



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**INSEMINACIÓN INTRAUTERINA DE OVEJAS SINCRONIZADAS
CON MEDIA ESPONJA DE 20 mg DE FGA Y 200 UI DE eCG**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

VERDIGUEL FERNÁNDEZ LAZARO FELIPE

Asesor:

Dr. Vicente Octavio Mejía Villanueva



México, DF. 2009



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.

DEDICATORIAS

A MI MADRE EUGENIA FERNÁNDEZ GARCÍA Y A MI PADRE FELIPE VERDIGUEL PEDRAZA, POR SER EL MEJOR EJEMPLO A SEGUIR EN TODOS LOS APECTOS, POR SU CARIÑO Y APOYO INCONDICIONAL, YA QUE SIN SU AMOR, CONSEJOS Y ENSEÑANZAS, NO HUBIERA PODIDO CUMPLIR ESTA META Y RECIBIR LA MEJOR HERENCIA QUE LOS PADRES LE PUEDEN DAR A SUS HIJOS, UN TÍTULO PROFESIONAL.

AL Dr. ÁNGEL FERNÁNDEZ GARCÍA, A GRACIELA FERNÁNDEZ GARCÍA Y A FLOR FERNÁNDEZ GARCÍA POR QUERERME Y APOYARME EN TODO MOMENTO COMO A SU PROPIO HIJO.

A MI MUJER Y A MI HIJA MELISSA POR SER LA INSPIRACIÓN Y ELMOTIVO MÁS GRANDE EN LA VIDA PARA SALIR ADELANTE, POR SU AMOR Y COMPRESIÓN, QUE A PESAR DE LA LEJANÍA NUNCA ME DEJARON DE QUERER, QUE CUALQUIER PENSAMIENTO EN USTEDES, ME DABA FUERZA PARA SUPERAR TODO AQUELLO QUE PARECÍA IMPOSIBLE.

A MIS HERMANAS SELENE, MARILU Y GRACIELA, A MIS HERMANOS VICTOR, JUAN, EDER, CARLITOS, JULIO, RAFA Y JOSUE POR TODAS LAS VIVENCIAS Y TRAVESURAS QUE LLENARON DE ALEGRIA Y DE RECUERDOS INOLVIDABLES A MI VIDA Y SOBRE TODO POR ENSEÑARME QUE LA UNIÓN FAMILIAR NOS HA HECHO TODOS UNOS TRIUNFADORES.

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES POR HABERME DADO LA VIDA, POR AMARME Y RESPETARME, PERO SOBRE TODO POR CONFIAR SIEMPRE EN MÍ. POR TODO SU ESFUERZO PARA QUE NUNCA ME FALTARA NADA Y DARME UNA VIDA LLENA DE ALEGRÍA Y FELICIDAD.

A MI FAMILIA POR ESTAR SIEMPRE A MI LADO EN LOS MOMENTOS MÁS DIFÍCILES DE MI VIDA.

AL Dr. OCTAVIO MEJÍA POR TODO SU APOYO Y CONOCIMIENTOS BRINDADOS PARA QUE ESTE TRABAJO SE REALIZARA, POR TODO LO QUE ME ENSEÑO, POR ESOS REGAÑOS MERECIDOS QUE ME AYUDABAN A REFLEXIONAR Y A MADURAR UN POCO, SIMPLEMENTE ADEMÁS DE SER UN EXCELENTE MÉDICO LO CONSIDERO UN GRAN SER HUMANO.

A LOS MÉDICOS Y A LOS TRABAJADORES DEL CEIEPO QUE SIEMPRE ME AYUDARON A TODO LO QUE YO NESECITARA, POR ENSEÑARME TANTAS COSAS Y SOBRE TODO POR SER MIS AMIGOS.

A MIS COMPAÑEROS DEL SERVICIO SOCIAL POR BRINDARME SU AMISTAD Y COMPAÑÍA POR MÁS DE SEIS MESES Y AYUDARME CON MIS OBLIGACIONES EN EL RANCHO Y DE LA TESIS.

A MIS VERDADEROS AMIGOS QUE SABEN QUIENES SON, QUE LA VERDAD SON POCOS, PERO SIN DUDA ALGUNA, LOS MEJORES.

CONTENIDO

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	2
III.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
	3.1 Características reproductivas de las ovejas	5
	3.2 Ciclo estral	7
	3.2.1 Proestro.....	9
	3.2.2 Estro.....	10
	3.2.3 Metaestro.....	12
	3.2.4 Diestro	13
	3.2.5 Anestro estacional	14
	3.3 Manipulación del ciclo estral	15
	3.3.1 Sincronización del estro.....	15
	3.3.1.1 Métodos farmacológicos.....	16
	3.3.1.1.1 Progesterona.....	16
	3.3.1.1.2 Progestágenos.....	17
	3.3.1.1.2.1 Orales.....	18
	3.3.1.1.2.2 Subcutáneos.....	19
	3.3.1.1.2.3 Esponjas vaginales.....	19
	3.3.1.1.3 Prostaglandinas.....	21
	3.3.1.1.4 Melatonina	22
	3.4 Gonadotropina Coriónica Equina	23
	3.5 Inseminación artificial	24
	3.5.1 IA vaginal.....	25
	3.5.2 IA cervical.....	26
	3.5.3 IA transcervical.....	26
	3.5.4 IA intrauterina.....	27
	3.6 Manejo de semen	28
	3.6.1 Recolección.....	29
	3.6.2 Evaluación.....	32
	3.6.3 Dilución	36

3.7 Diagnóstico de gestación	37
3.7.1 Observación de no retorno a estro.....	39
3.7.2 Biopsia vaginal.....	39
3.7.3 Detección del pulso fetal Doppler.....	40
3.7.4 Radiografía.....	40
3.7.5 Palpación recto-abdominal.....	40
3.7.6 Medición de progesterona en plasma.....	40
3.7.7 Ultrasonido modo A.....	41
3.7.8 Ultrasonido de Tiempo Real.....	41
IV. OBJETIVO E HIPÓTESIS	45
V. MATERIAL Y MÉTODOS	46
VI. RESULTADOS	51
VII. DISCUSIÓN	54
VIII. CONCLUSIONES	58
IX. LITERATURA CITADA	59
GRÁFICAS	74

I. RESUMEN

Verdiguel Fernández Lázaro Felipe. Inseminación intrauterina de ovejas sincronizadas con media esponja de 20 mg de FGA y 200 UI de eCG. (Bajo la dirección de: Dr. Vicente Octavio Mejía Villanueva).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de media esponja vaginal de 20 mg impregnada con acetato de fluorogestona (FGA) en la sincronización del estro, así como evaluar sus efectos sobre la fertilidad en ovejas inseminadas intrauterinamente. El experimento se realizó en el mes de noviembre, en plena época reproductiva. Se utilizaron 51 borregas de la raza Suffolk divididas en dos grupos. El grupo 1 (n= 25) se sincronizó con una esponja completa de 20 mg de FGA, mientras que el grupo 2 (n=26) se sincronizó con media esponja. Las esponjas permanecieron 9 días y al momento del retiro se administraron 200 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) vía intramuscular. A las 24, 36 y 48 horas se detectó la conducta de receptividad sexual con un macho celador cubierto con un mandil. Las que presentaron celo entre las 24 y 36 horas después de haber sido retirado el progestágeno, fueron inseminadas con semen fresco a una dosis de 100×10^6 . Se compararon los porcentajes de la presentación del estro, su distribución a las 24, 36 y 48 horas, así como la fertilidad, mediante pruebas de Chi-cuadrada (SAS/SAT). Se obtuvo un 80.76% en la presentación de estro entre las 24 y 36 horas, 19.23% entre las 48 horas y un 61.9% de fertilidad en el grupo de media esponja; así como un 88% en la presentación de estro entre las 24 y 36 horas, 12% entre las 48 horas y 68.18% de fertilidad, en el grupo de esponja completa. No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) en las variables estudiadas. Se concluye que el reducir la dosis del progestágeno no interfiere con la presentación de los celos y no afecta la fertilidad.

II. INTRODUCCIÓN

La reproducción es un factor importante en producción animal, ya que ejerce influencia en su eficiencia.^{1, 2} Actualmente los productores de ovejas buscan métodos eficientes y de bajo costo, para incrementar la fertilidad y prolificidad en sus rebaños.³

Con base en los conocimientos endocrinos de la reproducción, existe la posibilidad de controlar el ciclo estral de la ovejas, por medio de su inducción o de su sincronización.⁴ La inducción de celos se lleva a cabo fuera de la época reproductiva, mientras que la sincronización se emplea en animales ciclando de manera natural, dentro de la época reproductiva.⁵ La sincronización implica la presentación simultánea del comportamiento estral en un grupo de borregas, para que reciban monta natural dirigida o sean inseminadas artificialmente.⁶

La inseminación artificial es un método de reproducción en el cual el semen de los machos es recolectado y depositado en el aparato reproductor de las hembras, por medios diferentes a la cópula, para producir la fertilización de los ovocitos maduros.⁷ El uso de la inseminación artificial puede acelerar el mejoramiento genético y favorecer la eficiencia reproductiva, ya que en general, facilita el transporte de material genético, permite establecer pruebas de progenie, evita la transmisión de enfermedades por contacto sexual directo, y permite la conservación prolongada del semen.^{6, 8, 9}

Para la sincronización del ciclo estral existen métodos farmacológicos como la administración de progesterona sintética.^{10, 11, 12} Así, el método más empleado en

México, han sido las esponjas vaginales impregnadas con acetato de fluorogestona (FGA).^{8, 13} El principio fisiológico en el cual se basan es la imitación y/o prolongación de la fase lútea y su capacidad para inhibir el pico preovulatorio de LH, bloqueando la ovulación hasta que se retira el tratamiento. El periodo de administración tiene generalmente la longitud suficiente para permitir que ocurra la lisis del cuerpo lúteo en forma natural, independientemente de la etapa del ciclo estral en la que la sincronización se lleve a cabo.^{5, 8} Por tanto, el tiempo en que se coloca la esponja de FGA en las ovejas es de 9 a 14 días, y se administra gonadotropina coriónica equina (eCG) en dosis de 200 a 450 UI ^{5, 14} por vía intramuscular, 48 horas antes del retiro de la esponja o al momento de retirarla, siendo lo más común lo último, ya que evita manejar nuevamente a los animales.^{15, 16} Cuando se retira el progestágeno se presenta crecimiento folicular, estrógeno y ovulación en la mayoría de las ovejas, aproximadamente 24 a 48 horas después.⁸ La eCG favorece la maduración final de los folículos preovulatorios, origina un pico elevado de estrógenos e induce la aparición del pico preovulatorio de LH y la consecuente ovulación, mejorando de esta forma la fertilidad del celo sincronizado.^{6, 11, 14}

En algunos trabajos sobre el uso de esponjas vaginales para la sincronización de ovejas, se observó que el número de hembras en celo y su fertilidad podían afectarse por la dosis del progestágeno; particularmente cuando las dosis variaban entre los 5, 10 y 20 mg, mientras que, no se encontraron diferencias con dosis entre los 20 y los 40 mg.^{17, 18} Por lo tanto, durante muchos años la mayoría de las esponjas vaginales comercializadas contuvieron 40 mg de FGA.

Trabajos recientes han mostrado que los tratamientos de sincronización con esponjas vaginales de 40 mg de FGA, con medias esponjas de 40 mg FGA o con esponjas de 20 mg de FGA, más la administración de 200 UI de eCG a su retiro, originan resultados aceptables en cuanto a la proporción de hembras en celo, desde un 80 hasta un 95%^{19, 20, 21}, y porcentajes de fertilidad que varían entre el 60 y el 90% cuando se inseminan intrauterinamente con semen fresco²⁰, y de alrededor del 50% cuando se usa semen congelado.²¹

Así, aprovechando que las esponjas que se comercializan actualmente en México garantizan una liberación controlada de los 20 mg de FGA que contienen,²² sería conveniente evaluar si una dosis de FGA menor a 20 mg, empleando esponjas cortadas a la mitad (medias esponjas), acompañadas de una dosis de 200 UI eCG, afecta la presentación del estro y la fertilidad de ovejas inseminadas intrauterinamente con semen fresco.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS DE LAS OVEJAS

La borrega se clasifica como un animal poliéstrico estacional, esto quiere decir que durante el año tienen una época de descanso sexual o anestro, y una temporada en la cual se reproducen y presentan periódicamente receptividad sexual o estro conductual. En general, la actividad cíclica de la oveja aparece a finales de verano o al inicio del otoño y finaliza durante el invierno o al inicio de la primavera, tomando en cuenta que esta regla no se aplica para todas las razas ya que hay variaciones entre ellas, por lo que afecta directamente a la producción, lográndose por lo general una sola gestación al año.^{5, 18, 23, 24}

Esta estacionalidad está regida por el fotoperiodo, por lo que la actividad estral comienza durante la época en que los días tienen menos horas luz. El fotoperiodo es el factor principal del medio ambiente que los ovinos utilizan para sincronizar su ritmo biológico endógeno en el año.^{8, 23, 25} No obstante, existen otros factores como la disponibilidad de alimento, la temperatura, o diferentes interacciones sociales, que desempeñan un papel secundario como moduladores de la actividad reproductiva.²⁵

Siendo la hormona melatonina el traductor químico de las variaciones en el fotoperiodo, los cambios en su secreción afectan la actividad sexual en las ovejas. La melatonina es una hormona procedente de la glándula pineal, cuya secreción es modulada por el ciclo luz-oscuridad. Se activa el sistema al pasar de días más largos a días más cortos.²⁶ El núcleo supraquiasmático recibe el estímulo desde la retina (tracto retinohipotalámico), durante las horas de oscuridad, y éste a su vez manda un estímulo al ganglio cervical superior y a la glándula pineal para que secrete melatonina. La acción final de la melatonina es el control de la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), hormona que modula la sensibilidad hipotalámica a los esteroides gonadales. El hipotálamo secreta como respuesta los factores de liberación de la hormona GnRH, y como consecuencia empieza la actividad ovárica.^{27, 28, 29, 30}

Cabe mencionar que los cambios en el fotoperiodo son más acentuados en los sitios mas alejados al ecuador, donde las ovejas pueden mostrar claramente periodos de anestro estacional.⁵

Debido a que la estacionalidad no se ve reflejada de la misma manera en todas las razas, se pueden agrupar de la siguiente manera:

- Razas con época de aparcamiento corta y anestro largo y profundo, consideradas como ovejas estacionales, son originarias de zonas localizadas encima de 45 ° latitud norte y latitud sur, como las razas inglesas y escocesas. Siendo la raza Suffolk un ejemplo de esta clasificación.
- Razas con época de aparcamiento larga y anestro corto y poco profundo, consideradas como ovejas no estacionales, provienen de latitudes menores de los 45 ° latitud norte, como las razas mediterráneas y las españolas.^{5, 8, 9, 31}

Algunos autores mencionan que en latitudes superiores a los 35 ° es donde se presenta un estacionalidad reproductiva diferencial en las ovejas, siendo más restringida para las de cara negra que para las de cara clara.⁹

En México (19 ° latitud norte) existen estudios que demuestran que la actividad reproductiva anual de diversas razas (Corriedale, Suffolk y Dorset) decrece durante la primavera, en cambio la oveja criolla y la Pelibuey pueden presentar ciclos estrales prácticamente durante todo el año, debido a su origen y localización geográfica.^{5, 9} Sin embargo, aún aquellas ovejas que presentan la capacidad para ciclar continuamente durante un largo periodo, que en ocasiones es mayor a un año completo, en algún momento entrarán en un periodo de anestro.⁵

En las zonas tropicales donde la amplitud en las variaciones del fotoperiodo es menor, las ovejas tienden a reproducirse todo el año, como la raza Pelibuey; entonces cuando una raza de clima templado se introduce en el trópico pierden gradualmente su estacionalidad y siguen los patrones reproductivos del nuevo ambiente. Sin embargo, en el trópico una temperatura elevada y una deficiencia

en el consumo del alimento, pueden ocasionar una disminución en la actividad sexual durante algunos meses del año.⁹

Por lo tanto, la estacionalidad reproductiva tiene como finalidad garantizar que los nacimientos ocurran en la época del año más favorable para las crías, cuando la disponibilidad de alimentos y la temperatura ambiental son óptimas para la especie, que se supone que es en primavera y verano.^{5, 9, 27}

3.2 CICLO ESTRAL

El ciclo estral puede definirse como un conjunto de eventos endocrinos y conductuales recurrentes, que tiene la finalidad que ocurra la ovulación, el apareamiento y la gestación.^{5,25} Este inicia cuando la oveja presenta receptibilidad sexual o estro y concluye con el siguiente estro, con una duración promedio de 17 días.⁵ El estro dura entre 24 y 48 horas, y la ovulación se presenta entre 24 y 30 horas posteriores al inicio del estro.^{5, 8, 9, 23, 32}

Se pueden presentar variaciones en la duración del ciclo estral, el factor más importante es la edad, ya que las corderas presentan ciclos más cortos que las ovejas adultas. También existen razas que presentan ciclos más largos, aunque las diferencias son relativamente pequeñas (± 1 día). Igualmente pueden presentarse ciclos estrales de menor duración en el primer ciclo estral durante la pubertad, después del parto o al inicio de la época reproductiva.³

En la oveja el comienzo y duración de la actividad gonadal cíclica está controlada por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada. La actividad de este eje, además de ser regulado por un mecanismo de retroalimentación proveniente de los ovarios, es influenciado por factores externos muy importantes como el fotoperiodo, la nutrición, raza y latitud en la cual se encuentra el rebaño.³³

El ciclo estral se puede dividir en dos grandes etapas, la fase folicular y la fase lútea. El hipotálamo produce la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que estimula la secreción de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona folículo estimulante (FSH) por parte de la hipófisis anterior. La FSH y la LH tienen como

órgano blanco al ovario. Estas hormonas controlan el crecimiento de estructuras ováricas; la FSH regula el desarrollo de los folículos ováricos en la fase folicular y la LH controla la maduración del folículo y el ovocito, provocando la ovulación. Se ha observado una secreción pulsátil de 1 pulso de LH, cada 1 a 2 horas en la fase folicular, y otra mayor caracterizada por un pico de LH que ocurre 24-36 horas antes de la ovulación, durante el estro. ³⁴

Los niveles de estrógeno plasmático aumentan rápidamente durante el proestro alcanzando su máximo nivel algunas horas antes del momento del estro, al mismo tiempo los estrógenos ejercen una retroalimentación positiva para aumentar la liberación de LH. En la fase lútea los estrógenos declinan rápidamente hasta niveles no detectables a las 24 horas posteriores al estro. Además, los niveles de progesterona se elevan rápidamente y si no hay fecundación, ocurre la regresión lútea a fines del diestro en el día 13 del ciclo estral, disminuyendo también rápidamente las concentraciones de progesterona plasmática. ³⁵

Por lo tanto, para su estudio el ciclo estral se ha dividido en cuatro etapas: proestro, estro, metaestro y diestro, representados en la figura 1.

