



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**DESARROLLO DE MÉTODOS LIMPIOS, VERDES Y
ÉTICOS PARA LA INDUCCIÓN DE LA ACTIVIDAD
OVÁRICA FÉRTIL EN OVEJAS SUFFOLK EN ANESTRO
ESTACIONAL**

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

ERIKA ELIZABETH MIGUEL CRUZ

TUTOR PRINCIPAL:
DR. LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO, FMVZ

COMITÉ TUTOR:
DRA. TERESA SÁNCHEZ TORRES ESQUEDA, PMDCPSA
DR. OCTAVIO MEJÍA VILLANUEVA, FMVZ

México D. F.

Agosto 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

Para mis padres que son mi ejemplo a seguir

ALFONSINA CRUZ ORTÍZ

VICENTE MIGUEL CRUZ

AGRADECIMIENTOS

A mis padres que siempre me han apoyado, como dicen en los buenos y malos momentos, siempre han estado ahí, este título es para ustedes.

A mis hermanos Diego y Oscar que también me ayudaron a llegar a esta meta, con una mención muy especial para Diego que me tuvo mucha paciencia y me cuidó mientras estaba manquita!!!

Al CONACYT por el financiamiento de mis estudios de maestría.

Al programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica PAPIIT, por el financiamiento de este proyecto, No. de proyecto IN 216712. “Desarrollo de métodos limpios, verdes y éticos para la inducción de actividad ovárica fértil en ovejas Suffolk en anestro estacional”.

A mis niñas Melissa y las 60 ovejas, además de Melvin, Patrick, Jason, Justin, Bratt, Aluche, Barry, Fisgón aunque tal vez participaron involuntariamente en el experimento, pero sin su cooperación no hubiera obtenido ningún dato.

Al Dr. Zarco por ayudarme a crecer profesionalmente, escucharme, ayudarme a mantener la calma, y sobre todo permitirme tomar el tiempo necesario para mi recuperación.

A los miembros de mi comité tutorial: Dr. Octavio Mejía por brindarme su amistad, darme valiosos consejos, orientarme y en algunas ocasiones llamarme la atención. Y a la Dra. Teresa Sánchez Torres Esqueda, por las valiosas observaciones para mejorar este trabajo.

A la Dra. Clara Murcia Mejía por su valiosa ayuda para la medición de las concentraciones de progesterona, además de siempre darme ánimos para terminar esta tesis.

A la Dra. Raquel Pérez, Dr. Álvaro López, Dra. Elize, Dra. Mariel, Soledad Oscasberro, por su hospitalidad y facilitar mi estancia en Uruguay, fue muy gratificante esa estancia en la que confirme que las ovejas son mi pasión.

A Oscar Aguayo y Anabel Maceda por ser los mejores ayudantes, fueron de mucha ayuda en los experimentales, sin ustedes no lo hubiera logrado, recuerden que es necesaria la vitaminaa!!!

Al personal del C.E.I.E.P.O., gracias por compartir sus conocimientos, en especial para el Dr. Martín por ser un gran ejemplo a seguir, al Dr. Flores por todos sus consejos; a la Dra. Rosy, Dr. Ortiz, Dr. Tapia, Dr. Ricardo, Dr. Beto, Dr. Julio, porque siempre me daban ánimos y buenos consejos.

A mis compañeros de maestría y colegas, Mónica, Gabriel, Angy, Karla, Gaby, Jazbeth, Esther, Paola, Vero, Magali, Paulina y Tania que siempre estuvieron dispuestos a ayudarme, escuchaban mis quejas, inquietudes o me acompañaban en los ratos de relajación y en los de histeria.

Y a todas las personas que me rodearon en estos años de estudio.

GRACIAS

RESUMEN

Desarrollo de métodos limpios, verdes y éticos para la inducción de la actividad ovárica fértil en ovejas Suffolk en anestro estacional.

