



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DIFERENCIA EN LAS CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA DURANTE
EL CICLO ESTRAL DE OVEJAS FÉRTILES Y SUB-FÉRTILES

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

ERIKA ELIZABETH MIGUEL CRUZ

Asesores:

Dr. Luis Alberto Zarco Quintero

Dr. Octavio Mejía Villanueva

México D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

Para mis papás que sin ellos no lo hubiera logrado muchas gracias

VICENTE MIGUEL CRUZ

ALFONSINA CRUZ ORTÍZ

AGRADECIMIENTOS

GRACIAS A.....

Mis padres por todo el apoyo que me dieron para poder terminar mi carrera y llegar a ser una MVZ, sin ustedes no lo hubiera logrado.

Diego y Oscar, aunque no se los diga muy seguido los quiero y me ayudaron mucho también.

A mi tía Rosa, que siempre tuvo la paciencia para escucharme y darme un consejo, te lo agradezco mucho.

Al resto de mis familiares, porque siempre me ayudaron de alguna u otra forma, gracias

A ti Magali que de verdad me enseñaste tantas cosas, sobretodo me ayudaste a crecer como persona, te prometo que siempre vas a estar en mis más gratos recuerdos. Gracias por enseñarme a luchar por lo que quieres, y a no rendirme. Esta tesis y mi título también son para ti.

Al Dr. Zarco por darme la oportunidad de trabajar con usted, tenerme mucha paciencia y aguantarme.

Al Dr. Octavio Mejía por creer que podía con este trabajo, le agradezco la confianza, los consejos, los conocimientos y la amistad que compartió conmigo.

A los miembros de mi jurado Dr. Julio Cervantes, Dr. Antonio Ortiz, Dr. Javier Valencia, Dr. Ricardo Hernández, por su valioso tiempo, sus apreciables consejos y observaciones a este trabajo.

A los doctores de CEIEPO, por toda su paciencia y compartir un poco de su conocimiento conmigo, Dr. Martín por ser tan paciente conmigo, al Dr. Flores que siempre escuchaba mis quejas, Dr. Tapia que me hacia enojar (jajaja), Dr. Beto por su confianza.

A mis amigos de CEIEPO, Noé por tolerar contenido ruminal en su cara, a Don Juan por dejarme conducir el tractor, Adrian por esas pláticas en la planta de

alimentos, Dorita por ser tan amable conmigo, Pin por hacerme reír, Don Gabriel.

A mis nuevos amigos que conocí en CEIEPO, Anabel sabes que te quiero mucho amiga y recuerda que eres chido, jajaja, Alma, Beto, Angy, Ceci, Rafa, Alfonso, Moni, Diana, Vane, Yaz, Abril, Yara, Ale G., Fredy, por que siempre me daban ánimo.

A las borregas del experimento, sin ellas no hubiera logrado terminar la tesis, a Benita, Paloma, Gaviota, Felicia, borrega amiga y las otras 26 borregas.

Al programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica PAPIIT, No. de proyecto IN2216609, por el financiamiento para realizar este trabajo.

Al CONACYT, por su apoyo con la beca, fue de gran ayuda.

A mis amigas Vero Juárez que te conozco desde el primer día de la carrera y siempre estuviste ahí en las buenas y en las malas, Jazbet, Joshua, Alin, Ariani, Mar, Magali P., Susana, Rubí, Angy, Legna, Claudia, Estrella, Gaby, Gloria, Ninel, Oscar, Ana, por que tengo muy buenos recuerdos de ustedes, y compartimos momentos importantes en esta bonita carrera.

Al Dr. Carlos Gutiérrez Olvera, por haberme aguantado tanto tiempo, darme consejos, su amistad y ser un ejemplo a seguir, sin su apoyo no hubiera avanzado tanto.

A los compañeros del cubil, donde siempre fui bienvenida, gracias por sus consejos a Rocío, Eli, Cesar, Claudia A., Claudia L., Flor, Karina, Tania, Paulina, karola.

A las personas que conocí a los largo de la carrera y evitar omitir nombres.....

Gracias

CONTENIDO

PÁGINA

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
RESULTADOS.....	20
DISCUSIÓN.....	24
REFERENCIAS.....	29

RESUMEN

MIGUEL CRUZ ERIKA ELIZABETH. Diferencia en las concentraciones de progesterona durante el ciclo estral de ovejas fértiles y sub-fértiles. (Bajo la asesoría del Dr. Luis Alberto Zarco Quintero y el Dr. Vicente Octavio Mejía Villanueva).

El objetivo de este trabajo fue determinar si las ovejas sub-fértiles tienen deficiencias en la secreción de progesterona durante los primeros 10 días del ciclo estral. Se utilizaron 15 ovejas que habían quedado gestantes y parido normalmente durante la última época reproductiva (grupo fértil) y 15 ovejas que no quedaron gestantes a pesar de haber sido servidas por lo menos en tres ocasiones (grupo sub-fértil). Se detectaron calores dos veces al día, con la finalidad de establecer el día cero del ciclo estral, utilizando machos enteros provistos con un mandil para evitar la cópula. Se obtuvieron muestras sanguíneas dos veces al día durante 10 días, comenzando 24 horas después del inicio del estro. El muestreo se repitió en dos ciclos estrales consecutivos. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona mediante radioinmunoanálisis. Dentro de cada uno de los grupos no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de progesterona entre el primer y el segundo muestreo ($p < 0.05$). Las concentraciones de progesterona de las ovejas sub-fértiles fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) que las de las ovejas fértiles desde el día 6.5 del ciclo hasta que se suspendieron los muestreos en el día 10. Se concluye que la sub-fertilidad en la oveja no está asociada a una deficiente producción de

progesterona durante los primeros 10 días del ciclo estral. Las mayores concentraciones de progesterona en las ovejas sub-fértiles podrían deberse a la mejor condición corporal de los animales que no gestaron ni parieron en la época reproductiva anterior.

I. INTRODUCCIÓN

La sub-fertilidad se define como una disminución del rendimiento reproductivo de los animales (Friggens *et al*, 2010). Una hembra sub-fértil puede eventualmente quedar gestante, pero para lograrlo requiere en promedio de más tiempo, oportunidades o servicios que un animal con fertilidad normal. Para reducir la sub-fertilidad es importante determinar algunas de las causas que la provocan, ya que afecta la rentabilidad, el bienestar animal y la sustentabilidad de los animales en producción (Beerda *et al*, 2008).

En los rumiantes, la mortalidad embrionaria que ocurre entre la fertilización y el inicio del reconocimiento materno de la gestación puede alcanzar en forma normal valores de hasta un 30 ó 40% (deNicolo *et al*. 2009). La mayoría de los casos de sub-fertilidad están asociados con una incidencia aún mayor de mortalidad embrionaria. Se han descrito varias etapas críticas para el desarrollo y la sobrevivencia embrionaria en rumiantes y se han postulado muchas posibles causas que las afectan. Entre los factores vinculados con la madre se han encontrado la edad, el estado nutricional, la etapa lactacional y los factores climáticos (Thatcher *et al*, 1994; deNicolo *et al*, 2009; Friggens *et al*, 2010). También se ha postulado que las alteraciones en la función lútea son causa frecuente de pérdida de la gestación (Lamming *et al*, 1989; Hernández-Cerón y Zarco, 1998; Mann y Lamming, 1999). De éstas, las que se han descrito con mayor detalle son la regresión prematura del cuerpo lúteo, las alteraciones en el

ritmo de elevación de las concentraciones de progesterona desde el inicio del diestro y la deficiencia relativa de los niveles de progesterona durante la fase lútea (Thatcher *et al*, 1994). Estas últimas se han asociado con un retraso en el desarrollo embrionario (Mann y Lamming, 2001; Mann *et al*, 2006).