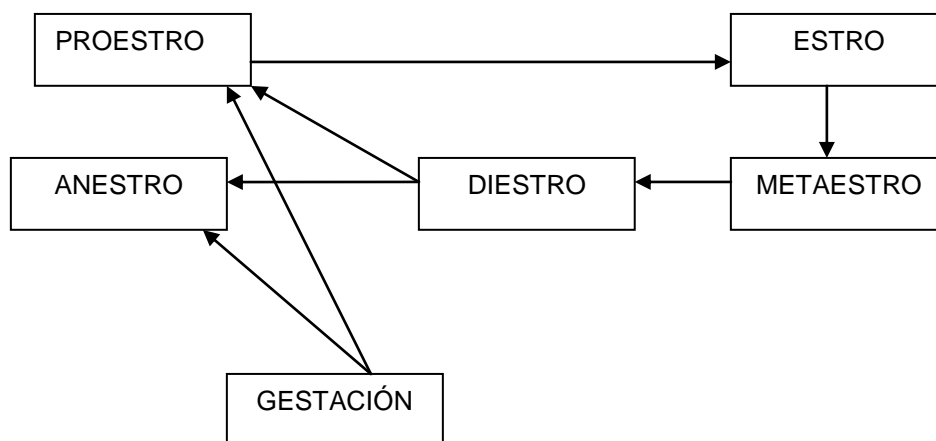


Figura 1. El ciclo estral de las ovejas y sus alternativas. (Adaptado de McDonald I. Endocrinología y Reproducción Veterinaria. México: McGraw-Hill, 1991.)

3.2.1 PROESTRO

Esta fase dura en promedio de 2 a 3 días e inicia cuando hay regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior, lo que conlleva a la disminución de la progesterona (P_4) a menos de 1ng/ml y al incremento en la secreción de estrógenos (E_2) e inhibina secretados por los folículos.^{8, 9, 29} Este incremento favorece a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), debido a que hay un aumento de receptores.³⁶

El desarrollo folicular es un proceso continuo, en el cual los folículos primarios se desarrollan a diario y casi cada hora. Sólo pocos de ellos llegan a convertirse en folículos preovulatorios (de Graff) y ovulan, ya que la mayor parte de los folículos sufren atresia.⁸

Se conoce ahora que la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) es constante y no está regulada por la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), si no por el estradiol y la inhibina folicular.³⁴

La hipófisis libera a la hormona folículo estimulante, que es la encargada del activar el crecimiento temprano de los folículos y a la hormona luteinizante (LH) la cual es necesaria para completar las últimas fases del crecimiento.^{5, 8} Al inicio del proestro las concentraciones de FSH son bajas y las de la hormona luteinizante (LH) por efecto del estradiol, han comenzado a incrementar la frecuencia de secreción. El estradiol estimula la formación de receptores para GnRH en hipófisis y la secreción de GnRH por el hipotálamo, acelerando la secreción pulsátil de LH.

5

Inicialmente la FSH estimula el crecimiento de las células de la granulosa y la actividad de la aromatasa, de forma que se incrementa la síntesis de estrógenos a partir de los andrógenos. La intensificación de los estrógenos induce entonces el aumento de sus propios receptores, así como los recetores para FSH. Esto sensibiliza a las células de la granulosa frente ambas hormonas, produciendo un crecimiento folicular aún mayor y un nuevo impulso para la producción de estrógenos e inhibina.³⁷

El incremento de estrógenos prepara el aparato reproductor de la oveja para su apareamiento, el útero crece de tamaño y se edematiza. En la vagina, el número de capas celulares se aumentan y las capas superficiales se vuelven más cornificadas.⁹ El final del proestro coincide con el inicio de la receptibilidad sexual.⁸

3.2.2 ESTRO

En esta fase la hembra tiene un comportamiento de actividad sexual, además solo en esta etapa aceptará al macho (receptividad). La duración del estro en la mayoría de las ovejas varía de 24 a 36 horas, aunque en algunas puede durar hasta las 48 horas. Estas variaciones se deben a factores como la edad, raza, contacto con los machos y situación geográfica, etc.²⁵

En esta etapa los folículos en desarrollo alcanzan su madurez y tamaño preovulatorio, llegando a las máximas concentraciones de estrógenos, provocando un aumento en la frecuencia de pulsos de GnRH/LH, estimulando la liberación de la oleada preovulatoria de LH (retroalimentación positiva), que produce cambios en la pared del folículo que llevan a su ruptura y a la liberación del óvulo, proceso conocido como ovulación.^{5, 38}

En un estudio realizado durante la época reproductiva en Francia, observaron que la GnRH está involucrada en el control de la receptividad sexual, y que esta hormona y los estrógenos, actúan de manera secuencial para permitir la expresión del estro. La actividad de la GnRH se prolonga durante la fase folicular del ciclo estral; el propósito de esta función es mantener la receptividad sexual hasta la ovulación, ocurriendo después del efecto inicial de los estrógenos.³⁹

Los signos del estro son poco notorios en la oveja y difíciles de observar en ausencia del macho. Sin embargo, la vulva se observa edematosa y con una secreción de moco por la vagina.⁹ El tipo y la consistencia del moco cambia a lo largo del ciclo estral, siendo al inicio del estro escaso y claro, después de 12-18 horas de transcurrido es opaco, y a partir de las 25-30 horas se hace más espeso y de consistencia cremosa.^{5, 8} Conductualmente la oveja presenta una búsqueda intensa del macho y frotamiento continuo con el mismo. Durante el estro la hembra

se muestra inquieta, aunque en esta especie no es frecuente la conducta homosexual. En presencia del macho, la hembra permanece inmóvil, orina mientras el macho le olfatea los genitales y la toca con los miembros anteriores, tratando de investigar si la hembra es receptiva. Por lo tanto, el único signo seguro de que se encuentre en estro es el “reflejo de quietud”, es decir, la hembra acepta y está quieta cuando un macho la monta.^{5, 8, 9,24}

En las ovejas es durante el estro cuando ocurre la ovulación, la cual podría definirse como la liberación del ovocito debido a la ruptura del folículo maduro o folículo de Graff.²⁹ Las borregas presentan ovulación espontánea, es decir, que se presenta independientemente de si tienen o no contacto con un macho, entre las 24 horas y las 30 horas después de haberse iniciado el estro (figura 2).

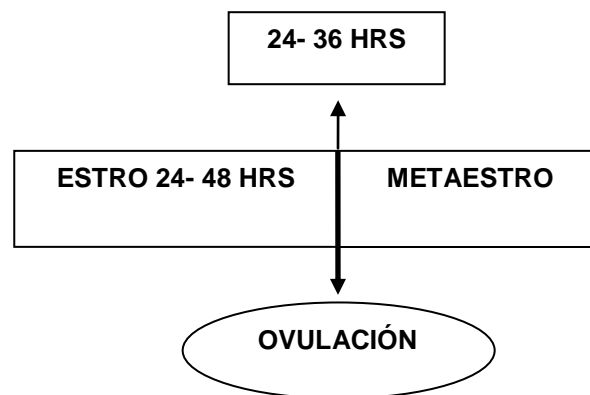


Figura 2. Relación entre estro y ovulación (Tomado de Galina C, Valencia J: Reproducción de animales domésticos, segunda Edición. México Ed. Limusa 2006.)

La tasa de ovulación está determinada por el número de folículos que pueden llegar al estadio de preovulatorios. También puede ser influenciada por la edad, ya que se ha visto que conforme la hembra incrementa su edad es mayor la tasa ovulatoria, presentando su máximo potencial a una edad de 3 a 5 años. Entre los factores ambientales que influyen en la tasa ovulatoria se encuentra la época del año y la nutrición. En general, las tasas de ovulación son más altas al principio de la temporada reproductiva, pero factores como la condición corporal, el peso y la raza, también pueden contribuir a dicho incremento.^{5, 8}

El desarrollo de los folículos que crecen desde los 3 hasta los 5 mm ocurre en ondas u oleadas cada 4-6 días, que culminan con la maduración del folículo. La primera onda puede iniciar en el día en que ocurre la ovulación con la emergencia de un grupo de folículos antrales.⁴⁰ Un rango de 2 a 5 ondas foliculares ocurren en cada ciclo interovulatorio, pero el patrón predominante es de tres ondas, una durante la fase folicular y dos durante la fase lútea.³⁷ La fluctuación de la concentración sérica de FSH están íntimamente asociadas con la aparición de las ondas foliculares.⁴¹

3.2.3 METAESTRO

El metaestro inicia al terminar la receptibilidad sexual de la oveja y concluye en el momento en que hay un cuerpo lúteo bien establecido, y dura en promedio 3 días.^{5, 8}

En esta etapa hay un incremento de la LH en las células de la granulosa, lo que permite el inicio del proceso de luteinización folicular, provoca una disminución en la secreción de estrógenos e inhibina y un aumento en la producción de progesterona.⁸

El cuerpo lúteo inicia su proceso de formación después de que la pared del folículo se rompe y se pliega a consecuencia de la ovulación. La ruptura del folículo provoca una degradación de los tejidos que rodean a las células de la granulosa, particularmente los de la membrana propia y a la liberación de la sangre de los vasos de la teca en el interior de la cavidad, formando el cuerpo hemorrágico.^{5, 8,9} Transcurridos 4-5 días, las células de la granulosa y de la teca inician su luteinización y diferenciación en células esteroideogénicas lúteas grandes y chicas formando el cuerpo lúteo, cuya principal función es la secreción de progesterona, que prepara al útero para el inicio y mantenimiento de la gestación.⁴² Las células lúteas grandes liberan oxitocina y progesterona basal en forma continua, pero la secreción de progesterona mediada por LH es baja; por el contrario las células lúteas chicas no producen oxitocina y la progesterona basal que producen es muy

poca, siendo sin embargo las encargadas de producir la progesterona mediada por LH.⁵

En sí el metaestro es definido como el periodo de etapa de formación del cuerpo lúteo.^{5, 9,29}

3.2.4 DIESTRO

Es la fase del ciclo estral que tiene mayor duración, entre 9-12 días promedio, y se caracteriza por la plena funcionalidad del cuerpo lúteo, y termina con la destrucción del mismo.^{5, 8,9}

Al formarse el cuerpo lúteo, la progesterona alcanza sus máximas concentraciones, por lo que ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de LH, debido a que inhibe la formación de receptores hipofisarios a GnRH, así como la secreción de la misma. Adicionalmente, se observan repetidos incrementos en la secreción de FSH con el consecuente aumento en el desarrollo folicular y las concentraciones plasmáticas de estradiol e inhibina. Sin embargo estos folículos no pueden seguir su maduración y sufren regresión.^{5, 9,29}

Durante el diestro, en los días 6 y 11 después de la ovulación, surgen la segunda y la tercera oleada folicular, respectivamente. El papel fisiológico de los folículos dominantes no ovulatorios en la fase lútea en el ciclo estral son inciertos. Sin embargo, se ha observado que la concentración de la progesterona circulante juega un rol importante en el desarrollo de las ondas foliculares.⁴³

La progesterona es una hormona esteroidal, que estimula la actividad secretora del endometrio con la finalidad de albergar una posible gestación; adicionalmente, el cérvix se cierra y se reduce la secreción del moco cervical y vaginal, el cual adopta una apariencia pegajosa y opaca para impedir el paso de microorganismos al útero.^{5, 29}

Al término del diestro y al no llevarse a cabo la fertilización, la disminución de la progesterona circulante favorece la secreción tónica de LH, que a su vez estimula la síntesis de estrógenos. Por lo que los estrógenos sensibilizan al endometrio

para que forme receptores de oxitocina, producida por las células del cuerpo lúteo y junto a la almacenada en la hipófisis (de origen hipotalámico) interactúan con sus receptores recién sintetizados. En ese momento se inicia un mecanismo de retroalimentación positiva para la secreción de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) por parte de las células del endometrio uterino.^{5, 9,29}

Entonces por la influencia de la progesterona y los estrógenos, el tejido uterino producirá $PGF_{2\alpha}$ que en suficiente cantidad y tiempo, provocan la regresión del cuerpo lúteo en un proceso conocido como luteólisis.^{5, 9,44}

Es necesario que existan embriones viables en el útero para proveer señales luteotrópicas, no más tarde del día 13 del diestro, de lo contrario, hay regresión del cuerpo lúteo por efecto de la $PGF_{2\alpha}$ y la oveja empieza un nuevo ciclo estral.^{5, 9,23}

3.2.5 ANESTRO ESTACIONAL

Es el periodo de inactividad sexual donde hay ausencia de ovulación y manifestaciones de estro, aunque siga habiendo actividad hormonal y desarrollo folicular, el estímulo es insuficiente para que ocurra la maduración folicular.³¹

Durante este periodo, la hipófisis limita la secreción de gonadotropinas (FSH y LH) lo que a nivel ovárico se transforma en un limitado desarrollo folicular, además se establece un patrón de retroalimentación negativa, lo cual ocasiona que el hipotálamo inhiba la secreción del factor liberador de gonadotropinas (GnRH).^{45, 46} De esta manera, los mecanismos de retroalimentación positiva del estradiol sobre la liberación preovulatoria de LH no funcionan durante esta etapa.⁴⁷

Las ovejas en anestro tienen sus ovarios más pequeños que en la época reproductiva normal, debido a la ausencia del cuerpo lúteo y a la falta de maduración folicular. La cantidad de gonadotropinas en la hipófisis de las hembras en anestro, es similar a la presentada durante la estación reproductiva, pero los niveles de FSH y LH plasmáticos están disminuidos al compararlos con las concentraciones plasmáticas de la fase lútea del ciclo estral. La descarga de LH durante el anestro muestra una disminución en la frecuencia de sus pulsos (1

pulso cada 10-12 horas), la cual va aumentando a medida que se acerca la estación reproductiva, pudiendo existir ovulaciones silenciosas espontáneas frente a estímulos como la presencia de machos, siempre y cuando esté cerca la época reproductiva. Esta capacidad de síntesis hormonal a nivel de la hipófisis y del ovario, durante el período de anestro, indica que existe una capacidad potencial de mayor actividad, con lo cual se podría inducir la ovulación mediante la manipulación del sistema endocrino a través de la aplicación de hormonas exógenas.⁴⁸

3.3 MANIPULACIÓN DEL CICLO ESTRAL

Los avances acontecidos en las últimas décadas en cuanto al conocimiento de la fisiología y la endocrinología de la reproducción, han permitido el diseño de un conjunto de técnicas para el control de ciclo estral, que tiene como finalidad incrementar la productividad numérica obtenida por oveja y año, a través de la mejora de la fertilidad y prolificidad, cualquiera que sea la época de cubrición.³

Dichas técnicas son la inducción y la sincronización del ciclo estral, independientemente cual sea, es recomendable que el rebaño esté sometido a un programa de alimentación y sanidad adecuado.^{3, 5}

3.3.1 SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO

La sincronización de estros se lleva a cabo cuando las ovejas están ciclando es decir en época reproductiva. Consiste en controlar el ciclo estral de un grupo de hembras, a pesar de la etapa del ciclo estral que se encuentren (proestro, estro, metaestro o diestro), con la finalidad de que presenten receptividad sexual en forma simultánea, horas después de retirar el tratamiento.^{5, 23, 29, 44, 49, 50, 51}

Sus principales ventajas son la reducción del tiempo dedicado a la detección de celos, la simplificación del manejo general del rebaño al agrupar las labores rutinarias, tales como servicios, atención de partos, vacunaciones y destetes; además de facilitar la comercialización, al poder concentrar o dispersar los partos

de acuerdo al momento más adecuado para la producción de corderos, o en su caso, de leche. También, facilita la selección y el mejoramiento genético del rebaño, por medio de la realización de programas de inseminación artificial o de transferencia de embriones.^{3, 23, 32, 51, 52}

Debido a que el cuerpo lúteo es la estructura que regula la duración del ciclo estral, se han ideado métodos para manipular el ciclo y sincronizar los celos, basados en imitar la función lútea o que se basan en destruir al cuerpo lúteo.^{5, 8, 9,}

⁵¹ Por lo tanto, hay diferentes métodos farmacológicos, que de acuerdo a su principio biológico se dividen en dos: el método de la progesterona natural o sintética (progestágenos) y el método de las prostaglandinas.^{9, 53}

3.3.1.1 MÉTODOS FARMACOLÓGICOS

El método basado en la administración de progesterona natural o sintética (progestágenos) tiene la finalidad de simular la acción de un cuerpo lúteo natural, y el otro método se basa en la administración de prostaglandinas o sus análogos con la finalidad de destruir el cuerpo lúteo. Debido a que el método de prostaglandinas depende de la presencia de un cuerpo lúteo, sólo se puede utilizar en época reproductiva. En cambio, el método de progestágenos o progesterona natural se puede utilizar en cualquier época, incluyendo la época de inactividad sexual conocida como anestro.^{5, 8,9} A este manejo se le conoce como inducción del estro, donde se activa la función hipofisaria fuera de la época reproductiva, reduciendo por lo tanto los periodos de inactividad sexual.⁵⁴

