ovulación y fertilidad en cabras sincronizadas con MGA y benzoato de estradiol (tesis de maestría) México, D.F. UNAM. 2004.
 42. Godfrey RW, Collins JR, Hensley EL, Wheaton JE. Estrus synchronization and artificial insemination on hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology.* 1999; 51:985-997.
 43. Garcia HJ. Comparación del dispositivo de Liberación Interna de Droga Controlada (CIDR) con esponjas intravaginales para la inducción del estro en ovejas (tesis de licenciatura). México, D.F. UNAM. 1996.
 44. Bennett JP, Vallance DK, Vickery BH. The synchronization of ovulation in the adult female rat by oral administration of melengestrol acetate. *J. Reprod. Fert.* 1968; 16:159-163.

45. Imwalle DB, Fernández DL, Schillo KK. Melengestrol acetate blocks the preovulatory surge of luteinizing hormone, the expression of behavioral estrus, and ovulation in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 2002; 80: 1280-1284.
46. Patterson DJ, Kiracofe GH, Stevenson JS, Corah LR. Control of the bovine oestrus cycle with melengestrol acetate (MGA): A review. *J. Anim. Sci.* 1989; 67: 1895-1906.
47. Quispe T, Zarco L, Valencia J, Ortiz A. Estrus synchronization with melengestrol acetate in cyclic ewes. Insemination with fresh or frozen semen during the first or second estrus post treatment. *Theriogenology.* 1994; 41:1385-1392.
48. Daniel JA, Sterle SW, McFadin-Buff EL, Keisler DH. Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. *Theriogenology.* 2001; 56:105-110.
49. Funston RN, Ansotegui RP, Lipsey RJ, Geary TW. Synchronization of estrus in beef heifers using either melengestrol acetate (MGA)/prostaglandin or MGA/Select Synch. *Theriogenology.* 2002; 57: 1485-1481.
50. Kesler, D. J., and R. J. Favero. 1995. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate. Part 1: mechanism of action. *Agri-Practice.* 1995;16: 6.
51. Martin S, Agar A. Eficiencia de CHRONOGEST® 20 mg liberación controlada en ovejas adultas con monta natural. SEOC, 2007. España.
52. Martinez-Garcia JA, Sanchez-Torres Mt, Cordero JL, Mendoza GD, Garcia-Bojalil CM, Garcia-Winder M. Ovarian follicular dynamics after cauterization of the dominant follicle in anestrous ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 2007; 98:225-232.
53. Gonzalez-Bulnes A, Veiga-Lopez A, Garcia P, Garcia-Garcia RM, Ariznavarreta C, Sanchez MA, Tresguerres JAF, Cocero MJ, Flores JM. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology.* 2005; 63: 2523-2534.
54. Crosby TF, Boland MP, Gordon I. Effect of progestagen treatments on the incidence of estrous and pregnancy rates in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 1991; 24:109-118.
55. Husein MQ, Ababneh MM. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology.* 2008; 69: 376-383.
56. Huerta PC. Sincronización del estro en ovejas, utilizando media esponja vaginal y esponja completa impregnada con acetate de fluorogestona (FGA) (tesis de licenciatura). México, UNAM. 2007.
57. Pope WF, Cárdenas H. Sensitivity of sheep to exogenous prostaglandin $F_{2\alpha}$ early in the estrous cycle. *Small Ruminant Research.* 2004; 55:245-248.
58. Cárdenas H, Wiley TM, Pope WF. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -induced estrus in ewes exhibiting estrous cycles of different duration. *Theriogenology.* 2004; 62: 123-129.
59. Rekwot PI, Ogwu D, Oyedipe EO, Sekoni VO. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 2001; 65:157-170.

60. Knight TW, Lynch PR. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 1980; 3 (2): 133-136.
61. Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in the Australian cashmere goat. 2. Role of olfactory cues from the male. *Animal Reproduction Science.* 1993; 32 (1-2): 55-67.
62. Bartlewski PM, Beard AP, Cook SK, Rawlings NC. Ovarian activity during sexual maturation and following introduction of the ram to ewe lambs. *Small Ruminant Research.* 2002; 43 (1): 37-44.