En el bovino las concentraciones bajas de progesterona durante los primeros días de la gestación se han asociado con un menor desarrollo embrionario, menor producción de interferón-tau (IFN-t) y en consecuencia una menor fertilidad (Mann y Lamming, 1999). En ovejas se ha encontrado que el ritmo de desarrollo embrionario durante las primeras dos semanas de la gestación se relaciona directamente con las concentraciones de progesterona presentes durante el mismo periodo, y especialmente con la velocidad a la cual se incrementan las concentraciones de progesterona durante la primera semana de vida del embrión (Nephew *et al*, 1991). Entre más elevadas sean las concentraciones de progesterona durante esta primera semana de vida del embrión, más pronto comenzará a producir IFN-t y adquirirá un grado de desarrollo suficiente para señalar su presencia al útero materno, evitando que se produzca la secreción pulsátil de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) (Nephew *et al*, 1991). En el caso del ovino, aunque se sabe que la administración exógena de progesterona durante los primeros días de la gestación acelera el desarrollo embrionario y adelanta la secreción de IFN-t, y que también en las ovejas que producen más progesterona en forma natural los embriones se desarrollan más rápido (Nephew *et al*, 1991), no se ha establecido si los animales con problemas de fertilidad se caracterizan por

un ritmo lento de elevación de las concentraciones de progesterona como el descrito en bovinos sub-fértiles (Mann y Lamming, 1999).

Objetivo

El objetivo de esta investigación es determinar si existen diferencias en las concentraciones de progesterona y en su ritmo de elevación durante los primeros 10 días del ciclo estral entre ovejas fértiles y ovejas sub-fértiles.

Hipótesis

Las ovejas sub-fértiles se caracterizan por tener un menor ritmo de elevación de las concentraciones de progesterona durante los primeros 10 días post-ovulación en comparación con las ovejas fértiles.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Progesterona

La progesterona es una hormona esteroide producida por el cuerpo lúteo durante la fase lútea del ciclo estral y durante la gestación. Todos los mamíferos requieren de progesterona para mantener la gestación, ya que permite el desarrollo y sobrevivencia del embrión, así como el desarrollo de las membranas placentarias (Spencer y Bazer, 2002).

Durante el establecimiento de la gestación ovina el cuerpo lúteo produce la progesterona necesaria para una gestación exitosa, ya que estimula una correcta función uterina para mantener el crecimiento y desarrollo del embrión, así como los procesos de implantación y placentación (Hernández-Cerón y Zarco, 1998).

En la mayoría de los mamíferos los receptores para progesterona se encuentran en el epitelio endometrial y en el estroma uterino (Ahn *et al*, 2009). En el ovino, el incremento en las concentraciones circulantes de estrógenos que se produce durante el crecimiento final del folículo preovulatorio estimula la aparición de receptores para progesterona tanto en las células epiteliales del lumen endometrial como en las del epitelio glandular. Sin embargo, si el útero continúa expuesto a progesterona durante 8 a 10 días (como ocurre durante la fase lútea del ciclo estral o durante los primeros días de la gestación), se produce una disminución de los receptores para progesterona en dichas células, lo que permite

que entre el día 11 y el 14 se expresen receptores para estrógenos y oxitocina (Spencer y Bazer, 2002), lo que permitirá el establecimiento del patrón pulsátil de secreción de prostaglandina F₂α que se requiere para la destrucción del cuerpo lúteo. (Zarco *et al*, 1988^a)

2.2 Regulación de la función lútea durante el ciclo estral

La principal función del cuerpo lúteo es la secreción de progesterona, que prepara al útero para el inicio y mantenimiento de la gestación. El cuerpo lúteo se origina después del pico de la hormona luteinizante (LH), que provoca que las células de la granulosa y de la teca interna sufran una serie de cambios bioquímicos y estructurales denominados luteinización, dando como resultado un cambio en la secreción de estradiol a progesterona (Baird, 1992). La LH tiene un papel importante en el mantenimiento del cuerpo lúteo; la concentración de los receptores para LH en el cuerpo lúteo aumenta a partir de la ovulación, alcanzando su máxima concentración a la mitad de la fase lútea del ciclo, por lo que la hormona puede seguir actuando a pesar de que en esta etapa disminuye la frecuencia de su secreción (Baird, 1992).

En la oveja no gestante el cuerpo lúteo mantiene su secreción de progesterona hasta el día 13 a 15 del ciclo, siendo posteriormente destruido debido a la secreción pulsátil de PGF₂α de origen uterino (Zarco *et al*, 1988^a).

Para que se destruya el cuerpo lúteo al final de la fase lútea se requiere un patrón de síntesis y liberación de por lo menos 4 o 5 pulsos de $\text{PGF2}\alpha$ secretados a intervalos aproximados de 6 horas (Zarco *et al*, 1988a). Si el intervalo entre pulsos se amplía, el cuerpo lúteo se puede recuperar después de cada pulso y continuar con su función durante días o semanas (Zarco *et al*, 1984).

Los pulsos de $\text{PGF2}\alpha$ que se generan al final de la fase lútea se deben al establecimiento de un mecanismo de retroalimentación positiva entre oxitocina producida por el cuerpo lúteo y $\text{PGF2}\alpha$ secretada por el endometrio (Flint y Sheldrick, 1983). Para que se genere un pulso de $\text{PGF2}\alpha$ se requiere que el endometrio tenga receptores para oxitocina, lo que normalmente ocurre después del día 12 del ciclo (Roberts *et al*, 1976), cuando la pérdida de receptores para progesterona en el endometrio permite que aparezcan receptores para estradiol. De esta manera, el estradiol producido por un folículo dominante puede actuar sobre el endometrio para inducir la síntesis y reciclado de receptores para oxitocina (Sheldrick y Flint, 1985). Una vez ocurrido esto, la oxitocina producida por el cuerpo lúteo puede provocar en el útero la secreción de $\text{PGF2}\alpha$, que además de iniciar la destrucción del cuerpo lúteo provoca que este secrete más oxitocina, que a su vez regresa al útero para incrementar la secreción de $\text{PGF2}\alpha$, por lo que se genera un pico simultáneo de ambas hormonas, que solamente termina cuando el útero se queda sin receptores para oxitocina (Sheldrick y Flint, 1986; Flint *et al*, 1990). Bajo la influencia del estradiol, transcurridas 5 a 6 horas

vuelven a aparecer en el útero los receptores para oxitocina, por lo que puede iniciarse un nuevo pulso de PGF2 α y oxitocina (Flint *et al*, 1986).