La elección del método para la sincronización de la actividad ovárica depende de las características de cada producción, tomando en cuenta factores como: disponibilidad y calidad del alimento, número de los animales, tipo de producción, necesidades del mercado, etc.⁵⁵

3.3.1.1.1 PROGESTERONA

El tratamiento con progesterona natural (P_4) es conocido hace más de 50 años para la sincronización de los estros o celos, en los pequeños rumiantes.²⁵

Esta hormona actúa de la misma manera que un cuerpo lúteo, esto permite la simulación de una fase lútea natural, ya que actúan a nivel del eje hipotálamico-hipofisiario de la misma manera que un cuerpo lúteo funcional, ejerciendo un efecto de retroalimentación negativa, de tal manera que se disminuye la frecuencia de los pulsos de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), y por lo tanto, evita que los folículos ováricos lleguen a la etapa final de su desarrollo y a la ovulación, por la falta, principalmente, de la hormona luteinizante (LH).^{5,8,23,29, 56}

Al retirar el tratamiento, los niveles de la progesterona disminuyen rápidamente en el torrente sanguíneo, con lo que se reinicia la secreción de gonadotropinas por parte de la hipófisis, estimulándose el desarrollo folicular y enseguida la ovulación.^{5, 8,56, 57}

La progesterona natural en las ovejas es generalmente administrada vía vaginal, mediante dispositivos de liberación controlada (CIDR), que contienen el 12% de progesterona impregnada en un elastómero de silicón con 300 mg de progesterona. Por lo general este dispositivo se aplica en ovejas durante 9 a 14 días.^{5, 9, 44}

3.3.1.1.2 PROGESTÁGENOS

Son un grupo de hormonas esteroides, que pueden obtenerse por vía natural o sintética. Su principio activo es igual que la progesterona, explicado en el punto anterior. Los progestágenos se caracterizan por ser liposolubles, termoestables y además no se inactivan en el tracto digestivo, por lo que permiten ser administrados por diferentes vías.^{8, 23}

Los progestágenos, por lo general se aplican por periodos similares a la duración del diestro, es decir, como mínimo durante 9 días y como máximo durante 12 días. Estos inhiben, por un lado, el desarrollo folicular y la ovulación durante el periodo en que dura su administración y por el otro, permiten que durante el periodo de tratamiento ocurra la lisis natural del cuerpo lúteo, logrando que al término de éste no existan folículos grandes ni progesterona de origen lúteo, por lo que a su retiro

iniciará el proestro y alrededor de 24 a 48 horas después, el celo sincronizado.^{5, 8, 9, 51}

En estudios recientes se considera que el uso de progestágenos por más de 14 días resulta en una reducción de la fertilidad, la cual puede ser causada por problemas en la liberación del fármaco, además de verse modificado el ambiente uterino, con lo que se altera el transporte de los espermatozoides y su supervivencia.^{14, 23} Esta situación obligó a buscar alternativas para acortar el periodo de tratamiento y en combinación con agentes luteolíticos, debido a la posibilidad de que al momento de suspender el progestágeno no hubiera ocurrido la luteólisis natural.^{58, 59}

Las vías de aplicación de los progestágenos son orales, subcutáneas y vaginales, siendo los dispositivos intravaginales los más utilizados.^{60, 61, 62}

3.3.1.1.2.1 ORALES

En las ovejas algunos análogos de la progesterona son utilizados por vía oral para la sincronización de los estros.^{9, 5, 62} Pincus y Merrill, señalan que los 19-noresteroides y los derivados de la 17-hidroxiprogesterona son los progestágenos más activos, es decir, el acetato de melengestrol (MGA), el acetato de clormadinona (CAP) y el acetato de medroxiprogesterona (MAP).⁶³ El utilizar los progestágenos mezclados en el alimento simplifica su administración a grupos grandes de animales.^{32, 52} El inconveniente que existe en la administración por la vía oral es que el consumo individual de alimento y por lo tanto del progestágeno, no es homogéneo en el grupo, lo que origina que una vez que se ha suprimido su administración en la dieta, el progestágeno puede tardar en metabolizarse y continuar absorbiéndose, mientras esté presente en el tracto gastrointestinal y por tanto, circular por el torrente sanguíneo un mayor número de días. Por tal motivo, la respuesta a la sincronización del estro es generalmente menos uniforme.³² El MGA se administra mezclado en el alimento a razón de 0.11-0.22 mg/día durante 9 a 14 días.⁵

3.3.1.1.2.2 SUBCUTÁNEOS

Los implantes subcutáneos se usan con mucha mayor frecuencia en los bovinos, colocándolos debajo de la piel de las orejas, por medio de una pistola o aplicador con una aguja aguda, siendo el principio activo el norgestomet. Es un método efectivo, cuyo inconveniente principal es que para retirar los implantes una vez que finaliza el tratamiento, es necesario realizar una pequeña incisión, lo que incrementa el manejo y el estrés al animal.^{8, 64}

3.3.1.1.2.3 ESPONJAS VAGINALES

El método más común de administración de los progestágenos en los pequeños ruminantes es a través de esponjas vaginales.⁶⁵ Lo anterior se justifica por la efectividad del tratamiento, debida a la tasa adecuada de absorción del fármaco a través de la pared vaginal; su capacidad de inducir o sincronizar la ovulación, aún en hembras primíparas, así como su facilidad de manejo, ya que su aplicación no requiere de personal altamente capacitado.^{3, 12, 23, 44, 62}

Otra ventaja es que las esponjas vaginales permiten que el progestágeno se mantenga en niveles circulantes óptimos y constantes durante varios días, sin requerir manejo diario de los animales.^{66, 67, 68} Las esponjas vaginales están impregnadas con MAP y FGA. Crosby (1991) menciona que 60 mg de MAP puede tener resultados comparables a aquellos obtenidos con 30 mg de FGA, cuando se utilizan en la época reproductiva y con monta natural en el servicio.^{14, 32, 44, 69, 70, 71, 72}

En algunos trabajos se demuestra que el FGA tiene 25 veces mayor potencia, en comparación con la progesterona, para la inhibición de la ovulación, concluyendo que el rango de absorción del FGA proveniente de la esponja está relacionado con los niveles de las dosis y el método con el cual es impregnado.^{69, 73}

En sus comienzos, se propuso que la duración del tratamiento con progestágenos debería ser igual o superior a la vida del cuerpo lúteo.⁸ Así, algunos trabajos indicaron la presentación de un efecto adverso cuando eran administrados por

periodos largos, en los cuales se lograba una adecuada sincronización de estros y de ovulaciones, pero con una disminución significativa de la fertilidad, por lo que en algunas ocasiones se dejaba pasar el estro sincronizado, para dar monta dirigida o inseminar artificialmente en el siguiente estro, ya que la receptividad sexual continuaba presentándose en forma sincronizada, pero la fertilidad no se modificaba.^{57, 64} Se consideró que la disminución de la fertilidad era ocasionada principalmente por la alteración de la motilidad espermática en el útero.^{74, 75} Sin embargo, el laboratorio que fabrica las esponjas sigue recomendando su uso rutinario por periodos de 9 a 14 días, siendo este número de 14 días, un periodo similar o mayor al que normalmente dura la fase lútea en las ovejas.^{5, 8} En México, de forma comercial se han vendido principalmente esponjas con 40 y 45 mg de FGA, siendo aún más fáciles de adquirir las de 40 mg. Recientemente se introdujo a nuestro país una nueva esponja vaginal, que contiene únicamente 20 mg de acetato de fluorogestona.⁸

El laboratorio Intervet hizo una revisión de los límites máximos de residuos para progestágenos, y desarrolló un dispositivo intravaginal con 20 mg de FGA con liberación controlada, de uso tanto en ovejas adultas como en corderas, indistintamente de la época de estación sexual o anestro, para cualquier raza y sistema productivo.⁷⁶ Estas esponjas están elaboradas de poliuretano de 3.2 cm de diámetro por 2.5 cm de alto, que llevan incorporado un cordón de algodón insertado a la esponja, para facilitar su retiro.

Se menciona que mientras mayor sea la potencia del esteroide, menor será la dosis empleada para inhibir la liberación de las gonadotropinas, y como consecuencia, más rápida será su eliminación después del tratamiento.⁷⁷ Robinson fue quien propuso su administración por vía vaginal.⁷⁸

Romano observó que el uso del CIDR, MAP y FGA son igual de eficientes para la presentación de celos, con fertilidad similar entre tratamientos, siendo el FGA, el que tiene una duración de estro más prolongado y que se presenta con anterioridad. El intervalo promedio desde el final del tratamiento a la ovulación,

con el uso de esponjas vaginales impregnadas con FGA es de 60 horas promedio.⁷⁷

3.3.1.1.3 PROSTAGLANDINAS

La administración exógena de la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) en las ovejas, se emplea únicamente para la sincronización del ciclo estral, ya que acorta la vida media del cuerpo lúteo provocando su lisis, por lo cual no puede utilizarse para la inducción del estro en las ovejas prepúberes o en anestro.^{79, 80}

La PGF_{2α} disminuye los niveles de progesterona a menos de 1 ng/ml, produciéndose un incremento en los niveles de estrógenos y de hormona luteinizante, seguido por la presentación del estro entre las 48-72 horas después de su aplicación, resultando finalmente en la ovulación.^{80, 81}

Algunas investigaciones han demostrado que sólo responden a la PGF_{2α} los animales que se encuentran entre los días 5-14 del ciclo estral, ya que antes de ese momento el cuerpo lúteo en formación es resistente a la acción de la hormona; si después de los 14 días no se llevó a cabo la fertilización, el cuerpo lúteo involuciona de manera natural, produciendo una disminución en la concentración de la progesterona.^{81, 82, 83}

En los ovinos no es posible seleccionar a los animales a tratar con PGF_{2α} mediante de la palpación del cuerpo lúteo, por lo que para obtener una alta proporción de ovejas sincronizadas, se tiene como alternativa la aplicación de dos inyecciones con un intervalo de 8-9 días entre ellas. Sin embargo, bajo estos esquemas se han obtenido resultados muy diversos. Álvarez (1994) encontró que el 42.8% de ovejas pelibuey tratadas con dos inyecciones de PGF_{2α} con 8 días de diferencia presentaron estro, mientras que Hernández (2001) observó sólo al 35.7%. La respuesta en ambos casos fue asociada a una falla en la regresión del cuerpo lúteo, posiblemente debido a la reducción de la sensibilidad del cuerpo lúteo a la PGF_{2α}.^{80, 84} No obstante en otro trabajo, Herrera (1990) menciona la utilización de una sola dosis de PGF_{2α}, en el cual el 67% de los animales presentaron estro al ser inyectados durante la fase de madurez del cuerpo lúteo.⁷⁹

En cuestiones de campo la gran limitante de este método, es el riesgo de provocar el aborto, en la fase temprana de la gestación (al día 50), si es que no se conoce el estado fisiológico del animal, por lo que genera pérdidas económicas.^{3, 23, 85}

3.3.1.1.4 MELATONINA

Esta hormona puede administrarse por varias vías: oral, parenteral, vaginal, además de la subcutánea. Aunque las tres primeras no han dado buenos resultados en forma experimental, ya que se debe repetir varias veces el tratamiento, lo cual en condiciones comunes complica el manejo de los animales, además del estrés que se les provoca. La vía subcutánea ha dado mejores resultados en cuanto al número de hembras tratadas que presentan estro, tanto en forma experimental como en condiciones de campo.⁸⁶ La melatonina en forma comercial (Regulin)[®] es un pequeño implante de silicón que contiene 18 mg de la hormona, el cual libera dosis menores a 0,5 mg de melatonina por día en ovejas de entre 40 y 70 kg de peso vivo. Esta liberación imita las concentraciones naturales de la hormona en el plasma, secretadas por la glándula pineal, cuando comienzan a disminuir las horas de luz. Así, el tratamiento con melatonina proporciona a las borregas las concentraciones plasmáticas suficientes de melatonina para inducir la secuencia natural de eventos hormonales como si fuera la estación reproductiva natural.³³ Con el tratamiento las ovejas pueden ser apareadas tempranamente en el año, con una proporción alta de ciclicidad en el rebaño y rangos altos de ovulación.⁸⁷ Las hembras ovinas implantadas con melatonina, adelantan la época reproductiva del rebaño, aún cuando éstas estén en su período normal de anestro fisiológico profundo.⁸⁸

Se ha descrito diferentes respuestas raciales a los implantes de melatonina, según la raza. En Gran Bretaña, Ronayne (1989), implantaron melatonina en hembras de raza Romney Marsh adelantando la estación reproductiva. En cambio en hembras de la raza Suffolk no se obtuvo una buena respuesta. Asimismo estudios realizados en Australia en ovejas de raza Merino Australiano y Romney Marsh, difirieron en cuanto a la respuesta a los implantes de melatonina.^{89, 90}

El uso de melatonina produce un incremento en el número de hembras en estro que es semejante a aquel que se produce en la época reproductiva natural. Es importante que se realice antes que comience el primer ciclo estral en la totalidad del rebaño.⁹⁰ La administración temprana de melatonina se recomienda para demorar respuestas subóptimas a las horas de menor luz. A la inversa, la administración muy tardía de melatonina en la estación reproductiva, puede no hacer posible la respuesta esperada.⁹¹ Si el tratamiento con melatonina no se repite en la temporada siguiente en el mismo rebaño, éste retorna a su estación reproductiva estacional normal.⁹²

Aunque se han probado diferentes dosis y diferentes fechas en las que se administra la melatonina, buenos resultados se han obtenido con dosis de 18mg, durante 30 a 40 días, a partir del mes de abril, presentándose la actividad estral y la ovulación en los meses de mayo y junio.⁵¹

3.4 GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA (eCG)

La eCG fue una de las primeras gonadotropinas disponibles comercialmente usadas para inducir superovulación en animales domésticos. Es una glucoproteína con subunidades alfa y beta similar a las de la LH y FSH, pero con mayor contenido de carbohidratos, especialmente del ácido siálico; el cual parece ser el responsable de una vida media larga de varios días. Es producida por las copas endometriales de las yeguas, alrededor de los días 35-40 y hasta el 135-150 de la gestación.^{9, 65}

La eCG tiene una actividad mixta de FSH y LH, actuando principalmente a través de su actividad de FSH para aumentar la tasa de ovulación, ya que favorece la maduración del o de los folículos ovulatorios, origina un pico elevado de estrógenos e induce la aparición del pico preovulatorio de LH y la ovulación.^{8, 9} Sin embargo, el cuerpo lúteo formado a partir de esta primera ovulación tiene una duración y función deficiente y no es capaz de mantener una gestación. Por este motivo los tratamientos con gonadotropinas se han combinado con el uso previo

de progestágenos, durante periodos de 9 a 12 días, con la finalidad de que el animal presente un comportamiento estral adecuado junto con un cuerpo lúteo de vida media y función normal.⁹³ La eCG se puede aplicar intramuscularmente o subcutáneamente.^{5, 9} La gran ventaja de la eCG, es que requiere una sola aplicación por su larga duración, en comparación con la dosis de FSH.^{5, 8, 9, 23}

Una vez sincronizado el estro la eCG se puede aplicar 48 horas antes de retirar el progestágeno o al momento de retirarlo, siendo más común lo último para evitar manejar nuevamente a los animales.⁸

Se menciona que con el uso de progestágenos más eCG se obtiene un incremento del 30% en la prolificidad, comparado con grupos en los cuales sólo se utilizan tratamientos sin eCG.⁷⁷ La combinación de FGA y eCG durante la época reproductiva, tiene buenos resultados en la sincronización del ciclo estral, así como para la inducción del celo y la ovulación en animales anéstricos.^{94, 96}

Es muy importante establecer la dosis de la eCG, ya que constituye desde el punto de vista económico una parte importante del tratamiento.⁸ Las dosis más utilizadas van de 200-500 UI para hembras en estación reproductiva y de 300-700UI para las hembras que se encuentren fuera de la estación o en anestro.^{11, 14} Sin embargo, en diferentes trabajos de sincronización del ciclo estral en borregas se han utilizado dosis menores de eCG, que van de 100-150UI.^{94, 95}

Una dosis excesiva de eCG incrementa la frecuencia de partos múltiples (triples o cuádruples), poniendo en riesgo la supervivencia de los corderos; además se ve alterado el intervalo de tiempo desde la finalización del tratamiento a la ovulación.^{3, 77}

3.5 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

La inseminación artificial es un método de reproducción en el cual el semen de los machos es recolectado y depositado en el aparato reproductor de las hembras,

por medios diferentes a la cópula, para producir la fecundación de los óvulos maduros.⁷

El uso de la inseminación artificial puede acelerar y masificar el mejoramiento genético y favorecer la eficiencia reproductiva, ya que en general, facilita el transporte de material genético, permite establecer pruebas de progenie, evita la transmisión de enfermedades por contacto sexual directo, y permite la conservación prolongada del semen, siendo éste en algunos casos, de machos incapacitados o incluso de animales que ya murieron. Para obtener resultados favorables en los programas de inseminación, es necesario establecer un buen control sanitario, contar con personal capacitado, pero sobre todo, emplear machos de excelente calidad genética.⁸

La inseminación artificial puede llevarse a cabo en hembras que son previamente detectadas en estro conductual, en una sola ocasión, a las 12 horas después de haber presentado celo, o en dos ocasiones, a las 12 y 24 horas posteriores a la presentación del estro. También se puede realizar a tiempo fijo, es decir, en hembras a las cuales no se les detecta el estro conductual, y en las cuales la referencia para inseminarlas, es el momento en el cual se retira la esponja y se realiza la administración de la gonadotropina coriónica equina.^{5,9}

3.5.1 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL VAGINAL.