El objetivo del trabajo fue desarrollar métodos que permitan inducir una ovulación fértil en ovejas Suffolk en anestro estacional sin utilizar hormonas esteroides. Se utilizaron 60 ovejas Suffolk adultas recién destetadas y en anestro estacional confirmado mediante determinaciones seriadas de progesterona. Todas las ovejas fueron expuestas a la presencia de machos (Suffolk, Dorset y Hampshire) durante 30 días a partir del día del destete (día 0). El grupo testigo no recibió ningún tratamiento hormonal. A los grupos GnRH-1 y GnRH-2 se les aplicó GnRH en el día 2. El grupo GnRH-2 recibió adicionalmente inyecciones de PGF_{2α} los días 7 y 8, y una segunda inyección de GnRH en el día 9. A partir del día 7 y hasta el día 36 se detectaron celos y se dio monta dirigida a las hembras que presentaron estro. La respuesta ovulatoria a los tratamientos y la duración del primer ciclo estral se determinó por medio de determinaciones seriadas de concentraciones de progesterona. Con excepción de la eficiencia en la detección de estros, que fue significativamente mejor en el grupo GnRH-1 que en el testigo ($p < 0.05$), en el resto de las variables no hubo diferencias significativas entre grupos, por lo que los resultados se presentan en forma global. El 90% de las ovejas presentó una elevación de progesterona en los primeros 8 días posteriores al destete y a la introducción de los machos. En treinta y tres ovejas la primera fase lútea fue de corta duración (1.7 ± 0.4 días) y en las otras 27 fue de duración normal (10.7 ± 0.4). El 81.2 % de las ovejas presentaron estro y fueron servidas. El estro se presentó después ($p < 0.05$) en las ovejas que iniciaron su respuesta con ciclos cortos. El índice de concepción promedio fue de 93.5%. En total 43 ovejas (71.6 % de las expuestas a machos) quedaron gestantes después de un solo servicio, lo que ocurrió en promedio 19.7 ± 0.9 días después del destete y la introducción de los

machos. La prolificidad general fue de 1.22 corderos por oveja. Se concluye que es posible inducir la ovulación en ovejas Suffolk en anestro estacional profundo mediante la aplicación de un efecto macho muy intenso con carneros de diferentes razas. La administración de GnRH no mejora la respuesta ovárica pero al parecer incrementa la eficiencia en la detección de estros.

Palabras clave: Efecto macho, anestro, GnRH, sin esteroides, estacionalidad

ABSTRACT

Development of clean, green and ethical methods for the induction of fertile ovarian activity in Suffolk ewes in seasonal anestrus.

The objective of this work was to develop methods to induce a fertile ovulation in seasonally anestrus Suffolk ewes without the use of steroid hormones. Sixty just-weaned adult Suffolk ewes were used. Their anestrus status was confirmed by serial determinations of progesterone. All the ewes were exposed to the presence of males (Suffolk, Dorset and Hampshire) for 30 days starting on the day of weaning (day 0). The control group did not receive any hormonal treatment. The ewes on the GnRH-1 and GnRH-2 groups were injected with GnRH on day 2. The GnRH-2 group additionally received injections of PGF_{2α} on days 7 and 8, and a second injection of GnRH on day 9. Estrus were detected from day 7 to day 36, and directed mating was given to females in estrus. The ovulatory response to treatment and the duration of the first estrous cycle were determined by serial measurements of progesterone concentrations. Except for the efficiency in estrus detection, which was significantly better in the GnRH-1 than in the control group ($p < 0.05$), no significant differences between groups were found in other variables, so the results are presented globally. An increase in progesterone concentrations occurred during the first 8 days after weaning and male introduction in 90% of the ewes. In 33 ewes the first luteal phase was of short duration (1.7 ± 0.4 days) and the other 27 ewes had a normal length first luteal phase (10.7 ± 0.4 days). The first estrus occurred later ($p < 0.05$) in ewes that began their response with short cycles. The average conception rate was 93.5%. Forty three ewes (71.6 % of the exposed ewes) were pregnant after a single service, which occurred on average 19.7 ± 0.9 days after weaning and the introduction of males. Prolificacy was 1.22 lambs per ewe. It is concluded that it is possible to induce ovulation in Suffolk ewes in deep anestrus by using an intense male effect using rams of different races. GnRH administration does not improve ovarian response but apparently increases efficiency in estrus detection.