Durante los primeros 8 a 10 días de la fase lútea la progesterona bloquea la expresión de receptores para estradiol y oxitocina en el endometrio. Después de 10 días la progesterona induce la disminución de propios receptores en el endometrio (McCracken *et al*, 1984), específicamente en las células epiteliales del lumen endometrial y del epitelio glandular del endometrio (Spencer y Bazer, 2002), por lo que la progesterona deja de actuar en estas células, permitiendo la aparición de receptores para estradiol. A partir de este momento, cuando aparezca en el ovario un folículo dominante productor de estradiol, dicha hormona podrá inducir la síntesis de receptores para oxitocina en el endometrio luminal y glandular (Spencer y Bazer, 2002). Entonces, la luteólisis se lleva a cabo cuando al final del diestro existen suficientes receptores para oxitocina en el endometrio, debido a los altos niveles de estrógenos producidos por un folículo dominante y a que dichos estrógenos pueden actuar debido a que existen receptores para ellos (McCracken *et al*, 1984).

2.3 Función lútea durante el establecimiento de la gestación

La oveja ovula espontáneamente entre 24 y 36 horas después de iniciado el estro (Walker *et al*, 1989; Romano *et al*, 2001). Para que la gestación se establezca

exitosamente se requiere una adecuada interacción entre el ovario, embrión, oviducto y útero (Thatcher *et al*, 1994). Esta interacción comienza desde el desarrollo del folículo pre-ovulatorio, e incluye el pico pre-ovulatorio de LH, la activación del ovocito, la ovulación, la fertilización, la luteinización de las células foliculares, la formación del cuerpo lúteo, el desarrollo del embrión en el oviducto y su transporte al útero, la elongación del trofoblasto, la producción embrionaria de señales antiluteolíticas y la respuesta materna a dichas señales. Durante todo este proceso se produce un activo intercambio de señales entre el embrión y los tejidos maternos, cada uno de los cuales emite señales autócrinas, parácrinas y endócrinas.

A partir del pico preovulatorio de LH, y aún antes de producirse la ovulación se produce un cambio en la fisiología de las células del folículo preovulatorio, que dejan de secretar estradiol y comienzan poco a poco a producir progesterona (Chenault *et al*, 1975; Kaneko *et al*, 1991). Cuatro o cinco días después del estro el cuerpo lúteo está completamente formado y ha adquirido plena funcionalidad, por lo que las concentraciones de progesterona en sangre alcanzan niveles de 1ng/ml o mayores. La progesterona es el principal producto de secreción del cuerpo lúteo, y es la hormona responsable de la preparación del útero para el establecimiento y mantenimiento de la gestación. En las ovejas, la concentración plasmática normal de progesterona durante el diestro fluctúa entre 1 y 5 ng/ml y se mantienen así hasta los días 13 a 15 del ciclo estral, cuando se presenta la lisis o

regresión del cuerpo lúteo (Zarco *et al*, 1988^a), la cual no ocurre si la presencia del embrión ha sido reconocida por la madre (Zarco *et al*, 1988^b).

Como se mencionó anteriormente, al final del ciclo estral la regresión lútea es ocasionada por la liberación pulsátil de la PGF2 α (Zarco *et al*, 1988^a). El establecimiento de este patrón de secreción pulsátil se debe a que alrededor del día 13 del ciclo estral de la oveja se incrementa el número de receptores para oxitocina en el endometrio y aumenta la capacidad para reciclarlos rápidamente después de ser utilizados (Flint *et al*, 1986). Sin embargo, en el animal gestante el embrión produce IFN-t, que provoca un bloqueo de la síntesis de receptores para oxitocina (Nephew *et al*, 1991; Bazer *et al*, 2008), lo que resulta en un patrón de secreción continua, no pulsátil de PGF2 α . (Zarco *et al*, 1988^b). De esta manera, si el animal está gestante se modifica el patrón de secreción de PGF2 α , por lo que entre el día 12 y 15 post-estro en lugar de establecerse un patrón de secreción pulsátil se produce una elevación sostenida en la secreción basal. Esta secreción sostenida no es luteolítica, por lo que el cuerpo lúteo continúa funcionando en el animal gestante (Zarco *et al*, 1988^b).

Como se mencionó anteriormente, el IFN-t es la hormona antiluteolítica secretada por el trofoblasto del embrión para provocar el reconocimiento materno de la gestación. Esta sustancia interfiere con la síntesis y reciclado de receptores para estrógenos y oxitocina en el útero, por lo que no puede establecerse el patrón de secreción pulsátil de PGF2 α que se requiera para una luteólisis efectiva (Bazer *et*

al, 2008). Sin embargo, el IFN-t no tiene como única función la de servir como señal para el reconocimiento materno de la gestación, ya que también constituye una señal fundamental para regular la expresión de un elevado número de genes en las células endometriales (Bazer *et al*, 2008; Spencer *et al*, 2008). La expresión de genes regulados en forma directa por el IFN-t, actuando solo o en conjunto con la progesterona, se traduce en efectos sobre el desarrollo embrionario, la preparación uterina para la implantación, la modulación del sistema inmune materno para evitar el rechazo del embrión, y varias funciones más (Ahn *et al*, 2009; Simmons *et al*, 2010; Demmers *et al*, 2001).

2.4 Efectos de la progesterona sobre el desarrollo embrionario

La progesterona es indispensable para el establecimiento y mantenimiento de la gestación. Las concentraciones de esta hormona deben elevarse rápidamente durante los primeros días de la gestación, ya que el útero debe estar en un ambiente dominado por progesterona al momento de producirse la llegada del embrión desde el oviducto (Lamming *et al*, 1989; Hernández Cerón y Zarco, 1998). La ausencia de progesterona en este momento (día 5 a 6 de la gestación) resulta de inmediato en la degeneración y muerte del embrión.

Existen evidencias de que no solamente la sobrevivencia del embrión, sino también su ritmo de desarrollo, dependen de las concentraciones de progesterona

presentes durante la primera semana de vida. Nephew *et al* (1991), demostraron que en las ovejas en las que en forma natural las concentraciones de progesterona se elevan más rápidamente durante la primera semana de la gestación, sus embriones comienzan antes la producción de IFN-t y se desarrollan más rápidamente (Nephew *et al*, 1991). Esta relación positiva entre producción natural de progesterona, desarrollo embrionario y producción de IFN-t también ha sido observada en ganado bovino lechero (Mann y Lamming, 2001).

El efecto estimulante de las concentraciones elevadas de progesterona sobre el desarrollo embrionario inicial también ha sido demostrado experimentalmente. En bovinos se ha informado que la administración de progesterona exógena acelera el desarrollo de los embriones y la estimula la producción temprana de IFN-t (Garret *et al*, 1988) y resulta en mejores índices de gestación (Mann y Lamming, 1999).

En vacas lecheras, Mann *et al* (2006) demostraron que la administración de progesterona entre el día 5 y 9 de la gestación provoca una aceleración del desarrollo embrionario y una mayor producción de IFN-t en el día 16. El efecto fue mucho menos marcado cuando la progesterona se comenzó a administrar después del día 9. En ovinos, si la progesterona se comienza a administrar desde el primer día posterior a la ovulación se produce un marcado efecto en el desarrollo embrionario, que resulta en embriones que en el día 9 de la gestación tienen más del doble de diámetro que los de ovejas testigo, y para el día 12 los embriones de las ovejas tratadas con progesterona ya adquirieron una forma

filamentosa y tienen varios centímetros de longitud, mientras que los de ovejas no tratadas aún son esféricos y miden unos cuantos milímetros de diámetro (Satterfield *et al*, 2006).