Es la técnica de inseminación más rápida, sin embargo, es la que requiere de una mayor concentración, por lo menos 300 millones de espermatozoides en la dosis a depositar y un volumen de 0.30 a 0.50 ml, en comparación con las otras técnicas y sus resultados son poco predecibles. La deposición del semen es dentro de la vagina sin intento de localizar el cérvix.^{8,9} Por lo general se efectúa 56-58 horas después de haberse retirado la esponja. Se debe de limpiar la vulva para evitar contaminación de la vagina al introducir la pipeta, la pipeta se carga con un poco de aire y luego con la dosis requerida de semen, tomada del tubo que se mantiene en baño María a 30 °C. El aire ayuda a empujar el semen, y la pipeta debe introducirse lo más lejos en la vagina, para no lastimar la uretra que se encuentra en el piso de la vagina. Se puede o no usar un espéculo para su introducción, y

una vez en el sitio, se aprieta el émbolo y se retira la pipeta. En esta técnica sólo se utiliza semen fresco o diluido. El índice de concepción es de 40-60%.^{8, 9, 97}

3.5.2 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CERVICAL.

En esta técnica la finalidad es depositar el semen a una profundidad aproximada de 1 a 3 cm dentro del cérvix para evitar dañar el tejido. Esta técnica se efectúa de 54 a 56 horas posteriores al retiro de la esponja vaginal. Para realizar la inseminación, la oveja debe estar inclinada cabeza abajo, con los miembros posteriores montados sobre un potro o caballete, para facilitar la localización de la vagina y el cérvix. Se introduce en la vagina, con movimientos suaves un espéculo con fuente de iluminación propia, hasta localizar el cérvix.^{7, 8} Una vez que se ha localizado, se introduce la pipeta lo más profundo posible hasta donde se presente resistencia, y posteriormente se deposita el semen.⁷ La concentración deseada para esta técnica es de 150 millones de espermatozoides, en un volumen de 0.05 y hasta 0.2 ml por dosis. La fertilidad en la inseminación cervical con semen fresco o sin diluir puede dar, en ocasiones, resultado de una alta fertilidad que varía entre el 60-70%, comparable con rebaños en los que se haya empleado monta natural.⁸

3.5.3 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL TRANSCERVICAL.

En este caso se introduce un espéculo con fuente de luz en el tracto genital, se aplica una suave tracción hacia arriba con fórceps al cérvix para facilitar la introducción de una pipeta con punta de metal, por medio de movimientos suaves de izquierda a derecha, tratando de pasar los pliegues del cérvix para depositar el semen directamente en el útero.⁷⁵ En esta técnica se utiliza generalmente un volumen de 0.05 a 0.10 ml por dosis, así como una concentración de 60 millones de espermatozoides.⁸ La inseminación se realiza de 50 a 56 horas posteriores al retiro de la esponja. La efectividad de esta técnica es variable, ya que existen reportes de fertilidad del 90 % y en otros casos, donde existen problemas para alcanzar el útero y por tanto se recomienda el uso de otra técnica.⁹

3.5.4 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL INTRAUTERINA.

Debido a la anatomía del cérvix de la oveja dificulta el paso de una pipeta hasta el útero para hacer un depósito profundo del semen, se han buscado otras opciones. Trounson (1974), inseminó ovejas intrauterinamente mediante laparotomía media ventral, colocando el semen directamente en los cuernos del útero o en los oviductos, utilizando un catéter delgado. Sin embargo, para disminuir el riesgo de adherencias e infecciones, Killen desarrolló la técnica que permite depositar el semen directamente a nivel intrauterino, mediante un equipo de laparoscopia.⁹⁸

Este método ha tenido gran aceptación debido a los resultados obtenidos y a la consistencia de los mismos, lo que ha posibilitado en los ovinos, su aplicación en programas de mejoramiento genético a mayor escala.⁹⁹ Además, con el uso de esta técnica las dosis para inseminar pueden ser bajas, de entre 20 a 60 millones de espermatozoides.⁸ La inseminación intrauterina genera resultados significativamente altos, en comparación con la inseminación cervical.^{3, 98, 100}

La inseminación artificial se efectúa 12 horas posteriores a la detección del celo. Cuando no se lleva a cabo la detección del celo, y la inseminación se realiza a tiempo fijo, se insemina alrededor de las 50-60 horas después de retirar la esponja, para que ésta se efectúe poco antes de la ovulación.^{99, 101} Algunos autores recomiendan realizar la inseminación intrauterina a las 36 a 48 horas de retirada la esponja, en caso de usarse semen fresco.⁸

Las ovejas inseminadas mediante la técnica de inseminación artificial intrauterina con semen congelado, presentan una fertilidad de entre 30 y 60%, mientras que con semen fresco se ha observado un porcentaje mayor al 60%.⁷⁵ Ghasasi y Nimbkar (1996) obtuvieron una fertilidad del 72% utilizando semen fresco e inseminación intrauterina, 69% con semen fresco e inseminación cervical; mientras que con monta directa un 83%.⁹⁸

En ovejas con estro sincronizado con esponjas vaginales de FGA más la aplicación de eCG, inseminadas intrauterinamente a diferentes horas de retirada la esponja, 48, 54 y 60 horas, los porcentajes de fertilidad fueron 60, 31 y 29%

respectivamente.¹⁰² En otro trabajo se inseminaron intrauterinamente ovejas tratadas con FGA más eCG a las 48, 60 y 72 horas, y se obtuvo como resultado 41%, 57% y 49% de fertilidad respectivamente.¹⁰⁰

La inseminación intrauterina es una inseminación efectuada por medio de una pequeña operación quirúrgica. Las ovejas deben estar en ayuno por lo menos 36 horas antes de la intervención.^{103, 104} Las ovejas son colocadas en una camilla de inseminación, la cual se eleva a unos 40 grados. El abdomen de la hembra se rasura y se desinfecta. Se realizan dos pequeñas incisiones con bisturí a 4 cm anteriores a la ubre y a cada lado de la línea media; y a través de éstas se introducen los trocares y las cánulas; se usan 2 trócares, ambos de 5 mm de diámetro.^{9, 98, 103, 104} Uno de ellos es usado para introducir un telescopio y el otro para introducir el aplicador con la pajilla que contiene el semen. La cavidad abdominal se insufla previamente con CO₂ (dióxido de carbono) o con aire ambiental, para visualizar mejor el útero. El semen se deposita en cada cuerno uterino con un volumen de 0.05 a 0.2 ml, con una concentración mínima 20 millones de espermatozoides.^{103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112} Al terminar la intervención se suturan con un punto, únicamente en piel, cada incisión. Además se aplica una dosis de antibiótico para impedir una posible infección y se trasladan al corral de recuperación^{8, 98, 103, 108, 111}

Quizá la razón por la cual no es una técnica muy difundida, es el alto costo del equipo y la necesidad de contar con técnicos capacitados.⁹ Una de las ventajas de la inseminación intrauterina en comparación con la inseminación cervical es la posibilidad de usar una dosis menor de semen, pero sobre todo el uso de semen congelado.¹¹²

3.6 MANEJO DEL SEMEN

Normalmente se asume como poco probable que los machos a utilizar durante un empadre, presenten problemas de fertilidad asociados a una inadecuada producción de semen. Sin embargo, siendo la obtención y la evaluación básica del

semen en los ovinos una actividad relativamente sencilla, que permite predecir la fertilidad de los machos a utilizar y por tanto optimizar su uso, o en su caso rechazarlos, es conveniente llevarla a cabo, además de someterlos a un examen físico y andrológico.^{3, 8, 49}

A pesar de que la cantidad y la calidad del semen son características que pueden variar por factores como la edad, la temporada de reproducción o de anestro, la temperatura ambiental, la condición corporal, el tamaño de los testículos o la raza, los carneros tiene capacidad para producir semen viable casi durante todo el año.^{5, 8, 51}

3.6.1 RECOLECCIÓN

La recolección de semen se puede realizar principalmente de dos formas, mediante la vagina artificial y el método de electro eyaculación.⁸

El método más adecuado para la obtención de semen en los ovinos será el de la vagina artificial, cuya temperatura y presión adecuadas, imitan las condiciones naturales del depósito del semen en la vagina de las hembras. Por esto, también provee eyaculados con características normales.^{5, 8, 9, 51}

Inicialmente es común entrenar los machos con hembras en celo natural o sincronizado, y posteriormente y con algo de práctica puede utilizarse cualquier hembra, aún sin estar en celo o machos de temperamento dócil. En pocos lugares se cuenta para la obtención del semen, con rampas o fosos y se utilizan estructuras metálicas forradas con plástico o piel denominadas potros o maniquís.^{49, 51, 97, 113}

De cualquier manera, los machos son recolectados, previa limpieza del prepucio con agua tibia, en el momento en que montan y el pene ya erecto es desviado hacia la vagina artificial, procurando no tocarlo o tocando suavemente y el menor tiempo posible el prepucio, colocándose la persona que realiza la colección del semen a un lado del macho.^{113, 114}

Sementales con experiencia y buena libido eyaculan rápidamente en el primer o segundo intento de monta, mientras que la mayoría lo harán después de algunas montas falsas (monte y desmonte), hasta que penetren completamente en la

vagina artificial. Durante la eyaculación, el macho realizará rápidos movimientos pélvicos y contraerá fuertemente los músculos abdominales, ocurriendo un único y vigoroso movimiento hacia adelante.^{49, 115}

Después de eyacular en la vagina artificial el macho desmontará y el pene se retraerá hacia el prepucio. Machos con buena libido o con un periodo de descanso sexual prolongado, podrán ser colectados hasta en dos o tres ocasiones en un corto periodo de tiempo (media hora).^{5, 8, 9, 113}

Aunque existen muchos tipos de vaginas artificiales, fabricadas de manera doméstica o industrial, éstas consisten en un tubo rígido de 12 a 15 cm de longitud y 4.5 a 6 cm de diámetro, con una válvula metálica que permite introducir agua y aire. Por la parte interna se introduce una funda de látex, cuyos extremos se doblan y sujetan sobre el tubo rígido, formando un espacio que es llenado con agua caliente y aire, de tal manera que el pene entre libremente a la vagina, pero con cierta presión. Algunas personas recomiendan el lubricar el extremo de la vagina artificial por el que entra el pene, teniendo la precaución de que el lubricante no sea tóxico para los espermatozoides. Por el otro extremo de la vagina artificial y dependiendo de su longitud, se coloca directamente una copa colectora graduada o un cono colector al que se le une un tubo graduado.^{97, 113, 116,}

La temperatura de la vagina artificial al momento de la colección del semen será de entre 42 y 45 °C; temperaturas mucho menores (alrededor de 30 °C) no son en la mayoría de las ocasiones estímulo suficiente para la eyaculación. Temperaturas superiores a los 45 °C, pueden molestar al semental o incluso lastimarlo, haciendo que relacione la colecta de semen con una actividad desagradable.^{5, 8, 9, 113, 117}

En las ocasiones en las que el macho penetra en la hembra antes de ser recolectado en la vagina artificial, puede hacerse un lavado vaginal introduciendo a través de una pipeta de plástico, de 15 a 20 ml de solución salina fisiológica, solución Hartmann, leche o algún diluyente específico, para tratar de recuperar la mayor cantidad posible del semen eyaculado. Dependiendo de la solución

utilizada, el semen podrá usarse únicamente para ser evaluado o para realizar con él la inseminación en fresco de algunas hembras.^{49, 113, 118}

Es conveniente, para que los machos permanezcan con buena disposición para ser recolectados con vagina artificial, que de vez en cuando monten y eyaculen directamente en algunas hembras en celo.^{115, 116}

En los machos en los que por alguna razón no puede usarse una vagina artificial, el semen se obtiene mediante electroeyaculación, obteniéndose muestras con mayor volumen a las obtenidas con vagina artificial, pero con menor concentración y comúnmente contaminadas con orina. A pesar de que en la mayoría de las ocasiones, la recolección se hace con el macho en pie o derribado hacia uno de sus lados (decúbito lateral) y sujetado fuertemente entre varias personas, la tranquilización química con hidrocloreuro de xilacina en dosis de 0.11 ó 0.22 mg/kg evita estrés en el animal. Es fundamental asegurar la tranquilidad del macho, ya que un mal manejo del animal o de la vagina artificial en la recolección o durante el entrenamiento, puede provocar un efecto inhibitorio y prolongado en el comportamiento del animal.^{3, 8, 9, 49, 113}

La electroeyaculación consiste en estimular eléctricamente y por vía rectal las glándulas accesorias del aparato reproductor del macho, como son las vesículas seminales y la próstata, pero principalmente el centro eyaculatorio que se encuentra en las ramificaciones nerviosas de la columna vertebral, entre las últimas vértebras lumbares y las dos primeras vértebras sacras. Para aplicar los estímulos se utiliza un dispositivo rectal de forma cónica, con dimensiones para pequeños rumiantes de entre 2.2 y 2.5 cm de diámetro por 15 cm de largo. El electroeyaculador se introduce 9 a 10 cm en el recto, previa lubricación, con los polos apuntando hacia las vesículas seminales. La intensidad en la que se han obtenido los mejores resultados se incrementa paulatinamente de 0 a 10 voltios, ya sean de corriente alterna o directa y con 160 miliamperios a 2 amperios, mientras que los ciclos cuando se utiliza corriente alterna, pueden variar entre 20 y 60 ciclos/segundo.^{113, 114, 115, 116}

Para provocar la electroeyaculación, una persona aplicará periodos de estimulación de entre 3 a 7 segundos, seguidos por periodos de descanso con la misma duración. Con electroeyaculadores manuales y portátiles, se aplican estímulos con un voltaje constante, pero se modifica el ritmo de la estimulación eléctrica. Es común el uso de electroeyaculadores manuales de 6 a 9 voltios, con una rutina de 2 estímulos eléctricos de 7 segundos por 7 segundos de descanso, 3 ó 4 estímulos de 5 segundos por 5 de descanso hasta observarse la erección del pene y 3 ó 4 estímulos de 3 segundos por 3 segundos de descanso hasta la obtención del semen, que será colectado en una copa graduada.^{5, 8, 9, 113, 118}

En cuanto se considere adecuado el volumen del semen eyaculado, se suspende la estimulación eléctrica para tratar de contaminar lo menos posible el semen con orina, ya que en ocasiones los machos orinan en cualquier momento antes o inmediatamente después de la eyaculación, por lo que es importante una buena coordinación entre el que estimula al macho y el que recolecta el semen. El semen contaminado con orina puede usarse, una vez diluido, para inseminar en fresco a las hembras. En caso de que se pretenda conservar el semen refrigerado o enfriado durante algunas horas, es conveniente centrifugarlo.^{8, 9, 51, 113, 115}

3.6.2 EVALUACIÓN

Una vez obtenido el semen, el examen del color, el olor y la consistencia deberá hacerse lo más pronto posible. El semen es de color blanco lechoso o crema pálido, pero puede variar de un eyaculado a otro, aún tratándose del mismo semental. Cuando el color es opaco indica una alta concentración espermática, mientras que los eyaculados translúcidos contienen menos espermatozoides.^{8, 9, 29, 113}

El volumen del eyaculado se mide generalmente en el recipiente graduado en que se colecta la muestra, siendo en promedio de 1 mililitro. El volumen eyaculado puede variar también por otros factores como la frecuencia de colección y la habilidad del operador.^{5, 8, 94, 113, 116}

La determinación de la motilidad es una de las pruebas más utilizadas para tener una aproximación a la calidad del semen, para evaluarla es necesario el uso de un

microscopio compuesto u óptico común con objetivos de 10X y 40X, siendo importante el mantener el semen a evaluar y el material a utilizar a una temperatura de entre 30 a 35 °C.^{8, 29, 49, 51}

La motilidad se evalúa en masa, mediante la observación de las ondas de movimiento en una gota de semen sin diluir, colocada en un portaobjetos y se califica en una escala del 0 al 5. A pesar de ser una evaluación subjetiva, a través de la experiencia los criterios entre evaluadores tienden a unificarse.^{8, 29, 51, 114, 116}

Esto se muestra en la figura 3

Figura 3 Valoración de las ondas de movimiento

Valor	Clase	Descripción
5	Muy buena	Ondas muy rápidas, 90 % activos
4	Buena	Ondas rápidas, 70-85 % activos
3	Regular	Ondas lentas, 45-65 % activos
2	Pobre	Sin ondas, movimiento aislado, 20-40 % activos
1	Muy pobre	Sin ondas, movimiento débil, 10 % activos
0	muecos	Sin movimiento

Tomado de Evans G, Maxwell W.M.C. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Ed. Acribia, España, 1990.

La motilidad se evalúa también de manera individual, mediante la determinación de la proporción o porcentaje de los espermatozoides con movimiento progresivo o de avance, por lo que es necesario diluir el semen 1:200, utilizando solución salina fisiológica o algún diluyente específico, y colocando una gota del semen diluido en un portaobjetos con cubreobjetos. La motilidad individual o progresiva se califica en una escala del 0 al 100 %, correspondiendo el valor de 0 a las muestras sin movimiento y valores cercanos al 100 % a las muestras con una gran proporción de espermatozoides con avance en línea recta. La determinación del número de espermatozoides mótiles y de la calidad del movimiento, deberá hacerse en diferentes campos del microscopio. Se considerarán como movimientos inadecuados los movimientos circulares y los movimientos

oscilatorios, sin cambio de posición. Una motilidad en masa con valores menores a 3 y con motilidad individual menor al 70 % es indicadora de machos problema.^{5, 8, 9, 29, 113, 116, 117, 118}

La concentración promedio de espermatozoides en el semen de los ovinos es de $3,500 \times 10^6$ / ml. Los métodos comunes para calcular la concentración se basan a nivel de campo, son la valoración de la consistencia del semen o su conteo mediante un hemocitómetro, aunque ya se usan con mayor frecuencia fotómetros portátiles. La valoración de la concentración de acuerdo a la consistencia dependerá de la proporción en que se encuentren sus principales constituyentes, el plasma seminal y los espermatozoides.^{8, 29, 116}

Las muestras de consistencia espesa y con apariencia cremosa tendrán más espermatozoides, mientras que las muestras más acuosas y claras tendrán una menor concentración.^{8, 51, 115} La concentración del semen valorada por su consistencia se muestra en la figura 4.