Key words: Male effect, anestrus, GnRH, steroid-free, seasonality

LISTA DE CUADROS

		PÁGINA
Cuadro 1	Porcentaje de ovejas de cada grupo con respuesta ovárica "típica" consistente en un ciclo corto seguido por un ciclo estral de duración normal, o en un primer ciclo estral de duración normal.	42
Cuadro 2	Porcentaje de ovejas detectadas en estro en algún momento del estudio, porcentaje de ovejas detectadas en estro y servidas durante el periodo de empadre y eficiencia en la detección de estros en cada grupo.	44
Cuadro 3	Índice de concepción, índice de gestación, prolificidad y producción de corderos en cada grupo.	45
Cuadro 4	Intervalos a la primera y segunda elevación de progesterona, duración de la primera fase lútea, intervalos al estro y a la gestación e intervalo entre partos en el total de ovejas de cada grupo, sin tomar en cuenta el tipo de respuesta inicial a los tratamientos	47
Cuadro 5	Intervalos a la primera y segunda elevación de progesterona, duración de la primera y segunda fase lútea, intervalos al estro y a la gestación e intervalo entre partos en las ovejas de cada grupo que iniciaron su respuesta a los tratamientos con un ciclo de corta duración.	48
Cuadro 6	Intervalos a la primera y segunda elevación de progesterona, duración de la primera fase lútea, intervalos al estro y a la gestación e intervalo entre partos en las ovejas de cada grupo que iniciaron su respuesta a los tratamientos con un ciclo de duración normal.	49

CONTENIDO

	PÁGINA
RESUMEN	5
ABSTRACT	7
LISTA DE CUADROS	8
I. INTRODUCCIÓN	11
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1. Estacionalidad	15
2.2. Inducción de ovulación en época de anestro	18
2.2.1. <i>Tratamientos basados en el uso de progestágenos</i>	18
2.2.2. <i>Métodos “limpios, verdes y éticos”</i>	22
2.2.3. <i>Efecto macho</i>	24
2.2.3.1. Experiencia reproductiva de la hembra.....	29
2.2.3.2. Aislamiento previo de machos y hembras.....	29
2.2.3.3. Duración del contacto.....	30
2.2.3.4. Grado de estacionalidad de la raza.....	30
2.2.3.5. Actividad sexual de los machos.....	31
2.2.4. <i>Posible uso de GnRH para mejorar la respuesta al efecto macho</i>	31
2.2.5. Incorporación de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) a un doble tratamiento con GnRH.....	34
2.3 Justificación	37

2.4 Objetivos	37
2.4.1 <i>Objetivos específicos</i>	37
2.5 Hipótesis	38
III. MATERIAL Y MÉTODOS	39
3.1 Localización	39
3.2 Animales experimentales	39
3.3. Tratamientos	40
3.4 Análisis estadístico	41
IV.RESULTADOS	42
4.1 Respuesta ovárica	42
4.2 Presentación de estros y servicios	43
4.3 Eficiencia reproductiva	45
4.4 Tiempos e intervalos	46
V. DISCUSIÓN	50
VI. LITERATURA CITADA	57
VII. ANEXOS	75

I. INTRODUCCIÓN

En México la mayoría de las razas ovinas de origen europeo muestran actividad ovulatoria desde julio hasta enero o febrero (de Lucas *et al.*, 1997), permaneciendo sin ovular el resto del año. Esta estacionalidad reproductiva limita la productividad y provoca fluctuaciones estacionales en la oferta de carne ovina, en su precio y en los ingresos de los productores, además de que impide la obtención de más de un parto por oveja por año (Chemineau *et al.*, 2007). La raza Suffolk es una de las más utilizadas y apreciadas por los productores de la zona central de México. Desafortunadamente se caracteriza por tener una época reproductiva bastante corta (Arroyo *et al.*, 2007), teniendo el período de actividad reproductiva más corto de entre cinco razas estudiadas en el país (de Lucas *et al.*, 1997; Arroyo *et al.*, 2007).