El embrión temprano no tiene receptores para progesterona, por lo que esta hormona no actúa directamente sobre el embrión para estimular su desarrollo o su producción de INF-t. El efecto estimulador del desarrollo embrionario es mediado por la acción de la progesterona sobre el endometrio, afectando la composición de las secreciones uterinas, que a su vez afectan el desarrollo del embrión (Spencer *et al*, 2008).

2.5 Relación entre concentraciones de progesterona y fertilidad

En los bovinos, algunos trabajos han demostrado que las hembras que no quedaron gestantes después del servicio tuvieron concentraciones más bajas de progesterona durante los primeros 16 días posteriores a la ovulación, que aquellas que quedaron gestantes (Henricks *et al*, 1971; Lukaszewska y Hansel, 1980; Lamming *et al*, 1989; Butler *et al*, 1996). En un meta-estudio realizado para analizar los resultados publicados sobre efectos de la administración de progesterona en la fertilidad bovina, Mann y Lamming, (1999) encontraron que la administración de progesterona exógena mejora la fertilidad de vacas sub-fértiles siempre y cuando la administración de la hormona comience durante los primeros

6 días post-servicio. Posteriormente, el mismo grupo demostró en forma experimental que este efecto está asociado con una estimulación del desarrollo embrionario y la producción de IFN-t (Mann *et al*, 2006)

Garret *et al* (1988) encontraron que la administración de progesterona al inicio del ciclo estral acelera el desarrollo embrionario e incrementa la producción de IFN-t en vacas productoras de carne, mientras que Mann y Lamming (2001), demostraron que en las vacas lecheras en las cuales la progesterona se elevó lentamente durante el inicio del ciclo estral, y que tuvieron concentraciones promedio de progesterona más bajas de lo normal, sus embriones presentaban un menor desarrollo en el día 16 del ciclo estral, es decir, justo antes del momento del reconocimiento materno de la gestación. En dichas vacas se producía IFN-t, en menores cantidades. Cuando las vacas portadoras de esos embriones fueron desafiadas con la administración de oxitocina, respondieron con una mayor secreción de PGF2 α que las vacas con embriones que producían concentraciones normales de IFN-t, lo que sugiere que una deficiente producción de progesterona puede resultar en la presencia de embriones con pobre desarrollo e incapaces de llevar a cabo el reconocimiento materno de la gestación debido a su limitada producción de IFN-t (Mann y Lamming, 2001).

Por otra parte, Morales-Roura *et al* (2001) lograron provocar un aumento significativo en el índice de concepción de vacas repetidoras mediante el tratamiento con somatotropina bovina recombinante al momento de la inseminación artificial, tratamiento que entre otras cosas resultó en un significativo

aumento en las concentraciones de progesterona durante la fase lútea, por lo que sugirieron que la corrección de la infertilidad previa de sus sujetos experimentales podría ser debida en parte al aumento en las concentraciones de progesterona. Sin embargo, en otros estudios no se han detectado diferencias entre las concentraciones de progesterona de las vacas que quedan gestantes y aquellas que no lo hacen (Hernández-Cerón *et al*, 1993).

Justificación

Aunque en la oveja se ha demostrado que existe una relación entre el ritmo de desarrollo embrionario y las concentraciones de progesterona durante los primeros días de la gestación, no existe información que compare las concentraciones de progesterona de ovejas fértiles y sub-fértiles durante los primeros días de la fase lútea, por lo que no se conoce si la infertilidad en esta especie puede estar asociada con deficiencias en la función lútea en esta etapa. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo es comparar las concentraciones de progesterona y el ritmo con el que se elevan en ovejas fértiles y subfértiles durante los primeros 10 días del ciclo estral.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Localización

El experimento se realizó en el centro de enseñanza investigación y extensión en producción ovina (C.E.I.E.P.O.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. El C.E.I.E.P.O. se ubica en Km 53.1 de la carretera federal México-Cuernavaca, poblado de Tres Marías, Municipio Huitzilac, Estado de Morelos. Su localización geográfica es 19°02' de latitud norte y 99°16' longitud oeste, a una altura de 2,743 msnm.

El clima de la región es Cb (m)(w)ig, que corresponde a templado semifrío con verano fresco y largo, de acuerdo a la clasificación de Köepen. Las lluvias se presentan en los meses de mayo a octubre y la temporada de secas de noviembre hasta abril con una temperatura media anual 9.9 °C. La precipitación pluvial es de 1,724 mm anuales. (García, 1973)

Animales experimentales

Se utilizaron 20 ovejas de la raza Suffolk y 10 ovejas de la raza Dorset. Todas ellas adultas de entre 2 y 5 años de edad, con una condición corporal de 2.5 – 3 en una escala de 1 a 5. Todas las ovejas tuvieron una alimentación basada en pastoreo desde las 8:30 am. hasta las 3:30 pm. en praderas con Rye grass anual (*Lolium multiflorum*), Rye grass perene (*Lolium perenne*), Orchard grass (*Dactylis glomerata*), Kikuyo (*Penisetum clandestinum*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y

trébol rojo (*Trifolium pratense*). El resto del día permanecieron en un corral en el que se les suplementó con heno de avena y 200 g de concentrado comercial con 13.1 % de PC y 3.4 Mcal/kg. En el corral tuvieron acceso a agua *ad libitum* por medio de bebederos automáticos.

Diseño experimental

El experimento se realizó en la época reproductiva, en los meses de agosto y septiembre.

La mitad de las ovejas (Grupo fértil, n=15, formado por 10 ovejas Suffolk y 5 Dorset) fueron animales fértiles debido a que se seleccionaron al azar de entre las ovejas que han parido todos los años durante su vida.

La otra mitad (Grupo subfértil, n=15, formado por 10 ovejas Suffolk y 5 Dorset) tenían como antecedente el no haber parido durante la última época de partos a pesar de haber recibido servicio en por lo menos tres ocasiones durante la última temporada de empadre, por lo que se consideraron como animales sub-fértiles.

Todas las ovejas se mantuvieron juntas durante el estudio, identificándose con una marca de pintura en la grupa las pertenecientes a cada grupo. Se detectaron estros dos veces al día (7 de la mañana y 4 de la tarde) con ayuda de dos machos celadores con mandil.

Cuando la borrega mostraba signos de estro se marcaba en la grupa con un marcador para ganado y 24 horas después se comenzaron a tomar muestras sanguíneas dos veces al día durante 10 días.

Cuando se concluyó con el primer muestreo, se aplicó PGF2 α para provocar la lisis del cuerpo lúteo, se volvieron a detectar estros dos veces al día, y al detectarse el estro se repitió el procedimiento del primer muestreo durante 10 días. De esta forma, se obtuvieron en total 40 muestras por borrega en dos ciclos estrales consecutivos.

Todas las muestras de sangre se obtuvieron por punción yugular en tubos al vacío heparinizados. Después de su obtención las muestras se centrifugaron para separar el plasma, el cual se mantuvo en congelación a -20 °C hasta su utilización para la determinación de las concentraciones de progesterona mediante radioinmunoensayo en fase sólida, utilizando el estuche comercial “Coat-A-Count Progesterone” de la marca SIEMENS® Medical Solutions Diagnostics. El ensayo tiene una sensibilidad de 0.03 ng/ml. El coeficiente de variación intra-ensayo fue de 12.76 % e inter-ensayo de 1.96 %.