Figura 4. Concentración del semen valorada por su consistencia

Valor	Consistencia	Espermatozoides / ml (x 10 ⁶)
5	Creмоса espesa	5,000
4	Creмоса	4,000
3	Creмоса tenue	3,000
2	Lechosa	2,000
1	Nebulosa	700
0	Clara (acuosa)	No significativa

Tomado de Evans G, Maxwell W.M.C. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Ed. Acribia, España, 1990.

El uso de un hemocitómetro es un método relativamente lento, pero proporciona una aproximación adecuada de la concentración espermática en el eyaculado. Para esta evaluación deberá tenerse una cámara para contar células sanguíneas (Neubauer), su cubreobjetos y la pipeta para contar eritrocitos. De manera rutinaria, se hace una dilución del semen 1:200 en la pipeta, usando agua corriente o agua con formalina para matar rápidamente a los espermatozoides y se coloca una gota sobre la cuadrícula de la cámara. Antes de contar los

espermatozoides es conveniente esperar alrededor de 3 a 5 minutos para permitir su sedimentación. El conteo podrá realizarse con el objetivo de 10X ó 40X y tomando en cuenta la cuadrícula formada por los 25 cuadros grandes, cinco por lado, delimitados por 3 líneas cada uno y subdivididos en 16 cuadros más pequeños. En esta cuadrícula se contarán las cabezas de los espermatozoides que se encuentren dentro de 5 de los cuadros grandes, usando generalmente los 4 de las esquinas y el central.^{8, 49, 51, 113, 115, 116} La concentración espermática por mililitro se calcula multiplicando el número de los espermatozoides contados en los 5 cuadros por 10 millones (10^7). La concentración del eyaculado se obtiene multiplicando la concentración por mililitro por el volumen eyaculado, y para estimar adecuadamente la concentración de espermatozoides vivos y con movimiento (concentración de espermatozoides móviles), se deberá considerar también el porcentaje de la motilidad individual.^{8, 9, 29, 116}

En el examen de la proporción entre espermatozoides vivos y muertos, así como de la morfología (proporción de espermatozoides con anormalidades) se consideran pruebas de control de calidad, en las que se hacen frotis en portaobjetos y se usan diferentes tinciones. Como la preparación, tinción y observación cuidadosa de los frotis teñidos es relativamente tardada, se hace después de la evaluación de las principales características del semen.^{8, 29}

Para la evaluación rutinaria del porcentaje de espermatozoides vivos y muertos se usa la tinción Rosa de Bengala o la de Eosina-Nigrosina (5 % de Eosina y 10 % de Nigrosina), con las cuales se tiñen completamente y con mayor intensidad los espermatozoides muertos, puesto que la permeabilidad selectiva de su membrana está inhabilitada, mientras que los moribundos se tiñen con menor intensidad y principalmente en la región de la cola.^{51, 113, 116}

Las muestras deberán revisarse con el objetivo de 40X y se determinará en 100 espermatozoides evaluados, la proporción o porcentaje de los espermatozoides con anormalidades. Las anormalidades de los espermatozoides a las que habrá que prestar más atención serán las relacionadas con la espermatogénesis o anormalidades primarias, es decir, las relacionadas con la estructura, como serán

las cabezas grandes, pequeñas o irregulares y las dobles cabezas o colas. Las anomalías secundarias ocurren durante el tránsito de los espermatozoides por el epidídimo, por lo que pueden presentarse en machos sobre trabajados, siendo la más común la presencia de gotas citoplasmáticas o de cabezas desprendidas; mientras que las anomalías terciarias se presentan durante la eyaculación o por un manejo inadecuado del semen, encontrándose por lo general las colas enrolladas o los espermatozoides aglutinados.^{29, 118}

Las muestras con una proporción de espermatozoides muertos mayor al 30 % y con más del 20 % de anomalías serán indicadoras de machos con fertilidad reducida. La evaluación del semen deberá repetirse por lo menos 5 días después, proporcionando descanso y buena alimentación, en aquellos sementales cuyas características seminales no correspondan con los valores normales.^{8, 29}

3.6.3 DILUCIÓN

La dilución del semen se usa para que el eyaculado recolectado, sea útil para obtener el mayor número posible de dosis o para inseminar el mayor número de hembras.¹¹³ Gracias al conocimiento de las características y funciones del plasma seminal que forma junto con los espermatozoides al eyaculado, se han podido hacer los diluyentes para el semen que se utilizan en la inseminación artificial.^{8, 9, 49, 51, 113, 116.}

El plasma seminal está constituido por las secreciones de las glándulas bulbouretrales, la próstata, las vesículas seminales, el epidídimo y los conductos deferentes, siendo un vehículo isotónico, nutritivo y protector, tendiendo hacia un PH normalmente neutro (5.9-7.3). Contiene también agentes antimicrobianos como la seminalplasmina e inmunoglobulinas, principalmente IgA y una gran variedad de hormonas como andrógenos, estrógenos, FSH, LH, gonadotropina coriónica, hormona del crecimiento, insulina, glucagon, prolactina, relaxina y prostaglandinas.^{5, 9, 113, 115, 117, 118}

A pesar de la complejidad de un eyaculado, los diluyentes de uso común para el semen están constituidos principalmente por agua, tris o citrato de sodio como

amortiguadores, azúcar como fuente de energía, glicerol o yema de huevo como protectores del enfriamiento y antibióticos.^{8, 51, 113} Un buen diluyente debe proporcionar al semen nutrientes, un sistema amortiguador del pH, un medio isotónico y protegerlos espermatozoides de un choque térmico. También debe ser sencillo de preparar, de manejar y de costo accesible.^{8, 51, 113, 116.}

Para realizar una adecuada dilución del semen es conveniente estimar el número de dosis que se podrían obtener de un eyaculado, para lo cual hay que dividir la concentración de espermatozoides móviles entre el número de espermatozoides a inseminar, es decir la concentración de cada dosis. Para calcular el volumen final, que estará constituido por el diluyente más el semen eyaculado, se multiplica el número de dosis por el volumen de cada una (volumen final), y para saber la cantidad de diluyente a agregar, al volumen final se le resta el volumen del semen eyaculado.^{3, 5, 9, 29, 51, 113, 118}

El diluyente debe de adicionarse al semen de manera paulatina, procurando que escurra por las paredes del recipiente y homogenizar la mezcla. Si éste se observa al microscopio, la motilidad no debe ser menor a la observada inicialmente. Independientemente si el uso es en fresco, frío o para congelarse debe mantenerse entre 30 a 35 ° C.^{29, 115, 116, 118}

En el caso de la inseminación artificial vía cervical con semen fresco es común usar dosis de 100 millones de espermatozoides y con semen frío de 150 millones, en un volumen de 0.20 a 0.25 ml, mientras que para el semen que es depositado intrauterinamente la concentración es generalmente de 20 millones y el volumen de 0.10 ml por cuerno.^{5, 29, 113, 114, 117}

3.7 DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

Una de las herramientas básicas en la mejora de la rentabilidad de las explotaciones ovinas es el diagnostico de gestación. Con esto se persigue disminuir en lo posible las pérdidas económicas que ocasionan las hembras no gestantes.¹¹⁹

Entre los métodos de gestación más utilizados para el diagnóstico de gestación; se encuentran; observación de retorno de estro con machos celadores, biopsia vaginal, detección del pulso fetal (Doppler), la palpación recto abdominal, presencia de progesterona en plasma, ultrasonido de imagen y tiempo real, ultrasonido modo A-scan.^{5, 9, 120}

Además, con el diagnóstico de gestación se puede mejorar la eficacia reproductiva de las ovejas si se utilizan técnicas de diagnóstico precoces, permitiendo una nueva oportunidad de cubrición para aquellas hembras no gestantes en un periodo de monta o bien eliminar las no gestantes. Además, es muy importante determinar si la gestación es simple o múltiple para poder establecer los requerimientos nutricionales de cada hembra. ⁵ Incluso se tendrá un mejor conocimiento del comportamiento reproductivo de los machos utilizados.^{116, 120,121}

El primer diagnóstico de gestación que se puede llevar a cabo es la verificación del no retorno al estro, posteriormente pueden emplearse métodos de laboratorio como las determinaciones hormonales, y después la identificación del embrión o del producto así como de las estructuras que caracterizan la placentación.¹²⁰

Monitorear la fertilidad, así como en el inicio de la preñez en las hembras ovinas es muy importante para prevenir el alargamiento de los días abiertos y el intervalo entre partos, ya que cada ciclo estral no aprovechado significa pérdidas económicas importantes. Son varios los métodos de diagnóstico de gestación en ovejas, pero solo algunos de ellos son usados bajo condiciones de campo, por ejemplo el peloteo, el desarrollo de glándula mamaria, el incremento de peso. La ventaja de estos métodos es que el productor o la persona encargada del manejo de las hembras lo puede practicar con un buen porcentaje de certeza. Sin embargo, son utilizados en el último tercio de la gestación, lo cual implica un diagnóstico tardío y como consecuencia la pérdida de alimentación y corderos.^{120,}

3.7.1 OBSERVACIÓN DE NO RETORNO A ESTRO

Durante la preñez, el feto inhibe la regresión del cuerpo lúteo (CL) e impide que la hembra vuelva al estro. Como es difícil detectar a simple vista el estro en las ovejas, por lo general se utiliza un macho celador para realizar esta actividad. El macho puede impregnarse de grasa coloreada o crayola directamente en la parte inferior del tórax o contenida en un arnés especial. El carnero marcará a las hembras no gestantes. De manera común, se emplean machos enteros cubiertos únicamente con un mandil. Se lleva a cabo entre los días 15 a 19 posteriores a la inseminación artificial, ya que el ciclo estral se presenta en la mayoría de las ovejas normalmente cada 16 ó 17 días.⁹ Aunque en el caso de las ovejas, cuya reproducción es estacional, puede ocurrir que sin estar gestantes, no se presente un nuevo estro por haber finalizado la época reproductiva.⁵ Cabe mencionar que mediante el no retorno a estro, no es posible detectar a aquellas hembras no gestantes que no presenten celo a causa de alguna patología que mantenga el útero ocupado, como es el caso de las hembras con mucometra.^{51, 113} Este método es recomendado cuando no se tiene al alcance otro método de diagnóstico, su precisión es del 90%.¹²⁰

3.7.2 BIOPSIA VAGINAL

Esta prueba diagnóstica tiene como fundamento los cambios histológicos que ocurren en el epitelio vaginal durante la preñez. Para realizarla se mantiene a la hembra de pie, se limpia la vulva con alguna solución antiséptica y se introduce un hisopo vaginal dentro de la vagina, tanto como se pueda, para tomar parte de células del epitelio que serán sometidos a estudios microscópicos con tinciones como fijación en formol, inclusión en parafina y tinción con hematoxilina y eosina. En hembras no gestantes el epitelio vaginal cuenta con 12 capas de células poligonales y escamosas: mientras que las gestantes cuentan con 5 capas de células cuboidales. Esta técnica tiene una precisión del 95% en gestaciones mayores de 40 días. Bajo condiciones de campo esta técnica no es muy utilizada, ya que el tiempo de procesamiento es largo y se realiza preferentemente en un laboratorio.^{9, 29, 116, 120}

3.7.3 DETECCIÓN DEL PULSO FETAL DOPPLER

Consiste en la introducción de un sensor en el recto de las borregas, el cual detecta el pulso fetal.¹²⁰ Esta prueba sólo es precisa después del día 40 de gestación alcanzando un 88% de precisión, pero si se realiza entre los días 81 a 100 se puede obtener hasta un 96% de precisión.^{120, 122}

La desventaja de esta técnica es que se pueden provocar abrasiones en la pared rectal, abortos y muertes, debidas aparentemente a infecciones subsecuentes.¹²⁰

3.7.4 RADIOGRAFÍA

Se basa en la identificación del esqueleto fetal. Se puede llegar a tener un 96% de precisión si se hace a los 43 días de gestación. En esta técnica es importante la experiencia en el manejo del equipo. Es cara, requiere tiempo, además de existir el riesgo por radiaciones hacia el operador y el producto, siendo su uso muy limitado en los pequeños rumiantes.¹²²

3.7.5 PALPACIÓN RECTO-ABDOMINAL

Se coloca a la borrega en decúbito dorsal, se inserta un bastón con punta roma por el recto y se manipula de un lado a otro con una mano, mientras que con la mano libre se palpa la región abdominal hasta sentir la presencia del feto. En animales nerviosos es necesario la sedación, además con un ayuno de 12 horas, colocarlos en posición dorsal y practicarles un enema con solución jabonosa, lo cual provoca estrés. No es muy precoz, ya que se puede realizar hasta los 60 días de gestación, aunque se obtiene una precisión del 97%. Es importante mencionar que esta técnica ya no se práctica.^{9, 120, 122}

3.7.6 MEDICIÓN DE PROGESTERONA EN PLASMA

Aunque la progesterona no es una hormona específica de la gestación, ya que se encuentra en animales no gestantes durante el diestro del ciclo estral, la determinación de niveles de progesterona plasmática puede ser utilizada cuando se conoce la fecha de apareamiento.¹²⁰

Esta prueba es un diagnóstico temprano, ya que se puede realizar al día 19 postservicio en la oveja, mediante radioinmunoanálisis (RIA). Por lo que se obtienen muestras sanguíneas por punción yugular, utilizando tubos heparinizados. Las muestras se centrifugan lo más pronto posible y el plasma obtenido debe ser congelado hasta el momento que se realice el RIA, los valores de progesterona mayores a 1 ng/ml se consideran como indicadores de gestación, hembras con valores menores a 1ng/ml se consideran como no gestantes.^{113, 116}

Bajo condiciones de campo donde las fechas no se registran, se ha determinado que al término de la época reproductiva la eficacia para detectar niveles de progesterona mediante la técnica de RIA es mayor del 95%, lo cual es una ventaja para criadores en sistemas de explotación extensiva.^{120, 123}

3.7.7 ULTRASONIDO MODO A

Los primeros ecógrafos fueron llamados «Modo A», el cual estaba formado por un cristal que emite un sonido y se espera a detectar el eco producido, por la diferencia en impedancia acústica entre las interfaces de los tejidos, que retornaban en forma de picos en la pantalla del equipo, mencionándose que la altura de cada pico correspondía a la amplitud del sonido en la profundidad del tejido.¹²³ Para ello se aplica el transductor en la parte externa del vientre bajo del lado derecho, cerca de la ubre en una zona desprovista de lana, dirigiendo el transductor hacia la escápula derecha, se debe de aplicar unas gotas de gel lubricante para lograr un mejor contacto. El ultrasonido emite ondas que viajan hacia los tejidos internos y regresan en forma de eco al receptor. Un resultado positivo se manifiesta encendiéndose una luz verde y un solo timbre, mientras que un resultado negativo con una luz roja. Una vejiga pletórica puede dar un falso positivo.^{120, 121} Con esta técnica es posible detectar la gestación desde los 40 días, con una eficacia del 85 a 95%.¹²²

3.7.8 ULTRASONIDO DE TIEMPO REAL

A finales de la década de los 70's el formato Modo A fue modificado y se le denominó "Modo B", el cual muestra una imagen bidimensional que consiste en

una serie de puntos en la pantalla, siendo el brillo de cada punto determinado por la amplitud o la fuerza de cada eco que regresa de su paso por los tejidos. El tiempo que toma al eco reflejarse en el transductor determina la posición o localización del punto en la pantalla. Actualmente también son llamados “Tiempo Real”, el cual es una versión perfeccionada del Modo B, en la cual se crean imágenes que son visualizadas casi instantáneamente, interpretando el movimiento de los tejidos vivos.¹²⁴ A diferencia del formato Modo A, éste provee de una imagen bidimensional del tejido por el que penetra, actualizándose constantemente y auxiliándose por medio del desplazamiento del transductor, posibilitando la construcción tridimensional, la cual puede ser extremadamente clara con la observación de movimientos.¹²³

En esta técnica la aplicación de impulsos eléctricos a los cristales del transductor, los deforma y los hace vibrar de acuerdo a sus características, resultando en la producción de ondas sonoras. La proporción de las ondas ultrasónicas propagadas o reflejadas por el tejido es recibida nuevamente por el transductor, convertido en impulsos eléctricos y mostrados como un eco en el monitor o pantalla en el aparato del ultrasonido. Esta propiedad de ciertos cristales para convertir impulsos eléctricos en ondas ultrasónicas y la posterior conversión de la energía mecánica de los ecos en impulsos eléctricos se denomina “piezoeléctrica”. Debido a que los tejidos tienen diferentes habilidades para propagar o reflejar las ondas en la pantalla presentan diferentes tonalidades de gris, que se extienden desde el blanco al negro. Los líquidos (vejiga llena, líquido amniótico, líquido folicular) no reflejan las ondas y se clasifican como no ecogénicos o anecoicos, por lo que aparecen de color negro. En el otro extremo, los tejidos densos (cérvix, huesos fetales) reflejan gran cantidad de las ondas, por lo que aparecen blancos en la pantalla y se clasifican como ecogénicos o ecoicos.¹²⁰

El tiempo real se refiere al movimiento que en monitor presentan las estructuras examinadas, ya que son grabados continuamente y permiten que los eventos como el movimiento fetal o el latido cardiaco se observen tal y como ocurren. Este

método es moderno y efectivo, ofreciendo la gran ventaja como la velocidad y confiabilidad.^{5, 51, 120}

En ovinos el diagnóstico de gestación empleando un transductor lineal de 3.5 Mhz, se realiza con el animal puesto de pie, colocándolo en el vientre, lateral a la ubre a la altura de la tetilla, con la parte donde se coloca, muy limpia o rasurada, permitiendo una efectividad del 95 al 100%, para el diagnóstico positivo del día 40 al día 60 de gestación.^{5, 116, 120}

Para el caso de utilizar un transductor transrectal de 5.0 o 7.5 Mhz, se obtienen mejores resultados si el animal se encuentra en decúbito dorsal o sentado, debido a que el arreglo lineal del transductor que requiere una gran superficie de contacto. Para la visualización del útero, el transductor se coloca en la pared abdominal ventrolateral (posición transabdominal) o en el recto (posición transrectal) del animal. El contacto entre el transductor y la piel sobre la pared rectal, se establece a través de un gel o de aceite vegetal, obteniéndose en la pantalla del equipo imágenes de los tejidos en diversos tonos en gris, (escalas entre el blanco y el negro, dependiendo de su ecogenicidad) mencionado anteriormente.⁹

La evolución de las características técnicas de estos equipos ha permitido mayores posibilidades de observación del desarrollo temprano de gestación. Desde los primeros trabajos de Buckrell (1986), que consideran posible establecer la gestación en las ovejas el día 23, con una sonda transrectal de 5 Mhz. Hasta otros más recientes con sondas de 7.5 Mhz, que detectan la gestación en esta especie a los 18-19 días.¹²⁶ Santiago *et al* (1995) reportan que la primera visualización diferenciada de la vesícula embrionaria se puede apreciar en el día 12 en las ovejas, mientras que al día 16 se observa la presencia de las membranas extraembrionarias y de los primeros placentomas.¹²⁷

En la práctica de campo, es mejor el diagnóstico de gestación más tardío, desde los 28 a 30 días para poder visualizar el embrión. El sistema esquelético es completamente visible desde los 75 a 80 días de gestación, con su característico

patrón hiperecógeno. A partir de los 40 a 45 días, los órganos fetales más fácilmente visibles son el corazón y el hígado. En el corazón puede diferenciarse la imagen correspondiente a la pared cardíaca, pero las cámaras cardíacas no se aprecian hasta los 60 días de gestación.^{120, 125,126}

IV. OBJETIVOS

1. Evaluar la presentación del estro y su distribución, en ovejas sincronizadas con una esponja completa de 20 mg de FGA y 200 UI de eCG o con media esponja y 200 UI de eCG.
2. Determinar la fertilidad de ovejas sincronizadas con una esponja completa de 20 mg de FGA y 200 UI de eCG o con media esponja de 20 mg de FGA y 200 UI de eCG, inseminadas intrauterinamente con semen fresco.