Para mejorar la productividad ovina y el mercadeo de sus productos se han usado tratamientos hormonales para inducir la actividad ovárica durante la época en que los animales no ovulan (época de anestro). Estos tratamientos, basados en el uso de esponjas vaginales que liberan progestágenos sintéticos (Rhodes y Nathanielsz, 1988; Letelier *et al.*, 2009), o en el de dispositivos intravaginales que liberan progesterona (Rhodes y Nathanielsz, 1988; Knights *et al.*, 2001), resultan en la ovulación de una elevada proporción de los animales, obteniéndose índices de fertilidad adecuados (Knights *et al.*, 2001).

Sin embargo, la administración exógena de hormonas esteroides es fuente de preocupación debido a que este tipo de hormonas y sus metabolitos tienen una larga permanencia en la carne y en la grasa de los animales (Sun *et al.*, 2010), además de ser eliminadas en la orina y heces de los animales tratados, por lo que constituyen una fuente de contaminación ambiental (Letelier *et al.*, 2009; Martin *et al.*, 2004). Estas preocupaciones han ocasionado un cambio en las preferencias de los consumidores (Martin *et al.*, 2004), lo que ha llevado a que en algunos países

se impongan límites a las concentraciones de sus residuos en los productos de origen animal, por lo que varios progestágenos han sido descontinuados en la Unión Europea y su uso se ha limitado en los Estados Unidos (European Parliament, 2009; Letelier *et al.*, 2009).

Por esta razón, durante la última década se ha puesto énfasis en el desarrollo de métodos “limpios, verdes y éticos” (Martin *et al.*, 2004; Letelier *et al.*, 2009) para el control de la reproducción ovina. Uno de los métodos “limpios, verdes y éticos” más efectivos es el “efecto macho”, que consiste en la exposición de hembras en anestro a la presencia de machos, lo que provoca la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gonada para culminar en maduración folicular y ovulación. En México se ha demostrado el valor del efecto macho en razas ovinas poco estacionales, como la Columbia (de Lucas *et al.*, 2008) y la Pelibuey (Martínez *et al.*, 1998), y se han estudiado los factores que influyen en la respuesta a dicho efecto (Álvarez y Zarco, 2001). Sin embargo, el “efecto macho” es mucho menos efectivo en razas con marcada estacionalidad reproductiva, por lo que la profunda estacionalidad de la oveja Suffolk y su gran importancia como raza productora de carne en México y otros países induce a buscar métodos alternos o adicionales al “efecto macho” que continúen siendo “verdes y éticos”.

La inducción de ovulación en animales en anestro mediante la administración de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es una alternativa ecológica y de bajo riesgo, ya que se trata de una hormona polipeptídica de vida media muy corta (Schmitt *et al.*, 1996; Hayden, 2008) y que no deja residuos, ya que es completamente degradada a sus constituyentes básicos (aminoácidos) dentro del organismo del animal.

En los ovarios de la oveja en anestro estacional se producen continuamente oleadas foliculares, por lo que la mayoría de las ovejas en anestro estacional tienen en cualquier momento uno o más folículos ováricos en estado de desarrollo intermedio

o avanzado y con potencial para ovular si son expuestos al estímulo adecuado para su maduración final y ovulación (Bartlewski *et al.*, 1998). Por ello es posible provocar la ovulación de los folículos dominantes presentes en ovejas en anestro estacional mediante la administración de GnRH (Southee *et al.*, 1988; Beard y Hunter, 1994) o de hCG (Hernández-Cerón *et al.*, 1995; Zárata-Martínez *et al.*, 1995). La mayoría de las ovejas en anestro así tratadas ovulan dentro de las primeras 48 horas posteriores a la inyección. Sin embargo, dicha ovulación no es fértil porque resulta en la formación de un cuerpo lúteo que sufre regresión prematura en los primeros 5 días posteriores a la ovulación (Southee *et al.*, 1988; Zárata-Martínez *et al.*, 1995), lo que se debe a la falta de exposición previa a progesterona derivada del cuerpo lúteo de un ciclo estral anterior. La exposición previa a progesterona es importante para la regulación a la baja de los receptores para estrógenos en el endometrio. Al no ocurrir esta regulación a la baja se produce la aparición prematura de receptores para estrógenos, lo que induce la aparición prematura de un patrón luteolítico de secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ que resulta en la regresión prematura del cuerpo lúteo (Southee *et al.*, 1988; Hernández-Cerón *et al.*, 1995).