63. Ungerfeld R, Ramos MA, González-Pensado SP. Ram effect: Adult rams induce a greater reproductive response in anestrus ewes than yearling rams. *Anim. Reprod. Sci.* 2008;103:271-277.
64. Ramírez Braulio A, Álvarez Ramírez L, Ducoing WA, Trujillo García AM, Gutiérrez Molotla J, Zarco Quintero LA. Inducción de actividad ovárica en cabras anéstricas mediante diferentes grados de contacto con hembras en estro. *Vet. Méx.* 2001;32(1):13-18.
65. Wright IA, Rhind SM, Smith AJ, Whyte TK. Female-female influences on the duration of the post-partum anoestrus period in beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 1994; 59: 49-53.
66. Wayne NL, Malpoux B, Karsch BJ. Social cues can play a role in timing onset of the breeding season of the ewe. *J. reprod. Fert.* 1989; 87: 707-713.
67. Sunderland SJ, O'Callaghan D, Boland MP, Roche JF. Social cues can alter the time of reproductive transition in ewes. *J. Reprod. Fert.* 1990; 5: 28.
68. Álvarez RL. Efecto de la anosmia y la conducta social sobre la secreción de LH y ovulación de cabras anéstricas inducidas a ciclar mediante efecto hembra (tesis de maestría). México (DF) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM 2000.
69. Hernández-Aldana NA, Angulo RB, Cervantes J, Ortiz A, Zarco L, Valencia J. Influencia de la raza y de la profundidad del anestro sobre el efecto hembra-hembra en ovejas. *Memorias del X Congreso Nacional de Producción Ovina*; 1999 octubre 13-15; Veracruz, México. México (DF): Asociación Mexicana de técnicos y especialistas en ovinos A.C. 1999: 80-84.
70. Zarco L, Rofríguez EF, Angulo MRB, Valencia J. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 1995; 39:251-258.
71. Rawlings NC, Evans ACO, Honaramooz, Bartlewski PM. Antral follicle growth and endocrine changes in prepuberal cattle, sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 2003; 78: 259-270.
72. Mossa F, Duffy P, Naitana S, Lonergan P, Evans ACO. Association between numbers of ovarian follicles in the first follicle wave and superovulatory response in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 2007; 100: 391-396.
73. Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology.* 1995; 43: 689-703.
74. Soboleva TK, Peterson AJ, Pleasants AB, McNatty KP, Rhodes FM. A model of follicular development and ovulation in sheep and cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 58: 45-57.

75. Driancourt MA, Guet P, Magallon T. Ovine follicular fluid inhibits aromatase activity. *Domestic Animal Endocrinology*. 2000; 18: 349-362.
76. Evans ACO, Duffy P, Hynes N, Boland MP. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 2000; 53: 699-715.
77. Taylor C, Rajamahendran R. Follicular dynamics corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 1991; 71: 61-67.
78. Duggavathi R, Bartlewski PM, Barret DMW, Rawlings NC. The temporal relationship between patterns of LH and FSH secretion, and development of ovulatory-sized follicles during the mid-to late-luteal phase of sheep. *Theriogenology*. 2005; 64: 393-407.
79. Fortune JE. Activation of primordial follicles. *The future of the oocyte basic and clinical aspects*. Springer. Nueva York, EEUU. pp. 11-21. Editor. *Reproduction in domestic animals*. California: Academic press, inc., 1991: 491-515.
80. McGee EA, Hsueh AJW. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles. *Endocrine Reviews*. 2000; 21(2): 200-214.
81. Lindsey BR, Wehrman ME, Melvin EJ, Quintal JA, Kojima FN, Zanella EL, Fike KE, Bergfeld EGM, Kinder JE. Ovarian follicular growth and FSH secretion following a timed injection of progesterone in cows. *Theriogenology*. 1996; 45 (1): 325.
82. Ginther OJ. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*. 2000; 60-61: 61-79.
83. Beg MA, Bergfeld DR, Kot K, Ginther OJ. Follicle selection in cattle: Dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. *Biology of reproduction*. 2002; 66: 120-126.
84. Evans ACO, Martin F. Kinase pathways in dominant and subordinate ovarian follicles during the first wave of follicular development in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 64: 221-231
85. Gonzalez-Bulnes A, Souza CJH, Campbell BK, Baird DT. Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 84: 107-119.