HIPÓTESIS

El uso de media esponja de 20mg de FGA y 200 UI eCG sincronizará el estro sin afectar la fertilidad de ovejas que son inseminadas intrauterinamente con semen fresco.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 LOCALIZACIÓN

El estudio se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El centro se encuentra ubicado en el Km. 53.1 de la carretera federal México-Cuernavaca, en el poblado de Tres Marías, municipio de Huitzilac en el Estado de Morelos. La altitud es de 2,743 msnm y el clima de la región, Cb (m) (w) ig, que corresponde a templado semi-frío con verano fresco y largo, de acuerdo a la clasificación de Köepen modificada por Enriqueta García. Las lluvias se presentan en los meses de mayo a octubre y la temporada de secas de noviembre a abril, con una temperatura media anual de 9.9 °C y una precipitación promedio de 1,724.6 mm.^{128, 129}

5.2 ANIMALES

El trabajo se realizó durante el mes de octubre en plena época reproductiva.^{5, 8, 9} Se utilizaron 51 ovejas de la raza Suffolk con una edad promedio de 1.7 años, peso entre 70 y 85 Kg, así como condición corporal de 2.5 y 3.

Las ovejas se encontraban en un sistema de producción de tipo intensivo, con pastoreo diurno en praderas compuestas por Rye grass perenne, Orchard, Kikuyo, además de trébol blanco. Por la tarde son alojadas en corrales, donde se complementa la alimentación con heno de avena y concentrado comercial, proporcionando 3.05 mega calorías de energía metabolizable y 14.7 % de proteína cruda por kilogramo de materia seca.

Para verificar que las hembras se encontraban ciclando se detectó la presentación de celos conductuales, mediante machos receladores cubiertos con un mandil.^{5, 8}

El macho utilizado para la recolección del semen fue un Suffolk con arete número 121, de 4 años de edad, y un peso de 125 Kg.

5.3 TRATAMIENTO HORMONAL Y MANEJO DE LOS ANIMALES.

Las 51 ovejas se asignaron aleatoriamente en 2 grupos: al grupo esponja completa con 25 ovejas, se le aplicó un tratamiento de sincronización de 9 días con esponjas vaginales impregnadas con 20 mg de FGA (Chronogest-Intervet); al grupo media esponja con 26 ovejas, se le aplicó un tratamiento de sincronización de 9 días con esponjas de 20 mg de FGA cortadas a la mitad; para lo cual, las esponjas con 20 mg de FGA se cortaron en dos partes iguales usando una navaja de bisturí (número 21), y posteriormente a cada mitad se le amarró un hilo de algodón para facilitar su retiro, siendo similar a la presentación comercial.

Antes de la colocación de las esponjas, en cada oveja se lavó con agua tibia más antiséptico (Furacine, Siegfried Rhein) la región perivulvar y a las esponjas también se les impregnó el antiséptico.

Al retiro de las esponjas se les administraron a las ovejas de ambos grupos, 200 UI de eCG por vía intramuscular (Folligon, Intervet).^{5, 11, 14}

Se detectaron celos a las 24, 36, 48 y 60 horas posteriores al retiro de la esponja y la administración de la eCG, mediante el uso de machos enteros cubiertos con un mandil.^{5, 8}

5.4 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

RECOLECCIÓN, EVALUACIÓN Y DILUCIÓN DEL SEMEN

La recolección del semen de un macho de fertilidad probada se realizó antes de la inseminación artificial de las hembras, mediante el uso de una vagina artificial, que proporcionó al carnero el estímulo térmico (42-45°C) y mecánico (presión), imitando las condiciones naturales del depósito de semen en la vagina de la hembra. Al macho colectado se le hizo una previa limpieza del prepucio y momentos antes de que montara a la hembra, el pene erecto se desvió hacia la vagina artificial, procurando no tocarlo.^{51, 113}

El volumen del semen eyaculado fue de 3.7 ml, medido en un tubo colector graduado y después fue colocado en baño María a una temperatura de 30°C. Posteriormente se tomó una pequeña muestra del semen sin diluir y se colocó sobre un portaobjetos precalentado a 30°C, para observar al microscopio con el objetivo de aumento 10X (seco débil) y evaluar la movilidad espermática en masa, en una escala de 0 al 5.^{6, 11} Para la inseminación artificial se usó semen con una motilidad de 4. Se tomó también una muestra de semen para estimar la concentración espermática, mediante un hemocitómetro o cámara de Neubauer, y otra para diluirla con solución salina fisiológica y evaluar la motilidad progresiva en una escala de 0 a 100%.¹¹ Se usó semen con una motilidad progresiva del 90% y una concentración estimada en 3840×10^6 /ml. Después de la obtención de las muestras para su evaluación, el semen fue diluido inicialmente 1:1 en un diluyente comercial (OVIPRO, Minitübe, Alemania) preparado con 2ml de Ovipro, 18ml de agua bidestilada y 5ml de yema de huevo, filtrado y colocado en baño María a 30°C. Terminada la evaluación se hizo la dilución final del semen para envasarlo manualmente en pajillas de 0.25 ml, con una concentración de 100×10^6 de espermatozoides móviles.^{12, 113}

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL INTRAUTERINA

Con la finalidad de inseminar al mayor número de hembras posible, en un periodo de tiempo alrededor de la ovulación, se inseminaron únicamente a las ovejas que presentaron estro conductual entre las 24 y las 36 horas posteriores a la finalización del tratamiento de sincronización. Las ovejas se inseminaron entre 50 y 60 horas después de haber retirado el progestágeno.⁸

Las borregas fueron dietadas sin alimento ni agua 24 horas antes de la inseminación, y para ser inseminadas se tranquilizaron con hidrocloreuro de xilacina vía intramuscular, a una dosis de 0.45 mg/kg de peso y como anestésico se administró 1 mg/kg de peso de ketamina vía endovenosa. Previo a la inseminación, se les lavó con agua y jabón la región abdominal, misma que fue rasurada y desinfectada con alcohol y yodo.⁶ Las borregas a inseminar se colocaron en una camilla de inseminación, en posición de decúbito dorsal y los

miembros traseros levantados en un ángulo de 45° con la cabeza hacia abajo (posición de Trendelenburg modificada), con lo que se logró desplazar las vísceras hacia la parte craneal de la cavidad abdominal.^{6,7,8} Antes de la introducción del instrumental se hizo una pequeña incisión en la piel a la altura de la ingle derecha y dorsal a la ubre, por la cual se introdujo una aguja de Veress y se insufló a través de ella la cavidad abdominal con aire ambiental. Una vez insuflada la cavidad se hicieron dos incisiones en la pared del abdomen, aproximadamente a 4 cm anteriores a la ubre y a cada lado de la línea media: por la incisión del lado izquierdo se introdujo un trocar con cánula de 5 mm de diámetro y a través de ésta, se insertó un laparoscopio recto de 5 mm, mientras que por la otra incisión se colocó un segundo trocar con cánula de 5 mm, y a través de ésta mediante un bastón palpador, se acomodó el útero para posteriormente, introducir la pistola de inseminación con la pajilla y la funda o Aspic (Aspic, IMV-Francia). El aspic consiste en una funda con aguja con el diámetro y longitud adecuada para depositar el semen en la luz del útero. En la curvatura mayor de cada uno de los cuernos del útero se depositó una dosis de semen de 100×10^6 . Finalizada la inseminación se suturaron las incisiones con nylon (1-0) y las suturas fueron retiradas 10 días después.

Terminada la cirugía se administraron intramuscularmente 2 mg/kg de peso de meglumina de flunixin y 20,000 UI/kg de peso de penicilina G procaínica y estreptomicina durante 7 días, con el objetivo de prevenir una infección y/o complicaciones postquirúrgicas.^{6, 8, 7, 14, 130, 131}

Unas horas después de la inseminación de las ovejas, se les proporcionó agua y pastura en pequeñas cantidades y al día siguiente la alimentación regular.^{5, 29, 51, 113,}

5.5 DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

El diagnóstico de gestación se realizó entre los días 15 al 19 posteriores a la inseminación artificial, mediante la verificación del no retorno a estro, utilizando carneros enteros cubiertos con un mandil.⁵ A las hembras que no presentaron

estro conductual, se les realizó ultrasonografía de imagen y tiempo real empleando un transductor lineal de 5 Mhz, a los 45 días posteriores a la inseminación. A los animales que se les observó el útero ocupado con líquido, fetos y placentomas, fueron diagnosticados como gestantes.^{8, 9, 116, 120, 123, 124}

5.6 VARIABLES ESTUDIADAS

Presentación del estro conductual

Se determinó el porcentaje de ovejas que presentó celo entre las 24 y las 36 horas y aquellas que lo hicieron a las 48 horas o más, después de haberse finalizado el tratamiento de sincronización.

Fertilidad

Se determinó el porcentaje de fertilidad considerando las ovejas diagnosticadas como gestantes mediante ultrasonografía de imagen, en relación a las que fueron inseminadas.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Entre grupos se comparó el porcentaje de ovejas que presentó celo entre las 24 y las 36 horas, y aquellas que lo hicieron a las 48 horas o más, con una prueba exacta de Fisher. La proporción de ovejas inseminadas, así como el porcentaje de fertilidad alcanzado en cada grupo, se comparó mediante una prueba de Chi-cuadrada (Navarro, 1988).

VI. RESULTADOS

6.1 Presentación de estros

En el cuadro 1 se muestran el número y el porcentaje de ovejas en estro entre las 24 y las 36 horas, y aquellas que lo hicieron a las 48 horas o más, en relación a la finalización del tratamiento de sincronización, para cada uno de los grupos.

Cuadro 1. Presentación del estro conductual.

Horas a la presentación del estro	Esponja completa (n=25)	Media esponja (n=26)
Entre 24 y 36 horas	22/25 88.0% ^a	21/26 80.76% ^a
48 horas o más	3/25 12.0% ^a	5/26 19.23% ^a

^a Entre grupos, valores con la misma literal no son estadísticamente diferentes ($p > 0.05$).

6.1.1 Distribución de la presentación de los estros

En el cuadro 2 se muestran el número y el porcentaje de ovejas detectadas en estro a las 24, 36, 48 y 60 horas de finalizado el tratamiento de sincronización, para cada uno de los grupos.

Cuadro 2. Presentación del estro a las distintas horas de detección.

Grupo	24 horas	36 horas	48 horas	60 horas
Esponja completa (n=25)	10/25 40.0%	12/25 48.0%	2/25 8.0%	1/25 4.0%
Media esponja (n=26)	12/26 46.15%	9/26 34.6%	5/26 19.23%	0/26 0.0%

6.3 Fertilidad

En el cuadro 3 se muestran el número y el porcentaje de las ovejas inseminadas intrauterinamente con semen fresco, así como el número y porcentaje de las diagnosticadas como gestantes mediante ultrasonografía de imagen, el día 45 posterior a la inseminación artificial.

Cuadro 3. Ovejas inseminadas y fertilidad al diagnóstico de gestación.

Grupo	Ovejas inseminadas	Ovejas gestantes
Esponja completa (n=25)	22/25 88.0% ^a	15/22 68.18% ^a
Media esponja (n=26)	21/26 80.76% ^a	13/21 61.90% ^a

^a Entre grupos, valores con la misma literal no son estadísticamente diferentes ($p > 0.05$).

VII. DISCUSIÓN

En el presente trabajo el porcentaje de retención de esponjas fue del 100%. Se menciona que la pérdida de esponjas no debe superar el 1-2% ⁸, atribuyendo esta pérdida a una mala colocación de las esponjas.

En cuanto a la sincronización del estro, el empleo de media esponja impregnada con 20mg de acetato de fluorogestona más la aplicación de 200 UI de eCG (posterior al retiro), produjo resultados similares a los obtenidos con esponja completa, sin diferencias estadísticas significativas. El porcentaje que presentó estro fue del 100% en ambos grupos. Estos resultados son comparables con los obtenidos por Leuber (2003), quien obtuvo 100% en presentación de celos en cabras, sometidas a un tratamiento con esponja de 20 mg de FGA. ¹³²

Son varias las causas por las cuales una hembra puede no haber presentado estro; por ejemplo en los casos de animales pastoreando, las pasturas estrogénicas como sucede con algunos tréboles u otras leguminosas ricas en fitoestrógenos, la deficiencia de algunas vitaminas o minerales también se asocian a disfunciones ováricas, la deficiencia de fósforo en animales en pastoreo puede retrasar la pubertad, deprimir los signos de estro o eventualmente que cesen, también los niveles bajos de energía en hembras jóvenes en crecimiento pueden afectarlas suprimiendo los estros. ¹³³ Otro factor que puede afectar la presentación de celos son los estros silenciosos, cuando no obstante de producir una ovulación no viene acompañada de la manifestación conductual del estro, que comúnmente se manifiesta al inicio y final de la época reproductiva. ¹³³

En el presente trabajo los estros se concentraron entre las 24 y 36 horas de retirada la esponja para el grupo de media esponja y esponja completa, sin encontrar diferencias estadísticas significativas. Otros autores reportan la presentación de celos dentro de estas mismas horas en celos sincronizados. ^{9, 95,}

De acuerdo a los resultados del presente trabajo y de los de otros autores, al reducir la dosis del progestágeno existe una presentación de celos ligeramente anticipada.¹⁸

Robinson (1968), además de encontrar un incremento lineal en la presentación de celos conforme se aumenta las dosis entre 10, 20 y 30 mg de FGA 75.8%, 81.7%, y 83.3% respectivamente, observó que las de menor dosis entraron en celo con anterioridad.¹⁷ Pearce (1985), menciona que a una dosis mayor de progestágeno la presentación de celo se retrasa lo cual podría atribuirse a la existencia del progestágeno residual.¹³⁶

En hembras sincronizadas con FGA el intervalo del retiro del tratamiento a la presentación del estro y la ovulación es menor, si la comparamos con hembras sincronizadas con MGA, lo que puede indicar que el acetato de fluorogestona presente una eliminación rápida.³²

Al cortar la esponja a la mitad no se sabe a ciencia cierta cual es la dosis, se supone que son aproximadamente 10 mg de FGA, es por eso que la dosis menor es capaz de sincronizar el estro de las ovejas en época reproductiva. Este argumento es apoyado por los resultados obtenidos por Robinson (1968), que al usar dosis de 10, 20 y 30 mg de FGA con periodos de 8 a 16 días no encontró diferencias significativas para la presentación de celos.¹⁷

El uso de tratamiento a base de progestágeno por lo general va acompañado con una dosis única de eCG, el cual es un estímulo exógeno que incrementa la concentración de estrógenos, aumentado la tasa de ovulación y favoreciendo la fertilidad.⁶² Comparativamente, los porcentajes de gestación logrados mediante los tratamientos de dosis bajas de eCG, 200 y 300 UI, fueron semejantes a los obtenidos con dosis superiores, 400 y 500 UI.¹³⁷

Trabajos realizados por otros autores confirman que con el uso de eCG, los resultados de presentación del celo y fertilidad son mejores, a diferencia de los tratamientos donde no se utiliza la gonadotropina, ya sea con monta directa o inseminación artificial.^{59, 138} En un trabajo realizado en ovejas con el uso de 200 y

400 UI de eCG, se obtuvieron 76.6% y 96.7% de fertilidad respectivamente, a diferencia de 34.6% de los que no recibieron tratamiento de gonadotropina.¹³⁹

El porcentaje de fertilidad del presente trabajo fue de 61.9% para el grupo de media esponja y para el grupo de esponja fue de 68.18% sin encontrar diferencias estadísticas significativas. Los resultados de porcentaje de fertilidad fueron obtenidos mediante el uso de ultrasonido de tiempo real. La precisión en el diagnóstico de gestación empleado en el ultrasonido depende mucho de la habilidad del operador, ya que si no se tiene la habilidad suficiente puede llegarse a diagnosticar gestante una oveja vacía por confundirse la presencia del producto con otros líquidos detectables por el aparato.³