Se sabe que la administración de progestágenos antes de inducir la ovulación con GnRH durante la época de anestro evita la secreción prematura de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y la regresión temprana del cuerpo lúteo (Tasende *et al.*, 2005). Sin embargo, el esquema progestágenos-GnRH resulta una vez más en la administración exógena de una hormona esteroide, con los riesgos que sus residuos implican, por lo que no se puede considerar como una método "limpio y verde" de inducción de actividad ovárica.

Una alternativa puede consistir en aprovechar la progesterona endógena producida por el cuerpo lúteo de corta duración que se forma después de la inducción de una primera ovulación con GnRH durante la época de anestro, utilizándola como "sensibilizador" natural para que una segunda ovulación resulte en la formación de un cuerpo lúteo de duración normal. Esto es precisamente lo que ocurre en forma

natural cada año, cuando al iniciarse la época reproductiva se produce una primera ovulación seguida por un cuerpo lúteo de corta duración (L'Anson y Legan, 1988; Hernández-Cerón *et al.*, 1997). La progesterona producida por ese primer cuerpo lúteo, aunque está presente en pequeñas cantidades y durante un periodo corto de tiempo, es suficiente para sensibilizar al sistema y lograr que a partir de la segunda ovulación se formen cuerpos lúteos de duración normal (L'Anson y Legan, 1988). Por esta razón, en el presente trabajo se evaluará si después de la fase lútea corta que se produce al inducir una ovulación con GnRH o con efecto macho en ovejas Suffolk en anestro profundo, se produce en forma espontánea una segunda ovulación seguida por una fase lútea de duración normal.

Sin embargo, en ovejas en anestro profundo es posible que se produzca un retorno al estado de anestro al culminar la primera fase lútea corta, por lo que no se produciría una segunda ovulación en forma espontánea. En caso de ser así, una segunda inyección de GnRH aplicada siete días después de la primera podría inducir la ovulación de folículo(s) dominante(s) de la oleada folicular presente al momento de producirse la regresión del cuerpo lúteo de corta duración. En este caso sería necesario aplicar PGF_{2α} alrededor de 24 h antes de la segunda inyección de GnRH para asegurar la ausencia de cuerpos lúteos al aplicarse dicha inyección, ya que existe variabilidad natural en la duración de la primera fase lútea y algunas ovejas incluso presentan una primera fase lútea de duración normal (Martin *et al.*, 1986; Chemineau *et al.*, 2006). Por esta razón, uno de los tratamientos que se evaluará en el presente trabajo consiste en la combinación de efecto macho con la aplicación secuencial de GnRH-PGF_{2α}-GnRH, el cual será comparado con la combinación de efecto macho y una sola inyección de GnRH, así como con un grupo testigo expuesto solamente al efecto macho.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Estacionalidad

La reproducción es controlada por factores internos y externos. Entre los internos se encuentra el estado fisiológico, la genética, la edad y la experiencia del animal y en cuanto a los ambientales encontramos el fotoperiodo, la temperatura, la nutrición y las interacciones sociales (Gelez y Fabre-Nys, 2004).