Análisis estadístico

Las concentraciones diarias de progesterona se compararon mediante análisis de varianza de tres factores (grupo, muestreo y día del ciclo) para mediciones repetidas, con el efecto del animal anidado dentro del grupo.

IV.RESULTADOS

En la figura 1, se muestran las concentraciones promedio de progesterona del grupo fértil durante los primeros 10 días del ciclo estral de los dos muestreos. No existieron diferencias significativas entre muestreos en ninguno de los días del ciclo estral ($P>0.05$)

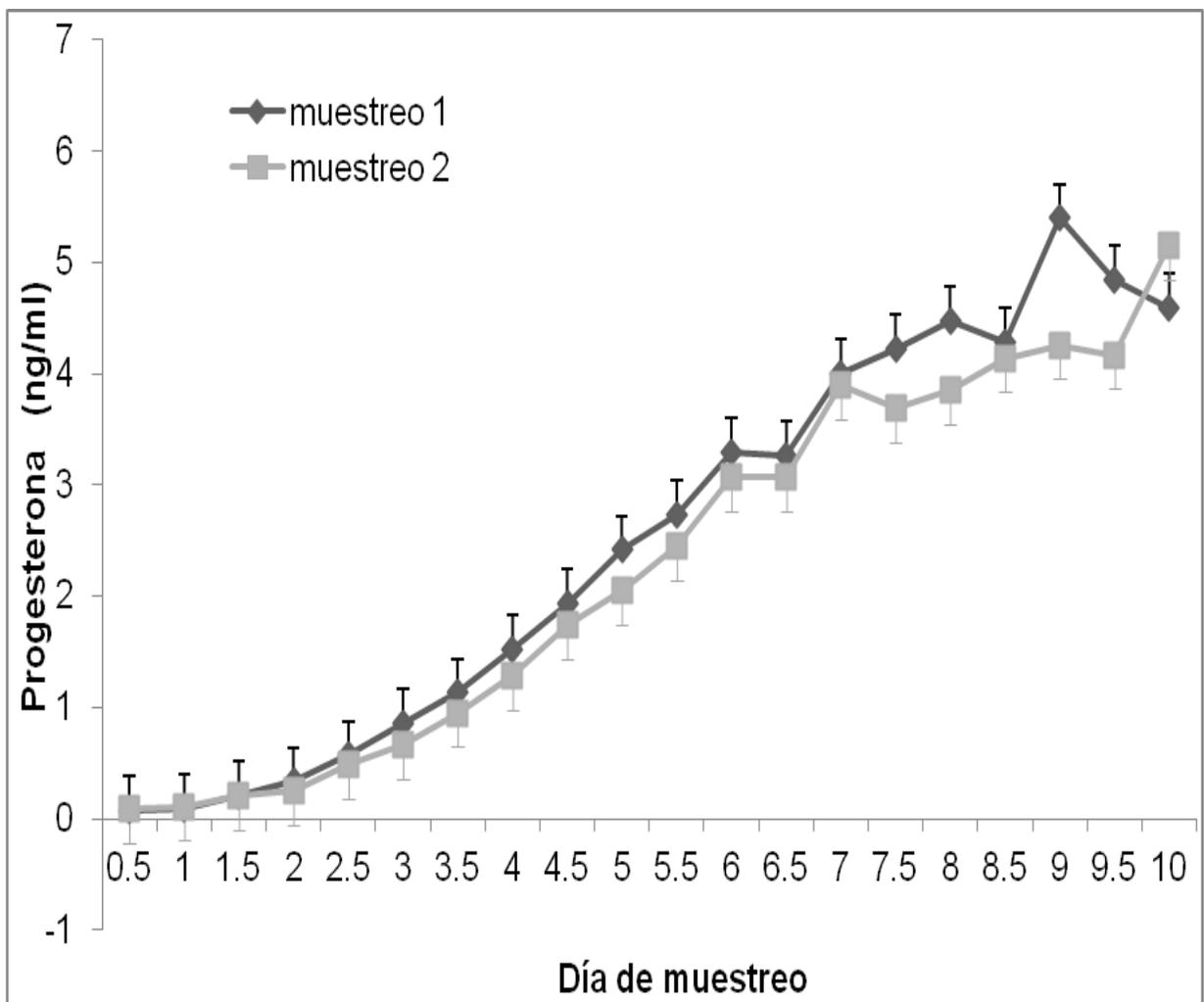


Figura 1. Concentraciones promedio de progesterona en diferentes días del ciclo estral durante dos muestreos realizados en ciclos consecutivos de ovejas fértiles.

En la figura 2, se muestran las concentraciones promedio de progesterona durante los dos muestreos de las ovejas sub-fértiles. Las dos curvas son casi idénticas y no existen diferencias significativas en las concentraciones de progesterona entre muestreos en ninguno de los días del ciclo ($P>0.05$). .