Otra de las causas por las cuales puede verse afectado el porcentaje de fertilidad, es la muerte embrionaria temprana, principal causa de la pérdida de gestación en los animales domésticos. En la oveja se ha observado que de 20 a 30% de los embriones mueren en los primeros 13 días postfertilización debido a factores genéticos y ambientales.¹⁴⁰ La principal causa de mortalidad embrionaria es la falla en el reconocimiento materno de la gestación, ya que en ovejas el mantenimiento de la gestación depende de que la secreción de la progesterona por el cuerpo lúteo se mantenga alta.^{141, 142} Para esto, el embrión debe de indicar al útero su presencia a través de la secreción de una proteína producida por las células trofoblásticas denominada proteína trofoblástica ovina (oTP-1), cuya función primordial es informar al útero la presencia del embrión para que el endometrio no secrete o para que cambie el patrón de secreción de la prostaglandina $F_2\alpha$ y por lo tanto se mantenga el cuerpo lúteo.¹⁴³ Para que se realice un adecuado reconocimiento de la gestación, la secreción de la oTP-1 debe ocurrir en las ovejas alrededor del día 13 después del estro-concepción.¹⁴⁴

Gracias a la existencia de un gran número de trabajos similares, tanto en ovejas como en cabras, los resultados de fertilidad obtenidos en el presente trabajo para los dos grupos, fueron mayores a los obtenidos por otros autores, cuya fertilidad varía entre el 40 y el 55%.^{112, 137, 144} Aunque también existen reportes, por ejemplo, en cabras sincronizadas durante 12 días con esponjas de 20 mg de FGA, que

indican una fertilidad mayor, de alrededor de 74.2%, al utilizar la misma dosis de semen de 100×10^6 por vía intrauterina, que en el presente trabajo.¹³² En otro trabajo realizado con ovejas Suffolk, sincronizadas con esponjas intravaginales de 40mg y 20mg de FGA más 200 UI de eCG e inseminación intrauterina alrededor de las 56-60 horas posteriores al retiro de la esponja, mediante laparoscopia y semen fresco a una dosis de 100×10^6 en 0.25 ml; obtuvieron 56.2% de fertilidad para los animales tratados con 40mg de FGA y 50% para los de 20mg de FGA, considerado como un resultado bajo, según la literatura.¹⁴⁵

La fertilidad obtenida en el presente trabajo, mediante esta técnica de inseminación es similar a la que indica la literatura, la cual debe ser mayor al 60%.^{9, 113} Incluso existen reportes de parámetros reproductivos de la raza Suffolk en rebaños tecnificados del Altiplano central donde la fertilidad promedio de esta raza es de 90.5%, con montas naturales. En ese sentido, los resultados de este trabajo están por debajo de este promedio.¹³³ Se supone que en el primer celo sincronizado a base de análogos de progesterona es generalmente de menor fertilidad, debido por un efecto adverso al tratamiento sobre el transporte espermático en el tracto reproductivo de la hembra.¹⁴⁶ Por lo que algunos autores recomiendan esperar el segundo celo.¹³⁷ Aunado a esto se menciona que la fertilidad se ve aumentada conforme avanza la época reproductiva.^{8, 9, 137}

Los resultados de fertilidad se ven influenciados principalmente por factores como la raza, edad de la hembra, técnica de inseminación artificial y dosis del semen. Por lo que el uso de media esponja impregnada aproximadamente de 10 mg de FGA más 200 UI de eCG es capaz de sincronizar el estro sin tener efectos significativos en la fertilidad.

VIII. CONCLUSIÓN

La utilización de media esponja con menor dosis (aproximadamente 10 mg) de FGA, vía vaginal durante 9 días fue capaz de sincronizar el estro entre 24 y 36 horas post retiro del tratamiento en un 80.76% de las ovejas y a las 48 horas en un 19.23%, considerando estos porcentajes como aceptables.

El reducir la dosis del progestágeno, no afecta la presentación de los celos sincronizados, ni la fertilidad de las ovejas inseminadas intrauterinamente con semen fresco a una dosis de 100×10^6 .

Además, el uso de media esponja, puede significar un ahorro importante cuando se inseminen grupos numerosos de borregas durante la época reproductiva. Finalmente, sería conveniente evaluar si el uso de media esponja de FGA es capaz de inducir la actividad sexual en hembras que se encuentren en anestro estacional.

Se sugiere evaluar si el uso de media esponja de FGA, es capaz de inducir la actividad sexual en ovejas en anestro estacional.

IX. Revisión bibliográfica

1. Buratovich F. Desarrollo de Sistemas Intensivos de Producción de Carne Ovina. En Actualización en Producción Ovina, INTA EEA Bariloche, 2000.
2. Vargas C. Inseminación intrauterina en ovinos. (Tesis de licenciatura). Departamento de Zootecnia Universidad Autónoma de Chapingo 1996.
3. Daza A. Reproducción y sistemas de explotación del ganado ovino. Ediciones Mundi Prensa 1997.
4. Thimonier J. Hormonal control of estrus cycle in the ewe. *Lives Prod. Sci.*; 1979, 6, 39-50.
5. Galina C, Valencia J. Reproducción de animales domésticos, segunda Edición. México Ed. Limusa 2006.
6. Durán A. Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos. Ed. Hemisferio sur, Uruguay, 2002.
7. Gibbons A. Manual de inseminación artificial en la especie ovina. Grupo de Reproducción del INTA. Bariloche, 2003.
8. Evans G, Maxwell WMC. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Ed. Acribia, España, 1990.
9. Hafez E. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª edición. España: Mc Graw Hill, 2000.
10. Ainsworth L, Shetha JNB. Effect of the type intravaginal progestagen treatment on estrous response and reproductive performance of ewes. *Theriogenology*. 1983; 869-875.

11. Córdoba A. Inducción y sincronización de celos en ovejas criollas anéstricas estacionales con esponjas vaginales impregnadas con FGA y PMSG inyectable. Arch. Zootec. 1999. 48: 437-440.
12. Greyling JPC, Erasmus JA, Taylor GJ, Van Der Merwe S. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season Small Rumin. Res. 1997; 26: 137-143.
13. Doney JM, Gunn RG, Horak F. Sheep and Goat Production World Animal Science, Production Systems. Elsevier, Amsterdam, 1982.
14. Fukui Y. Effect of timing of injection with pregnant mare's serum gonadotropin on fixed-time artificial insemination of seasonally anoestrous ewes. J. Agric. Sci. 1989. 113: 361-364.
15. Boscós C, Smartzi F. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. Theriogenology. 2002; 15; 58 (7): 1261-1272.
16. Porras A, Galina H. Inducción y sincronización de estros utilizando progestágenos. Memorias del Curso Internacional de Reproducción Bovina. México D.F., 1990: 126 - 142.
17. Robinson T, Quinlivan T, Baxter C. 1968. The relationship between dose of progestagen and method of preparation of intravaginal sponges on their effectiveness for the control of ovulation in the ewe. J. Reprod. Fertil. 17:471-483.
18. Allison A, Robinson J. 1970. The effect of dose level of intravaginal progestagen on sperm transport, fertilization and lambing in the cyclic merino ewe. J. Reprod. Fertil. 22:515-531.

19. Chávez J, Tapia C, Rosas M, Mejía O. Sincronización del estro con medias esponjas de acetato de fluorogestona y dosis reducida de eCG para la inseminación intrauterina de ovejas. XLII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 2006. Veracruz, México. pp 130-131.
20. Castro J, Hernández R, Mejía O. Fertilidad de corderas sincronizadas con 20 mg de FGA e inseminada intrauterinamente con semen fresco a tiempo fijo. XXXII Congreso Nacional de Buiatría 2008. Veracruz, México. pp 526.
21. Mejía O, Núñez J. Fertilidad de ovejas sincronizadas con una o dos esponjas de 20 mg de FGA inseminadas intrauterinamente con semen congelado. XXXII Congreso Nacional de Buiatría 2008. Veracruz, México. pp 501-505.
22. Martín S, Agar A, Palacín I. Eficiencia de CHRONOGEST ® 20mg LIBERACIÓN CONTROLADA en ovejas adultas con monta natural. Memorias de la SEOC-EXOPOL, 2007. España. pp 355-358.
23. Saharrea A. Manejo Reproductivo e Inseminación Artificial en Pequeños Rumiantes. Curso Teórico Práctico. 1997.
24. Hernández J. Manejo Reproductivo e Inseminación Artificial en Pequeños Rumiantes. Curso Teórico Práctico. 1997.
25. Vaillancourt D. La gestion de la reproduction chez les petits ruminants: le contrôle du cycle oestral. Le Médecine Vétérinaire du Québec. 33 (1-2): 43-49. 2003.
26. Viguié C. Regulation LHRH secretion by melatonin in the ewe. Biology of Reproduction. 52:1114 – 1120.
27. Malpaux B. Melatonin and the seasonal control of reproduction. Reproduction, Nutrition and Development. 1999. 39: 355-366.

28. Gómez GJ. El efecto de la naloxona sobre el comportamiento sexual de las borregas criollas con estro inducido durante la época de descanso reproductivo. (Tesis de Licenciatura) México; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1993.
29. Mc. Donald LA. Reproducción y Endocrinología Veterinaria, 4ª edición. Ed. Interamericana. México. 1989
30. Méndez LY. Inducción de la actividad ovárica de ovejas Suffolk en época de anestro mediante el uso de esponjas intravaginales impregnadas con acetato de fluorogestona. (Tesis de Licenciatura) México; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.
31. Chemineau P. Estacionalidad reproductiva en pequeños rumiantes: Mecanismos fisiológicos y técnicas para la introducción de una actividad sexual a contra sección. Tercer Congreso Nacional de Ciencias. ALEPRYCS. 2003.
32. Quispe QT. Estudio sobre el acetato de melengestrol para la sincronización e inducción de estro en ovejas, (Tesis de Doctorado), México; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1980.
33. Karsch FJ. Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for the timing seasonal reproduction in the ewe. Repr. Nut. Dev., 28: 459-472. 1988.
34. Bittman EL. Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. Endocrinology. 1983. 113: 329-336.
35. Steinlechner S y Niklowitz P. Impact of photoperiod and melatonin on reproduction in small mammals. Ann. Repr. Sci., 30: 1-28. 1992

36. Prieto B. Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotropinas. Mediografic. 2002. 45(6): 252-257.
37. Genuth S. Fisiología celular. 3ª edición. Ed. Doyma libros. España. 2003.
38. Clarke J. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. Endocrinology. 1982 3(5): 1137-1139.
39. Wildeus S. Current Concepts of synchronization estrus: Sheep and goats. American Society of Animal Science. 2000. 75 (suplement): 1-16.
40. Evans ACO, Duffy P, Hynes N, Boland MP. Waves of follicle development during the estrus cycle in the sheep. Theriogenology. 2000. 53: 699-715.
41. Baird DT. Inhibin and estradiol in the control of FSH secretion in the sheep. J Reprod Fert. 1991 43(Suppl): 125-138.
42. Evans ACO, Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. Reprod Domestic Anim. 2003 38: 240-246.
43. Viñoles C, Banchemo G, Rubianes E. Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cycling ewes with high and low body condition score. Theriogenology. 1999 51:437(abstract)
44. Valencia J. Manipulación del ciclo estral en la oveja. 1er Congreso Nacional de Producción Ovina, México, 1988.
45. Foster L, Jaffe B, Niswender D. Secuential patterns of circulating luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in female sheep from early postnatal life through the first oestrus cycles. Endocrinology, 1975. 97: 985-994.
46. Foster L, Karsch J. Development of the mechanisms regulating the preovulatory surge of luteinizing hormone in sheep. Endocrinology, 1975. 97: 1205-1209.

47. Karsch J, Foster L, Legan J, Ryan D. Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrus behavior during the sheep estrus cycle. *Biol. Reprod.* 1980, 23: 404-413.
48. Arendt J. How does melatonin control seasonal reproductive cycles? *Repr. Nut. Dev.* 1988, 28: 387-397.
49. Steve S. Reproductive Techniques in sheep. *Update On Small Rum Medic.* 2001, 17 (2). 435-453.
50. Ainsworth L. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestogens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. *J Anim Sci.* 1982, 54(6): 1120-1127.
51. Mejía O. Manejo Reproductivo e Inseminación Artificial en Pequeños Rumiantes. Curso Teórico Práctico, 2006.
52. Quispe QT, Zarco QL, Ortiz HA, Valencia MJ. Sincronización de estros en ovejas mediante un tratamiento corto con acetato de melengestrol (MGA) combinado con cipionato de estradiol (ECP). *Veterinaria México.* 1995; 26: 23-29.
53. Beck N. Estrus synchronization in ewes. *Anim Reprod Sci.* 1996, 62: 85-87.
54. Hernández AN. Comparación del efecto de inducción en la actividad ovárica entre ovejas Suffolk y Rambouillet en época de anestro mediante el uso de esponjas intravaginales impregnadas con Acetato de Fluorogestona más Gonadotropina coriónica equina (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1996.

55. Greyling JPC. Synchronization of estrus in sheep: The use of Controlled Internal Drug release (CIDR) dispenser. *South Afric Anim Sci.* 1987, 17: 128-131.
56. Legan JS, Karsch JF. Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biol Reprod.* 1979, 74-85.
57. Lamond DR. Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. *Animal Breed Abst.* 1964, 32: 269-285.
58. Zarco GL, Hernández CJ. Sincronización de estros en bovinos utilizando progestágenos. 7º Curso Internacional de Reproducción, A.C. México, 1997.
59. Bonilla VN. Sincronización de estros en ovejas tratadas con acetato de melengestrol (MGA) y gonadotropina coriónica equina (eCG) en un rebaño comercial en Apan, Estado de Hidalgo. (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1999.
60. Quispe QT, Zarco QL, Valencia MJ. Control artificial en la reproducción en la oveja. Memorias del curso de actualización en ovinos, Toluca, Edo. de México. INIFAP-SARH, FESC-UNAM, 1994.
61. Ferney J. La synchronisation del estrus chez les ruminants. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 26 (4) 61-69
62. Romano JE. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Rum Res.* 2005. (55): 15-19,
63. Pincus G, Cerril A. The role steroids in the control of mammalian ovulation. In: Villet CA, editor. *Control of ovulation.* Oxford, New Cork, London and Paris: Pergamon Press Ltd. 1961.

64. Cuevas EA, Rodríguez HV, Gutiérrez VR, Soto-Camargo R y Martínez RR. Sincronización en ovejas pelibuey con implantes nuevos y reciclados de norgestomet. *Veterinaria México*. 1993, 24: 327-330.
65. Devicenzi JCB, Caorsi CA, García PH, Algorta M, Gatica R, Correa J E. Utilización de un dispositivo intravaginal con progesterona: efectos sobre la sincronización de celo y respuesta superovulatoria en ovejas Corriedale en Uruguay. (En línea) 2002 disponible en: veterinaria.org/asociaciones/vet-uy/articulos/.../020/ov020bas.htm.
66. Day BN. Estrous cycle regulation. 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination; 1984, Illinois, USA University of Illinois at Urbana-Champaign. 1984, Vol. 4: 1-8.
67. Fuentes JL, Cognie Y, Lima T. The effect of estrus synchronization and mating season on the productivity of ewes. *Anim Zoot*. 1985, 33: 545-550.
68. Robinson TJ. Use of progestagen impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrus cycle in the sheep. *Nature*; 1965, 206: 39-4.
69. Crosby TF, Boland MP and Gordon I. Effect of progestagen treatments on the incidence of estrus and pregnancy rates in ewes. *Anim Reprod Sci*. 1991, 24: 109-118.
70. Greyling JPC, Kotze WF, Taylor GJ and Hagendijk WJ. Synchronization of estrus in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. *South Afric J Sci*. 1994 29 (1) 33-37.
71. Hamra AH, McNally JW, Marcek JM, Carlson KM and Wheaton JE. Comparison of progesterone sponges, chronolone sponges and controlled

- internal drug release device on fertility in anestrus ewes. *Anim Reprod Sci.* 1989, 18: 219-226.
72. Mier R. Evaluación de la fertilidad en ovejas inducidas a ovular en anestro estacional inseminadas intrauterinamente o por monta natural. (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1995.
73. Shackell J. The timing of estrus. LH surge and ovulation in ewes following synchronization with MAP sponges, FGA sponges or CIDR's. *Proceedings of the New Zealand Soc of Anim Prod.* 1991, 51: 73-77.
74. Hawk HW, Conley HH. Involvement of the cervix in sperm transport failures in the reproductive tract of the ewe. *Biol Reprod.* 1975, 13:322.
75. Quinlivan TD, Robinson TJ. Number of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen-treated ewe. *J Reprod Sci.* 1969 19: 73-86.
76. Martín, S., Agar, A. Eficiencia de CHRONOGEST® 20mg liberación controlada en ovejas adultas con monta natural. SEOC, España, 2007.
77. Haresing W. Producción ovina 1ª Ed. Editorial AGT. 1989.
78. Simonetti L, Blanco MR, Gardón JC. Estrus synchronization in ewes treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. *Small Rum Res.* 2000, 38: 243-247.
79. Herrera HL, Fieldman SD, Zarco L. Evaluación del efecto luteolítico de la prostaglandina F₂ α (PGF₂α) en diferentes días del ciclo estral de la borrega. *Veterinaria México.* 1990, 21 (2): 143-147.