Las ovejas se clasifican como animales con estacionalidad reproductiva ya que manifiestan un período de actividad reproductiva caracterizado por la presencia de varios ciclos estrales consecutivos seguido por un período de varios meses sin actividad ovárica (de Lucas *et al.*, 1997). Debido a esta estacionalidad, a lo largo del año hay variaciones en el comportamiento sexual y en la actividad gonadal de los animales. En el caso de los machos la espermatogénesis puede disminuir de manera moderada o muy marcada, dependiendo de su raza. En el caso de las hembras existen variaciones entre razas y entre individuos en la duración del período en el que las ovulaciones cesan completamente durante la época de inactividad reproductiva, pero aún durante la época reproductiva puede haber variaciones en la calidad de los gametos, así como una disminución en el porcentaje de fertilización y en la supervivencia de los embriones conforme se acerca la época no reproductiva (Chemineau *et al.*, 2007).

La estacionalidad reproductiva forma parte de un proceso de selección natural. Es un mecanismo de adaptación mediante el cual los mamíferos silvestres buscan minimizar el impacto negativo del ambiente (temperatura, humedad y disponibilidad de alimento) sobre la supervivencia de las crías (Thiéry *et al.*, 2002). La disponibilidad de alimento varía a lo largo del año, por lo que algunos animales desarrollan estrategias fisiológicas que les permiten acoplar eficientemente las altas demandas nutricionales de la reproducción y la cría con las épocas de mayor disponibilidad de nutrientes. Antes de reproducirse las hembras necesitan prever el

suministro de nutrientes en el futuro, ya que la demanda de nutrientes para la ovulación, fertilización y gestación temprana son mínimas y se cubren fácilmente, sin embargo las demandas nutricionales se incrementan fuertemente al final de la gestación y durante la lactación (Thiéry *et al.*, 2002; Martin *et al.*, 2004)

Estas estrategias reproductivas evolucionaron antes de la domesticación, por lo que aún están genéticamente programadas en los rumiantes domésticos actuales (Thiéry *et al.*, 2002; Katz, 2007). En las ovejas domésticas, independientemente del hemisferio donde se encuentren, la estación con mayor actividad reproductiva corresponde al otoño e invierno (de Lucas *et al.*, 1997; Rosa y Bryant, 2003), para que la demanda nutricional de la gestación tardía y la lactación se den en la primavera y el verano, cuando se espera que los recursos sean más abundantes. Por ello, durante la primavera y el verano la mayoría de las razas ovinas presentan un período de descanso en la actividad ovárica (anestro), aunque se mantengan con buena condición corporal. Las razas de ovejas domésticas originarias de latitudes mayores a 35° de latitud norte o sur presentan un anestro estacional más profundo y con duración aproximada de 5 a 8 meses. En contraste, algunas razas originarias de regiones meridionales tienen un período corto de anestro, y algunos individuos no suspenden su actividad ovárica, aunque aún en ellas existe variación estacional en la tasa de ovulación. Por ejemplo, en la raza Chios durante la época reproductiva su tasa de ovulación es de 4.0, mientras que en la época de anestro es de 2.0 (Chemineau *et al.*, 2010).

En México la mayoría de las razas de origen europeo muestran inactividad ovárica de febrero a junio (de Lucas *et al.*, 1997; Arroyo *et al.*, 2007), y dentro de ellas la raza Suffolk se caracteriza por tener una época reproductiva de corta duración y una época de anestro más larga en comparación con otras razas estudiadas en el altiplano del país (Arroyo, 2011). En cambio, en México las razas originarias de latitudes cercanas a la línea ecuatorial, como la Pelibuey, tienen un período de anestro menos profundo, que dura 3 meses o menos (Porrás *et al.*, 2003; Arroyo *et*

al., 2006), y en algunos individuos se pueden presentar ciclos estrales durante todo el año.

Los cambios en la duración del fotoperiodo modifican la secreción de melatonina. Esta hormona se secreta en las horas de oscuridad, por lo que la duración de la elevación nocturna de melatonina permite le indica a los animales en que época del año se encuentran. La información sobre la duración del fotoperiodo se integra en el hipotálamo, en una zona muy cercana al núcleo neuronal que controla la actividad del eje reproductivo (Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 2004).