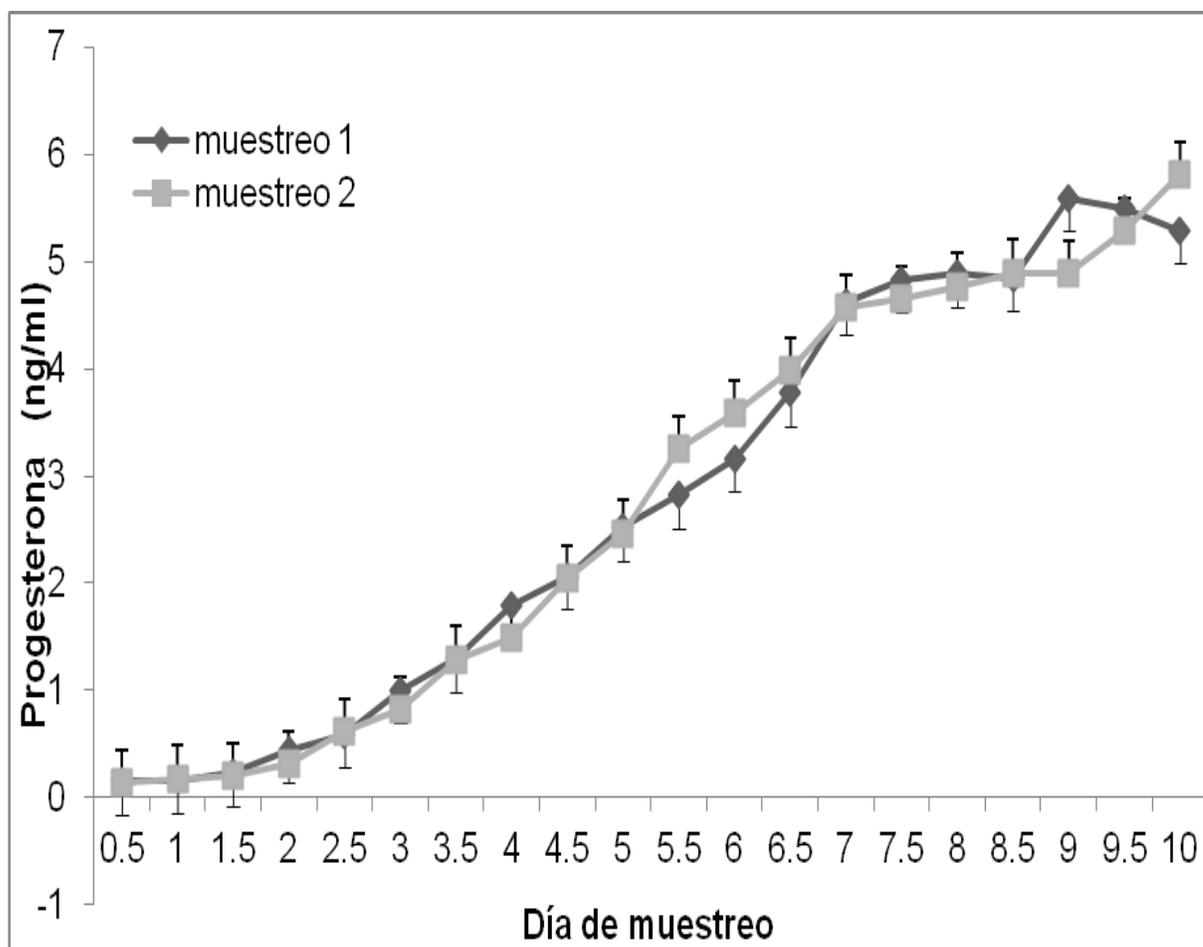


Figura 2. Concentraciones promedio de progesterona en diferentes días del ciclo estral de ovejas sub-fértiles durante dos muestreos realizados en ciclos estrales consecutivos.

Debido a que en ninguno de los grupos se encontraron diferencias entre muestreos se procedió a agrupar la información de los dos muestreos de cada grupo para realizar la comparación entre grupos. Los resultados se muestran en la figura 3, en la que se advierte que desde el día 3 del ciclo las concentraciones de progesterona comenzaron a separarse entre los grupos. A partir del día 6.5 y hasta el final del muestreo las concentraciones de progesterona fueron significativamente más elevadas ($p < 0.05$) en las ovejas sub-fértiles que en las fértiles.

En ambos grupos las concentraciones de progesterona se elevaron por encima de 1 ng/ml en el día 3.5 del ciclo, y continuaron elevándose en forma sostenida hasta llegar al día 6 del ciclo. Posteriormente los grupos se comportaron en forma diferente, ya que en el grupo sub-fértil las concentraciones continuaron elevándose entre cada muestreo (aunque a diferente ritmo en distintos momentos), mientras que en el grupo fértil se alternaron periodos de elevación con periodos estáticos e inclusive con algunos momentos en que las concentraciones tuvieron un descenso ligero. A pesar de lo anterior, en ambos grupos las máximas concentraciones de progesterona se alcanzaron en el día 10, siendo significativamente mayores ($p < 0.05$) en las ovejas sub-fértiles (5.55. ng/ml) que en las fértiles (4.78 ng/ml).

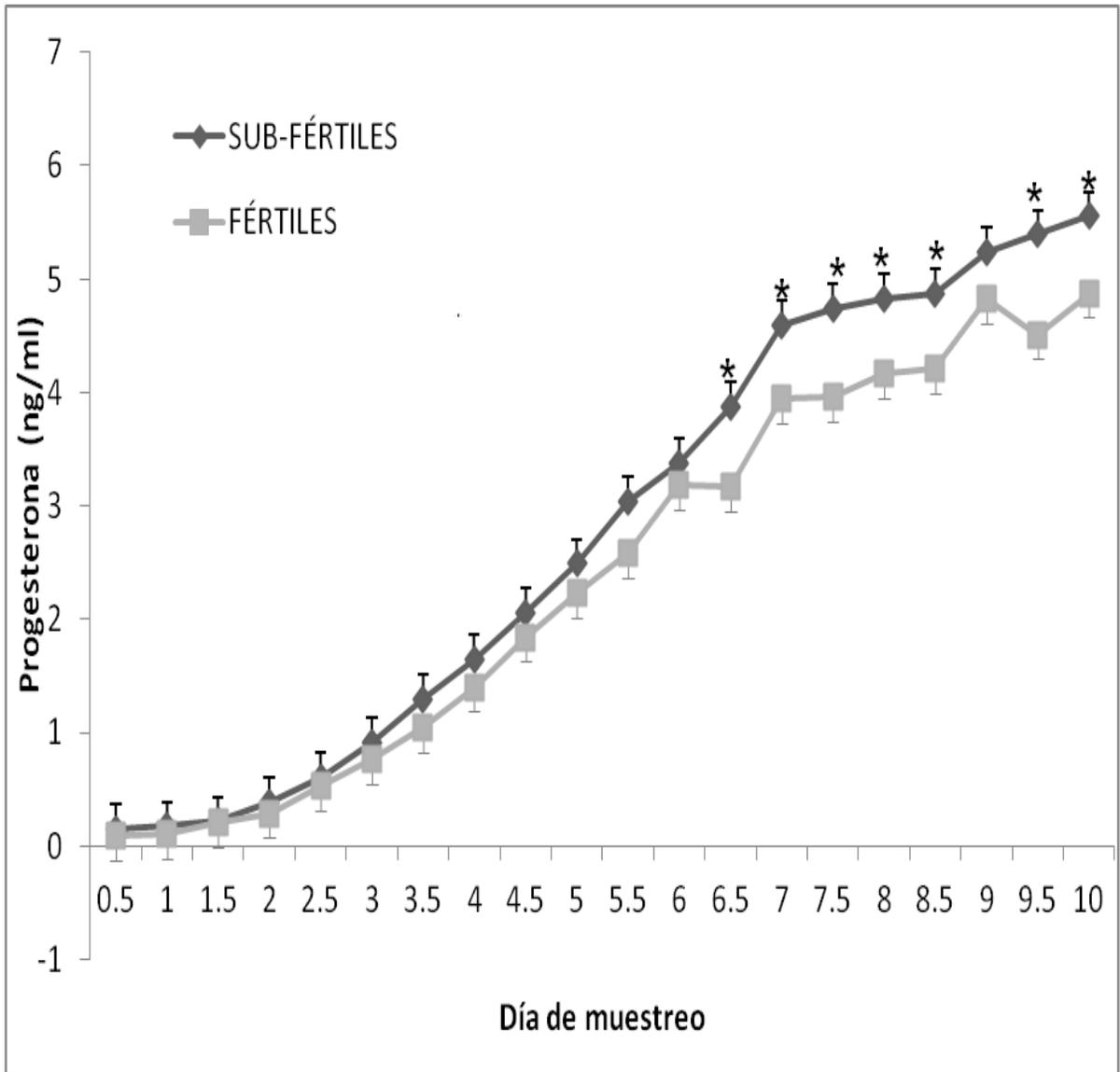


Figura 3. Concentraciones promedio de progesterona en diferentes días del ciclo estral de ovejas fértiles y ovejas sub-fértiles. Los asteriscos indican momentos en los que las diferencias entre los dos grupos son significativas ($p < 0.05$).

V. DISCUSIÓN

Las concentraciones de progesterona encontradas en el presente trabajo en diferentes momentos del ciclo estral en ambos grupos son similares a las encontradas por otros autores en ovejas fértiles. Por ejemplo, en diversos trabajos la concentración de 1 ng/ml de progesterona (aceptado generalmente como indicador de la presencia de un cuerpo lúteo plenamente funcional) se alcanzó en el día 2.5 (Baby y Bartlewski, 2011), en el día 3.5 (Okada *et al*, 2000) o el día 4 del ciclo (Morgan *et al*, 1993), mientras que en el presente trabajo dicho valor se alcanzó en ambos grupos en el día 3.5.