80. Álvarez A. Sincronización del estro en la borrega pelibuey con la utilización de la prostaglandina $F_2 \alpha$ ($PGF_{2\alpha}$). *Técnica Pecuaria en México*. 1994, 32 (1): 25-29.
81. Naqvi S. Estrus synchronization response in Kheri ewes treated with prostaglandin $F_2 \alpha$. *J Anim. Sci.* 1998 68 (6): 564-565.
82. Acritopoulou S. Response of ewes to a single injection of an analogue of $PGF_{2\alpha}$ given at different stages of the estrus cycle. *J Reprod Fert.* 1980, 58 (1): 219-223.
83. Hackett A, Langfort G. Fertility of ewes after synchronization of estrus with $PGF_{2\alpha}$ and artificial insemination. *Theriogenology*. 1981 15: 4-6.
84. Hernández C, Valencia M. Regresión del cuerpo lúteo y presentación del estro en ovejas con dos inyecciones de prostaglandina con 8 días de intervalo. *Técnica Pecuaria en México*. 2001, 39 (1): 53-58.
85. Bretzlaff KN, Ott RS, Wetson PG and Hixon JE. Dose of $PGF_{2\alpha}$ effective for induction of estrus in goats. *Theriogenology*. 1981, 16: 587-591.
86. Parraguez V. Melatonina: Una Realidad en Medicina Veterinaria. *El Médico Veterinario, Chile*. 1996, 6: 16-17.
87. Dunstan ES, McPhee A, Williams D. Time of melatonin treatment in relation to ram introduction for optimum performance of ewes joined in spring and summer. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 1997, 17: 391-412.
88. Karsch F., Bittman E., Foster D., Goodman R. Legan S. and Robinson J. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Rec. Prog. Horm.* 1984, 40: 185-232.

89. Ronayne E, Jordan B, Quirke IF, Roche IF. The effect of frequency of administration of melatonin on the time of onset of the breeding season in anoestrus ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 1989, 18: 13-24.
90. Hanif M and Williams HL. The effects of melatonin and light treatment on the reproductive performance of yearling Suffolk rams. *British Vet. J.* 1991, 149: 49-54.
91. Nowak R., Rajkumar RR, Webley GJ, Rodway RJ. Effect of prolonged exposure to exogenous melatonin on the onset and end of the breeding season and on the growth rate of the ewe lambs. *Brit. Vet.* 1990, 146: 17-23.
92. Wilson PR, Walker IM, Bond DB., Middleberg A, Staples ID. Field evaluation of melatonin implants to advance the breeding season in 1-year old farmed red deer hinds. *N. Z. Vet. J.* 1991, 39: 23-28.
93. Freitas VJF, Baril G, Martin GB. Physiological limits to further improvement in the efficiency of estrus synchronization in goats. *Reprod. Fert. And Dev*, 1997, 551-557.
94. Dias F. Sincronização do estro, indução ovulação e fertilidade de ovelhas deslançadas após tratamento hormonal com gonadotropina coriônica equina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 2001, 53 (5): 618-623.
95. Huerta C. Sincronización del estro en ovejas, utilizando media esponja vaginal y esponja completa impregnada con acetato de fluorogestona (FGA). (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2007.
96. Ciriaco A. Efeito de diferentes doses de PMSG sobre la fertilidade de ovinos. *Anais da XXXIV Reunião da SBZ*, 1997.

97. Angulo M. R. Inseminación artificial con Semen Fresco. Curso Internacional de Manejo Productivo y Reproductivo en Ovinos. FedMVZ, 2003.
98. Ghalsasi P, Nimbkar C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. *Small Rum Res.* 1996, 23: 69-73.
99. Killen J. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. *Aust Vet J.* 1982 59: 95.
100. Eppleston J, Roberts E. The effect of progestagen, PMSG and the time of insemination on fertility in ewes following intrauterine insemination with frozen semen. *Aust Vet Jou.* 63, 4 April. 1986.
101. Martins K. Técnicas de inseminación artificial. Seminarios del programa de posgraduados en Medicina Veterinaria (UNESP), Campus de Botucatu. Brasil. 2003.
102. Amstrong DT, Evans G. Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. MRC Group in Reproductive Biology, University of Western Ontario, Canada. *J Reprod, and Fert.* 71: 89-94. 1984.
103. Evans, G. Current topics in artificial insemination of sheep. *Australian J Biol Sci.* 1988, 41: 103-116.
104. Taijaard T. the effect of the laparoscopic insemination technique on the oestrus cycle of the ewe. *Journal of the South African Vet Assoc.* 1991 62 (2): 60-61.
105. Aitken R. A note on conception rates and litter sizes following intrauterine insemination of ewes at an induced estrus during seasonal anoestrus. *Anim Prod.* 1990, 50: 379-382.

106. Johnston S. Laparoscopic intrauterine insemination in Barbary sheep. *Aust Vet J.* 2000 78 (10): 714-716.
107. McKelvey W. The evaluation of laparoscopic insemination technique in ewes. *Theriogenology.* 1985, 24: 519-535.
108. Mejía VO. Inseminación artificial intrauterina por laparoscopia. Curso Internacional de Manejo Productivo y Reproductivo en Ovinos. FedMVZ, 2003.
109. Ramírez M. modificación de la técnica de inseminación artificial intrauterina por laparoscopia en ovejas pelibuey. *Agrociencias.* 39: 589-593, 2005.
110. Nava G. Validación de métodos alternativos de inseminación artificial con semen congelado en lanares. Programa de servicios Agropecuarios, Sub-Programa de Transferencia de Tecnología, Ministerio de Ganadería y Agricultura y Pesca (MGAP), Regional Norte de la Universidad República Asociación Agropecuaria de Salto, 2003.
111. Radillo D. Inseminación artificial en ovinos: Estudio recapitulativo de 1981 a 1991. (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1992.
112. Romano J. Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination time of fertility and prolificacy in Corriedale ewes. *Small Rum Res.* 1996, 23: 157-162.
113. Mejía VO. Colección y valoración del semen. Curso Internacional de Manejo Productivo y Reproductivo en Ovinos. FedMVZ, 2003.
114. Bearden JH. Fuquay J. Reproducción Animal Aplicada. Ed. El Manual Moderno, México, 1982.
115. Calle R, Vivanco H.W. Manual de Inseminación Artificial en Ovinos. Universidad Nacional Agraria, Perú, 1976.

116. Sorensen AM. Reproducción Animal. Ed. Mc Graw- Hill, México, 1982
117. Wallace J. Artificial Insemination and Embryo Transfer. Progress in Sheep and Goat Research. C.A.B, 1992.
118. Williams H. Sheep Breeding and Infertility. Animal Breeding and Infertility. Blackwell Science Ltd, UK, 1995.
119. Quintinela L. Diagnóstico precoz de gestación por ecografía transrectal en la oveja. Archivo Zootecnista. 48: 13-20, 1990.
120. Olmos M. Comparación de la eficiencia de tres métodos de diagnóstico de gestación en ovinos. (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1999.
121. Ángeles SCC. Evaluación de la sensibilidad y efectividad del diagnóstico de gestación en ovejas por medio de la técnica del ultrasonido. (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1984.
122. Goel AK: Agrawal KP. A review of pregnancy diagnosis techniques in sheep and goats. 9: 255-264. 1992.
123. Arthur, G. H., Noakes D. E., Pearson, H. 1991. Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6ª ed. Interamericana McGraw-Hill. España.
124. Boyd J, Haibel GK. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 1990, 6 (3): 3-6.
125. Woo, J. A short History of the development of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. http://www.ob-ultrasound.net/site_index.html

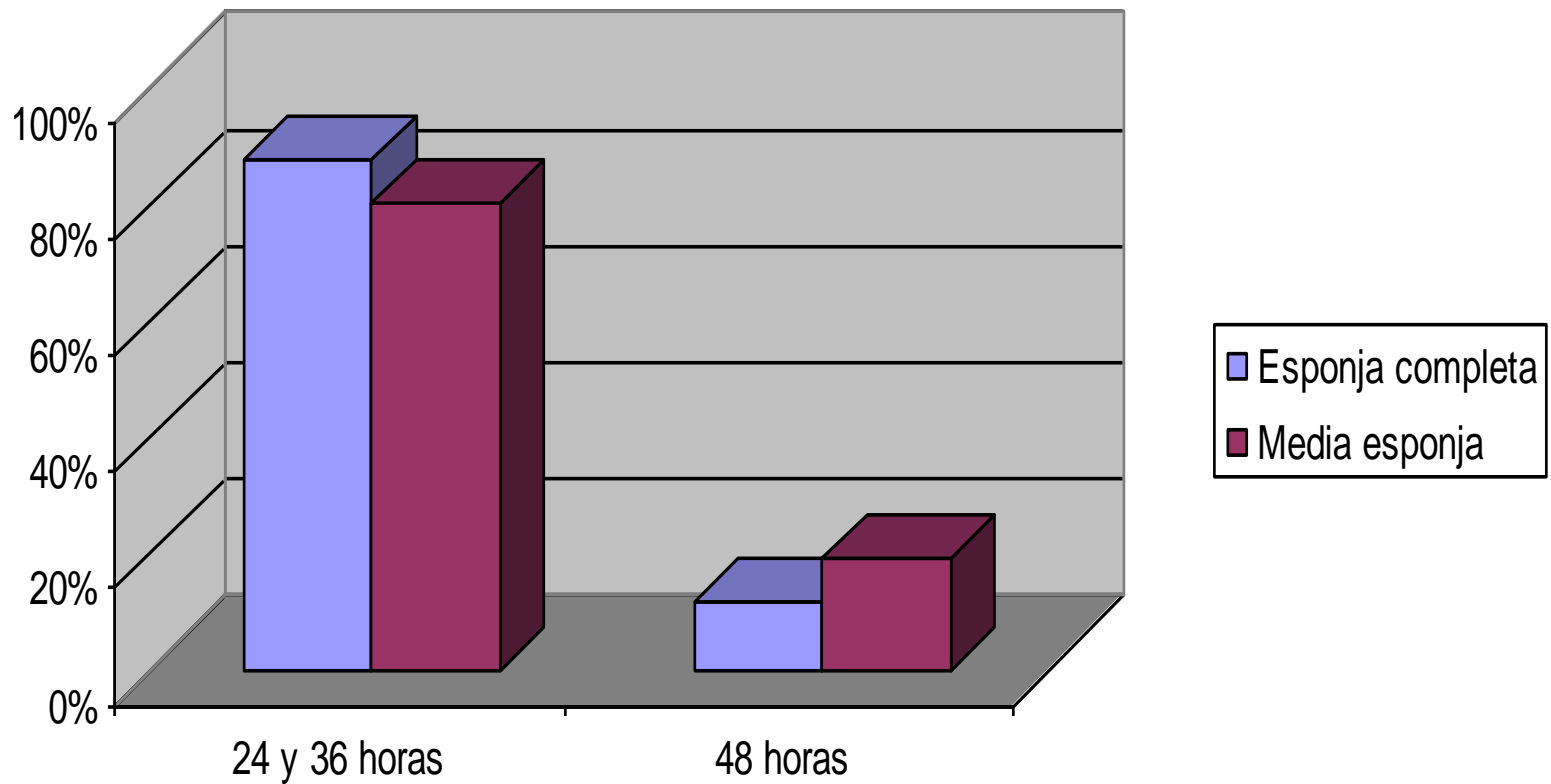
126. Schrick F.N., Inskoop E.K. Determination of early pregnancy in ewes using transrectal ultrasonography. *Theriogenology*. 1993, 40, 295-306.
127. Santiago, M.J., A. González B., M. García L., y A. López S. Valoración de estadios precoces de gestación en oveja y cabra mediante ecografía transrectal. *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.* 1995, 10 (1): 53-61.
128. García ME. Modificación del sistema de clasificación climática de Koopen 3ª Edición, FOCET Larios, México, 1981.
129. Red Nacional de Estaciones Estatales Agroclimáticas, INIFAP. <http://clima.inifap.gob.mx/red/clima/est.aspx?=35273>.
130. Sumano L. *Farmacología Veterinaria*. Ed. Mc Graw Hill. 2ª edición. México, 2003.
131. Donald C. *Veterinary Drug Handbook*. Third Edition. USA, 1999.
132. Leboeuf B, Forgerit Y, Bernelas D. Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of Oestrus, time of preovulatory LH Peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. *Theriogenology*. 2003, 60, 1371-1378.
133. Tron L. *Sistemas de apareamiento e inseminación artificial en ovinos*. UNAM. Cuatitlán 2004.
134. Hamra H, McNally W. Comparison of progesterone sponges. Cronolone sponges and controlled internal drug release dispense on fertility in anestrus ewes. *Anim Reprod. Sci.* 1989, 18:219-226.
135. Martínez J. Efecto de eCG e inseminación laparoscópica sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (Damara X Merino). *Revista Científica, FCV.LUZ* (2006) 1.72-77

136. Pearce T, Robinson J. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronised estrus. *J Reprod. Fert.* 1985; 75: 49-62.
137. Cueto M, Gibbons A. Efecto de la dosis de eCG en la inseminación intrauterina sistemática o con detección de estros, IFEA Asociación interprofesional para el desarrollo agrario (2002) 18, 440-442.
138. Zeleke M. Effect of progestagen and PMSG on estrus synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Rum Res.* 2005, 56: 47-53
139. Nancarrow D. Embryonic Mortality in the ewe and doe. In Sabih MT Geisert RD editors Boca Roton (FL) CRC Prees 1994, 79-97.
140. Garverick A, Zollers G, Smith F. Mechanims associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim Rreprod Sci.* 1992, 28: 111-124.
141. Mann E, Mann S, Lamming G. The Inter-relationship between the maternal hormonal environmental and the embryo during the early stages of pregnancy in the cow. *J Reprod Fert.* 1996, 55.
142. Lacroix C. Aspects of the antilutoelytic activity of the conceptus during early pregnancy in ewes. *J Anim Sci.* 1986, 63: 1449-1458.
143. Roberts M, Schaule T. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology.* 1990, 33: 175-183.
144. Colas G, Thimoner J. Fertilité, Prolificite, et fecundite pendant saison sexuelle. *Annales Zootecnia.* 1973, 22 (4) 441-451.

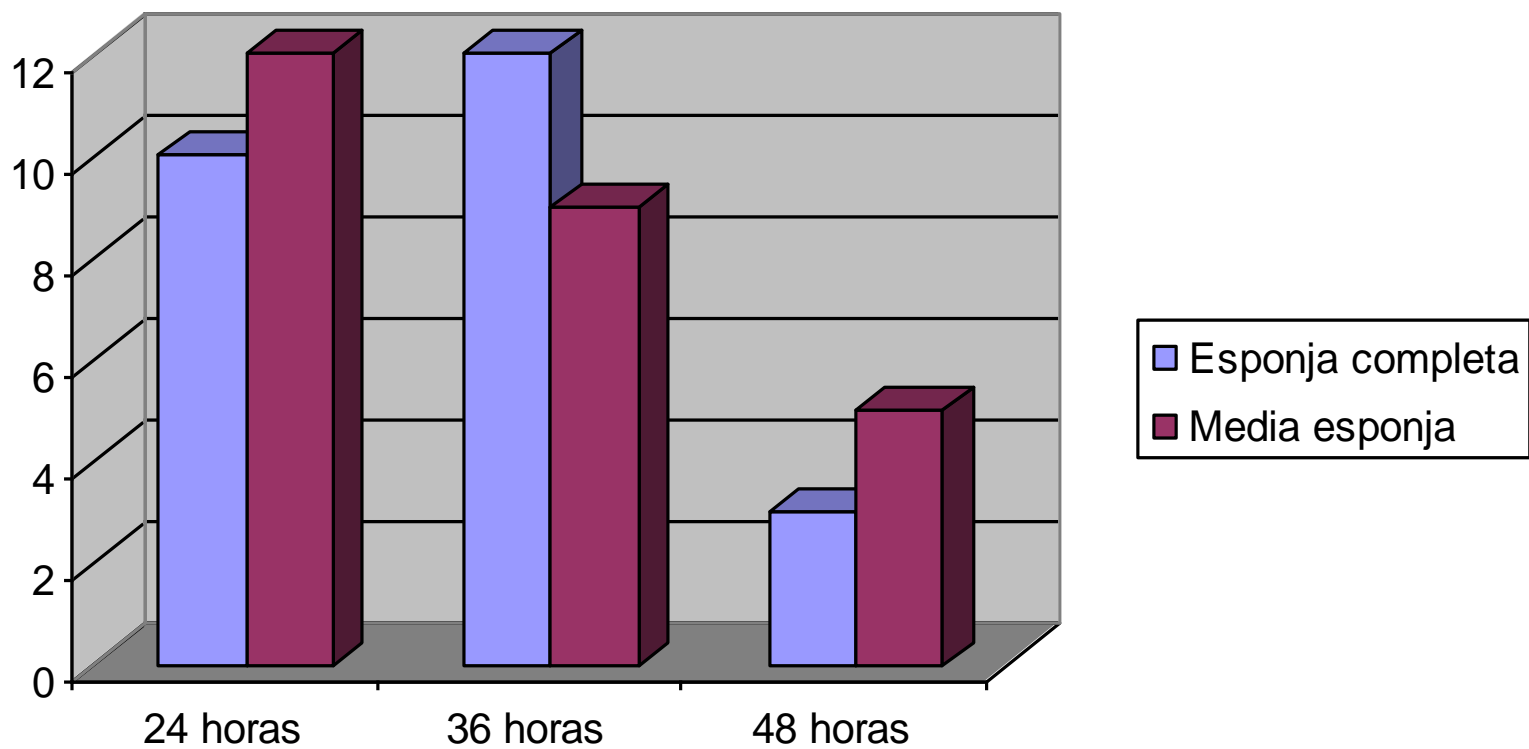
145. Chávez J. Evaluación de la fertilidad y prolificidad en ovejas Suffolk inseminadas intrauterinamente previa sincronización con media esponja impregnada con acetato de fluorogestona. (Tesis de Licenciatura), México (DF), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2007.
146. McDonald F, Barnel K. Modifying reproductive processes, Proc NZ Soc. Anim Prod Hamilton, New Zeland. 1998, 12: 220.

X. GRÁFICAS

Gráfica 1. Presentación de celo



Gráfica 2. Distribución de la presentación de los estros



Gráfica 3. Ovejas inseminadas y porcentaje de fertilidad al diagnóstico de gestación