86. Gonzalez-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Santiago-Moreno J, Domínguez V, Lopes-Sebastian A, Cocero MJ. Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatments in ewes. *Theriogenology*. 2003; 60: 281-288.
87. Barrett DMW, Bartlewski PM, Cook SJ, Rawlings NC. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to PGF_{2α} given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology*. 2002; 58: 1409-1424.
88. Callejas SS, Alberio R, Cabodevila J, Dulout F, Aller J, Catalano R, Teruel M. Influence of different doses of progesterone treatments on ovarian follicle status in beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2006; 91: 191-200.
89. Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology*. 1999. 52: 115-130.
90. Rubianes E, De Castro T, Carbajal B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Can. J. Anim. Sci.* 1996; 76: 473-475.

91. Gibbons JR, Kot K, Thomas DL, Wiltbank MC, Ginther OJ. Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology*. 1999; 52:1005-1020.
92. Lindsay DR. Reproduction in the sheep and goat. In: Cupps PT, Editor. *Reproduction in domestic animals*. California: Academic press, inc., 1991: 491-515.
93. Espinoza-Márquez MC, Valencia J, Zarco L, Escobar-Medina FJ, Colina-Flores F, Arechiga-Flores CF. Effect of fluorogestone acetate on embryo recovery and quality in eCG-superovulated goats with premature luteal regression. *Theriogenology*. 2004; 62: 624-630.
94. Viñoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajarville C, Repetto J, Meikle A. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increased in glucose and metabolic hormones. *Reproduction*. 2005; 129: 299-309.
95. Miller KF, Critser JK, Rowe RF, Ginther OJ. Ovarian effects of bovine follicular fluid treatment in sheep and cattle. *Biol. Of Reprod*. 1979; 21: 537-544.
96. Miller DW, Martin GB. Increases in ovulation rate and gonadotrophin concentration in goats and merino sheep after treatment with bovine follicular fluid. *Anim. Reprod. Sci*. 1993; 31: 225-236.
97. Balcázar SA. Efecto de la administración del líquido folicular sobre el desarrollo folicular, duración de la fase lútea y fertilidad de ovejas inducidas a ovular mediante la administración de HCG (tesis de maestría). México, UNAM. 1995.
98. Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Kot K. Activin A, Estradiol, and Free Insulin-Like Growth Factor I in Follicular Fluid Preceding the Experimental Assumption of Follicle Dominance in Cattle. 2002; 67: 14-19
99. McNeilly AS. Changes in FSH and the pulsatile secretion of LH during the delay in oestrus induced by treatment of ewes with follicular fluid. *J. Reprod. Fert*. 1984; 72: 165-172.
100. Law AS, Baxter G, Logue DN, O'Shea T, Webb R. Evidence for the action of bovine follicular fluid factor(s) other than inhibin in suppressing follicular development and delaying oestrus in heifers. *J. Reprod. Fert*. 1992; 96: 603-616.
101. Robertson DM, Klein R, de Vos FL, McLachlan RI, Wettenhall REH, Hearn MTW, Burger HG, de Kretser DM. The isolation of polypeptides with FSH suppressing activity from bovine follicular fluid which are structurally different to inhibin. *Biochemical and Biophysical research communications*. 1987; 149 (2): 744-749.
102. Shidaifat F. Inhibin-A and estradiol content of sheep follicles and their association with follicular diameter. *Small Ruminant Research*. 2001; 42: 179-183.
103. Watson ED, Thomassen R, Steele M, Heald M, Leask R, Groome NP, Riley SC. Concentrations of inhibin, progesterone and oestradiol in fluid from dominant and subordinate follicles from mares during spring transition and breeding season. *Anim. Reprod. Sci*. 2002; 74: 55-67.

104. Mann GE, McNeilly AS, Baird DT. Hormona production in vivo and in Vitro from follicles at different stages of the Oestrus cycle in the sheep. *J. Endocrinol.* 1992; 132 (2): 225-234.
105. Campbell BK, McNeilly, Mann GE, Baird DT. The effect of stage of estrous cycle and follicular maturation on ovarian inhibin production in sheep. *Biology of Reproduction.* 1991; 44: 483-490.