De la misma forma, otros autores han encontrado que las máximas concentraciones de progesterona se alcanzan entre el día 8 y el día 12 (Morgan *et al*, 1993; Uribe-Velázquez *et al*, 2008; Baby y Bartlewski, 2011), mientras que en ambos grupos del presente trabajo la máxima concentración se alcanzó en el día 10 del ciclo. También los valores máximos de progesterona alcanzados por las ovejas de ambos grupos en el presente trabajo (4.87 ng/ml en ovejas fértiles y 5.55 ng/ml en ovejas sub-fértiles) es muy similar a los valores máximos encontrados por otros autores (Morgan *et al*, 1993; Okada *et al*, 2000; Uribe Velázquez *et al*, 2008; Baby y Bartlewski; 2011), que han variado entre 4.8 y 6.2 ng/ml.

Todo lo anterior sugiere que los problemas de fertilidad de las ovejas clasificadas como sub-fértiles en el presente trabajo no están relacionados con alteraciones en

su capacidad de secretar progesterona en forma normal, al menos durante los primeros 10 días del ciclo estral. Estos resultados son inesperados, ya que tanto en ganado bovino productor de carne (Henricks *et al*, 1971) como en ganado bovino lechero (Lukaszewska y Hansel, 1980; Mann y Lamming, 2001; Butler *et al*, 1996) se ha encontrado que en los animales sub-fértiles las concentraciones de progesterona se elevan más lentamente y alcanzan concentraciones menores que en los animales fértiles. También en el ganado bovino se ha encontrado que la administración de progesterona mejora la fertilidad de animales sub-fértiles si los tratamientos se inician antes del día 6 post-ovulación (Mann y Lamming, 1999).

Los efectos de las concentraciones de progesterona sobre la fertilidad del bovino se han explicado a través de sus efectos sobre el desarrollo embrionario y la producción de IFN-t. Así, se sabe que en las vacas en las que las concentraciones de progesterona se elevan más rápidamente después de la ovulación los embriones se desarrollan más rápidamente y comienzan a secretar antes IFN-t (Mann y Lamming, 2001), y que estos eventos se pueden adelantar mediante la administración exógena de progesterona (Garret *et al*, 1988), sobre todo si la progesterona se comienza a administrar antes del día 6 (Mann *et al*, 2006).

En el ovino también existe una relación positiva entre el desarrollo embrionario y las concentraciones de progesterona durante los primeros días post-ovulación. Así, Nephew *et al* (1991) demostraron que en las ovejas en las que en forma natural las concentraciones de progesterona se elevan más rápidamente después de la ovulación sus embriones se desarrollan más rápidamente y producen antes

IFNT. También se ha demostrado en la oveja que la administración de progesterona exógena a partir del primer día post-ovulación acelera el desarrollo embrionario y la producción de IFN-t (Satterfield *et al*, 2006), lo que resulta en una mayor activación de algunos genes dependientes de IFNT y/o progesterona que pueden ser importantes para el desarrollo del embrión y la implantación (Satterfield *et al*, 2006; Spencer *et al*, 2008; Bazer *et al*, 2008; Ahn *et al*, 2009; Simmons *et al*, 2010). Todo lo anterior sugeriría que las ovejas fértiles deberían tener mayores concentraciones de progesterona que las ovejas sub-fértiles, lo cual no concuerda con lo encontrado en el presente trabajo. Una posible explicación es que en la oveja el inicio de la luteólisis ocurre antes, entre más pronto se elevan las concentraciones de progesterona después de la ovulación (Ottobre *et al*, 1980; Nephew *et al*, 1991), por lo que el efecto positivo de una mayor concentración de progesterona sobre el desarrollo embrionario sería contrarrestado por un menor intervalo disponible para que el embrión señale su presencia a la madre.

No existe ninguna razón teórica para postular que las elevadas concentraciones de progesterona encontradas en las ovejas con historia previa de sub-fertilidad haya sido la causa de su sub-fertilidad, por lo que es posible que las concentraciones elevadas, más que una causa, sean una consecuencia de la sub-fertilidad de los animales. Se debe tomar en cuenta que las ovejas sub-fértiles empleadas en el presente trabajo no estuvieron sujetas al estrés metabólico asociado con la gestación, parto y lactación durante la temporada reproductiva anterior (Kleeman *et al*, 2006), por lo que tenían mejor condición corporal que las

ovejas del grupo fértil, que sí venían de haber gestado, parido y amamantado a sus corderos.

Se ha informado que las ovejas con mejor condición corporal tienen índices de ovulación mayores que los de ovejas en condición corporal más pobre (De la Isla-Herrera, 2010), lo que sugiere que al tener un mayor número promedio de cuerpos lúteos podrían también tener mayores concentraciones promedio de progesterona. En este sentido, se ha informado que las ovejas mantenidas en planos más elevados de nutrición tienen índices de ovulación mayores, así como concentraciones más elevadas de progesterona en el día 8 de la gestación que las ovejas mantenidas en planos de nutrición más bajos (Abecia *et al*, 1998). Adicionalmente, Meza-Herrera (*et al* 2007) encontraron que las ovejas con condición corporal alta (3.1 de 5) tuvieron concentraciones máximas de 6.31 ng/ml, mientras que las ovejas con una condición corporal baja (2.3 de 5) solamente alcanzaron concentraciones de 5.87 ng/ml.

CONCLUSIONES

La sub-fertilidad de las borregas utilizadas en este trabajo no fue causada por una menor capacidad de secretar progesterona. En contra de lo esperado, las borregas con historia previa de sub-fertilidad presentaron concentraciones más elevadas de progesterona desde el día 6.5 hasta el día 10 del ciclo estral que las ovejas que tenían historia de fertilidad normal. Por lo que es necesario seguir

investigando sobre los factores que afectan las concentraciones de progesterona en animales fértiles y sub-fértiles.

VI. LITERATURA CITADA

1. Ahn HW, Farmer JL, Bazer FW, y Spencer TE. 2009. Progesterone and interferon tau-regulated genes in the ovine uterine endometrium: identification of periostin as a potential mediator of conceptus elongation. *Reproduction* 138: 813 –825.
2. Abecia JA, Lozano JM, Forcada F, Zarazaga L. 1998. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 48(2): 219-218.
3. Baby TE y Bartlewski PM. 2011. Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reprod. Fertil. Dev.* 23: 303 - 310.
4. Baird TD. Luteotrophic control of the corpus luteum. 1992. *Anim. Reprod. Sci.* 28:95 - 102.
5. Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA. 2008. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: Interactions among novel cell signaling pathways. *Reproductive Biology.* 8(3) 179 - 211.
6. Beerda B, Wyszynska-Koko J, te Pas MFW, de Wit AAC, Veerkamp RF. 2008. Expression profiles of genes regulating dairy cow fertility: recent findings, ongoing activities and future possibilities. *Animal* 2(8), 1158 - 1167.

7. Butler WR, Calaman JJ y Beam SW. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 74: 858 – 865.
8. Chenault JR, Thatcher WW, Kalra PS, Abrams RM y Wilcox CJ. 1975. Transitory changes in plasma progestins, estradiol and luteinising hormone approaching ovulation in the bovine. *J. Dairy Sci.* 58: 709 – 717.
9. Demmers KJ, Derecka K, y Flint A. 2001. Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction*; 121: 41- 49.
10. De la Isla-Herrera G, Aké-López JR, Ayala-Burgos A, González-Bulnes A. 2010. Efecto de la condición corporal y la época del año sobre el ciclo estral, estro, desarrollo folicular y tasa ovulatoria en ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones de trópico. *Vet. Méx.* 41(3):167-175.
11. deNicolo G, Parkinson TJ, Kenyon PR, Morel PCH, Morris ST. 2009. Plasma progesterone concentration during early pregnancy in spring and autumn bred ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 111: 279 - 288.
12. Flint AP y Sheldrick EL. 1983. Evidence for a systemic role of ovarian oxytocin in luteal regression in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 67:215 - 225.
13. Flint AP, Leat WMF, Sheldrick EL, Stewart HJ. 1986. Stimulation of phosphoinositide hydrolysis by oxytocin and the mechanism by which oxytocin controls prostaglandin synthesis in the ovine endometrium. *J. Biochem.* 237: 797 – 805.

14. Flint AP, Sheldrick EL, McCann TJ, Jones DS. 1990. Luteal oxytocin: Characteristics and control of synchronous episodes of oxytocin and PGF2 alpha secretion at luteolysis in ruminants. *Domest. Anim. Endocrinol.* 7(2): 111 - 124.
15. Friggens NC, Disenhaus C, Petit HV. 2010. Nutritional sub-fertility in the dairy cow: towards improved reproductive management through a better biological understanding. *Animal* 4:7, 1197 - 1213.
16. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de geografía: Universidad Nacional Autónoma de México. 1973.
17. Garrett JE, Geisert RD, Zavy MT y Morgan GL. 1998. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fertil.* 84: 437 – 446.
18. Henricks DM, Lamond DR, Hill JR y Dickey JF. 1971. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifer. *J. Anim. Sci.* 33: 450 - 454.
19. Hernández Cerón J y Zarco QL. 1998. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia Veterinaria* 8:1-28.
20. Hernández Cerón J, Zarco QL, Lima-Tamayo V. 1993. Incidence of delayed ovulation in holstecin heifers and its effects on fertility and Early luteal funtion. *Theriogenology* 40: 1073 – 1081.

21. Kaneko H, Terada T, Watanabe G, Sasamoto S, Hasegawa Y y Igarashi M. 1991. Ovulatory follicle dynamics and the concentration of oestradiol 17 β , progesterone, luteinising hormone and follicle stimulating hormone during the periovulatory phase of the oestrous cycle in the cow. *Reprod. Fertil. Develop.* 3: 529 – 535
22. Kleemann DO, Grosser TI, Walker SK. 2006. Fertility in south Australian commercial merino flocks: Aspects of management. *Theriogenology* 65 : 1649 – 1665.
23. Lamming GE, Darwash AO y Back HL. 1989. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 37: 245 – 252.
24. Lukaszewska J and Hansel W. 1980. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 59: 485 – 493.
25. Mann GE and Lamming GE. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 34: 269 – 274.
26. Mann GE y Lamming GE. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction.* 121: 175 – 180.
27. Mann GE, Fray MD, Lamming GE. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. *Vet. Med.* 171(3): 500 - 503.

28. McCracken JA, Schramm W, Okulicz WC. 1984. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF₂α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 7(1-3): 31 - 55.
29. Meza-Herrera CA, Ross T, Hallford D, Hawkins D y Gonzalez-Bulnes A. 2007. Effects of body condition and protein supplementation on LH secretion and luteal function in sheep. *Reprod. Dom. Anim.* 42: 461 – 465.
30. Morales-Roura JS, Zarco L, Hernández Cerón J, y Rodríguez, G. 2001. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology.* 55:1831 - 1841.
31. Morgan GL, Geisert RD, McCann JP, Bazer FW, Ott TL, Mirando MA y Stewart M. 1993. Failure of luteolysis and extension of the interestrus interval in sheep treated with the progesterone antagonist mifepristone (RU 486). *J. Reprod. Fertil.* 98:451- 457.
32. Nephew KP, McClure KE, Ott T, Budois DH, Bazer FW y Pope WF. 1991. Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration in ewes. *Biol. Reprod.* 44: 536–539.
33. Okada A, Kamada S, Jeon CW, Miyamoto A, Fukui Y. 2000. Incidence of abnormal corpus luteum in superovulated ewes. *J. Reprod. Dev.* 46: 397- 402.

34. Ottobre JS, Lewis GS, Thayne WV y Inskeep EK. 1980. Mechanism by which progesterone shortens the estrous cycle of the ewe. *Biol. Reprod.* 23:1046-1053.
35. Roberts JS, McCracken JA, Gavagan JE, Soloff MF. 1976. Oxytocin-stimulated release of prostaglandin F₂ α from ovine endometrium *in vitro*: Correlation with estrous cycle and oxytocin-receptor binding. *Endocrinology* 99(4): 1107- 1114
36. Romano JE, Fernández AD, Villegas N. 2001. A note on the effect of continuous ram presence on estrus onset, estrus duration and ovulation time in estrus synchronized ewes. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 73 (3): 193-198.
37. Satterfield MC, Bazer FW, Spencer TE. 2006. Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Reproduction* 75(2): 289-296.
38. Sheldrick EL, Flint APF. 1985. Endocrine control of uterine oxytocin receptors in the ewe. *J. Endocrinol.* 106:249-258.
39. Sheldrick EL, Flint APF. 1986. Transient uterine refractoriness after oxytocin administration in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 77:523-529.
40. Simmons RM, Satterfield MC, Welsh TH, Bazer FW, Spencer TE. 2010. HSD11B1, HSD11B2, PTGS2, and NR3C1 expression in the peri-implantation ovine uterus: effects of pregnancy, progesterone, and interferon tau. *Biol. Reprod.* 82(1): 35 - 43.

41. Spencer TE y Bazer FW. 2002. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front. Biosci.* 7: 1879 - 1898.
42. Spencer TE, Sandra O, Wolf E. 2008. Genes involved in conceptus–endometrial interactions in ruminants: insights from reductionism and thoughts on holistic approaches. *Reproduction* 135:165 - 179.
43. Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J. Anim Sci.* 72(3) 16 – 30.
44. Uribe-Velásquez LF, Oba E, Souza M. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P₄) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Arch. Méd. Vet.* 40: 83 - 88.
45. Walker SK, Smith DB, Godfrey B, Seamark RF. 1989. Time of ovulation in the south Australian merino ewe following synchronization of estrus. *Theriogenology* 31(3): 545 – 553
46. Zarco L, Stabenfeldt GH, Kindahl H, Quirke JF y Granstrom E. 1984. Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 7: 245 -267.
47. Zarco L, Stabenfeldt GH, Quirke JF, Kindahl H. y Bradford GE. 1988a. Release of prostaglandin F₂ alfa and the timing of events associated with luteolysis in ewes with different oestrus cycle lengths. *J. Reprod. Fertil.* 83:517 - 526.

48. Zarco L, Stabenfeldt GH, Basu S, Bradford GE y Kindahl H. 1988b. Modification of prostaglandin F2 alfa synthesis and release in the ewe during the initial establishment of pregnancy. J. Reprod. Fertil. 83: 527 – 536