106. Pangas SA, Woodruff TK. Activin Signal Transduction Pathways. *TEM.* 2000; 11(8): 309-314.
107. Hernández Cerón J, Murcia Mejía C, Valencia Méndez J, Rojas Maya S, Zárate Martínez J, Zarco Quintero L. Efecto del líquido folicular equino libre de esteroides sobre la secreción de FSH en ovejas en anestro estacional y la presentación del estro inducido con PGF 2α en ovejas ciclando. *Vet. Méx.* 1997; 28(2):117-121.
108. Scaramuzzi RJ, Adams NR, Baird DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GB, McNatty KP, McNeilly AS, Tsonis CG. A model for follicle selection and determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod. Fertil. Dev.* 1993; 5: 459-478.
109. García E. Modificaciones del sistema de clasificación climática de Koppen. 2ª ed. UNAM. Mexico, D.F. 1981.
110. Vanmontfort D, Peeters R, Buys N, Rombauts L, Verhoeven G, Charlet-Renard C, Franchimont P, Decuypere E. Circulating levels of inhibin and FSH during of oestrous cycle in 4 genotypes of sheep with different reproductive performances. *Small Ruminants Research.* 1998; 29: 213-224.
111. de Castro T, Rubianes E, Menchaca A, Rivero A. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology.* 1999. 52: 399-411.
112. Chemineau P, Cagnié y, Guérin Y, Orgeur P, Vallet JC. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Animal production and health paper 83. Italy: Food and agriculture organization of the united nations, 1991.
113. Kim S, Tanaka T, Kamomae H. Different effects of subnormal level of progesterone on the pulsatile and surge mode secretion of luteinizing hormone in ovariectomized goats. *Biol. Of Reprod.* 2003; 69: 141-145.
114. Bergfelt DR, Kastelic JP, Ginther OJ. Continued periodic emergence of follicular waves in non-bred progesterone-treated heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 1991; 24: 193-204.
115. Sanchez T, Wehrman ME, Kojima FN, Cupp AS, Bergfeld EG, Peters KE, Mariscal V, Kittok RJ, Kinder JE. Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 β -estradiol in heifers. *Biol. Of Reprod.* 1995; 52: 464-469.
116. Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats - a review 1987.
117. Viñoles C, Meikle A, Forsberg M. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 80: 69-79.

118. Downing J A, Scaramuzzi R J. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *Journal of reproduction and fertility*. 1991; Supplement 43: 209-227.
119. Aguilar MC. Evaluación de la administración de glicerol por vía oral en la tasa de ovulación y prolificidad en cabras (tesis de maestría). México, UNAM. 2006.
120. Wallace JM, McNeilly AS, Baird DT. Ovulation rate and embryo survival in damline ewes after treatment with bovine follicular fluid in the luteal phase of the oestrous cycle. *J. Reprod. Fert.* 1985; 75: 101-109.
121. Porras A, Valencia J, Zarco L. Effect of artificial photoperiod on ovarian activity in pelibuey sheep (hair sheep). *J. Reprod. Fert.*, abstract series (25) 31, Julio 2000.
122. Mitchell LM, Dingwall WS, Mylneb MJA, Hunton J, Matthews K, Gebbie FE, McCallum GJ, McEvoy TG. Season affects characteristics of the pre-ovulatory LH surge and embryo viability in superovulated ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 2002; 74:163-174.
123. Kleemann DO y Walker SK. Fertility in South Australian commercial Merino flocks: relationships between reproductive traits and environmental cues. *Theriogenology*. 2005; 63 (9): 2416-2433.
124. Thwaites CJ. Embryo mortality in the heat stressed ewe. I. The influence of breed. *J. Reprod. Fert.* 1985; 75:101-109.
125. Griffin, JFT. Stress and immunity: Unifying concept. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Elsevier Science Publishers. B.V., Amsterdam, Netherlands: 263-312.
126. Dobson H, Smith RF. Stress and subfertility. *Reprod. Dom. Anim.* 1998; 33: 107-111.
127. Scherzer J, Ghuman SPS, Pope M, Routly JE, Walter I, Smith RF, Dobson H. Follicle and oocyte morphology in ewes after treatment with insulin in the late follicular phase. *Theriogenology*. 2008; article in press.
128. Johnson SK, Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PE. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Dom. Anim. Endocr.* 1996; 13(1): 69-79.