En el caso de las ovejas, los días cortos estimulan la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y de la hormona luteinizante (LH) para lograr el desarrollo de folículos que lleguen a ovular en forma periódica (Karsch *et al.*, 1993). En cambio los días largos son inhibitorios porque aumenta la sensibilidad a la retroalimentación negativa ejercida por los estrógenos sobre el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997; 1998), lo que provoca una disminución en la frecuencia en la secreción de GnRH y LH. Esto evita que un folículo madure hasta el punto que se requeriría para producir estradiol en concentraciones lo suficientemente altas para generar un pico preovulatorio de LH para desencadenar la ovulación (Thiéry *et al.*, 2002; Chemineau *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2010).

La estacionalidad reproductiva tiene como consecuencia la variación estacional en la producción de carne de cordero y leche de oveja, por lo que se afecta la relación entre la oferta y la demanda de los productos, lo que impide la optimización de su transformación, distribución y comercialización. En consecuencia, al final de la primavera y el inicio del otoño hay sobre-oferta de corderos, lo que genera una disminución en su precio. Con el objeto de evitar estas fluctuaciones en el precio de la carne de cordero se han desarrollado diversos manejos reproductivos para inducir la ovulación en la época de anestro, lo que permite obtener corderos fuera de la época natural de partos y así incrementar la ganancia de los productores

(Chemineau *et al.*, 2007; Martin *et al.*, 2004; Chemineau *et al.*, 2010; Abecia *et al.*, 2012; Fleisch *et al.*, 2015).

En México la mayoría de los corderos que se producen son destinados a la engorda para abastecer la demanda de canales ovinas para barbacoa, por lo que se ha vuelto una necesidad del mercado tener empadres en diferentes épocas del año para tener corderos disponibles a lo largo del año. En el caso de las ovejas de lana, que presentan una estacionalidad más marcada, es un reto aún mayor lograr gestaciones fuera de la época reproductiva, por lo que se hace necesario realizar tratamientos hormonales para inducir la ovulación en la época de anestro (González-Godínez *et al.*, 2004).

2.2 Inducción de ovulación en época de anestro

Para contrarrestar la estacionalidad se usan métodos hormonales para inducir la ovulación y presentación de estros fértiles durante la época de anestro. Al hacerlo se debe buscar que tanto la expresión de los signos de estro como la fertilidad y los índices de ovulación sean comparables a los que se presentan en forma natural durante la época reproductiva (Wildevus, 2000; Titi *et al.*, 2010; Fleisch *et al.*, 2012).

Se han desarrollado diversos protocolos hormonales para la inducción de actividad ovárica en la época de anestro. Cada método tiene sus ventajas y desventajas, pero en general se busca que favorezcan el manejo reproductivo de los hatos, que concentren la actividad reproductiva en períodos cortos, que sean de fácil implementación para el ganadero, y que su costo sea rentable en términos de costo/beneficio (Wildevus, 2000; Knights *et al.*, 2002; Abecia *et al.*, 2012). Además, recientemente ha cobrado importancia la preocupación por el impacto ambiental y de salud pública que pudiesen tener los residuos de las hormonas empleadas para la inducción de actividad ovárica (Knights *et al.*, 2002; Martin *et al.*, 2004; Scaramuzzi *et al.*, 2008).

2.2.1 Tratamientos basados en el uso de progestágenos

Los tratamientos hormonales más populares y efectivos para el manejo reproductivo de los pequeños rumiantes, incluyendo tanto la sincronización del ciclo estral durante la época reproductiva como la inducción de actividad ovárica durante la época de anestro, se basan en la administración de progesterona o alguno de sus análogos sintéticos, los cuales se encuentran disponibles en diferentes presentaciones. Entre los más usados están las esponjas intravaginales que liberan algún análogo sintético de la progesterona como el acetato de fluorogestona (Hamra *et al.*, 1986) los dispositivos de aplicación intravaginal que liberan progesterona natural (Fleisch *et al.*, 2012), los implantes liberadores del análogo sintético norgestomet (Wildeus, 2000), y la administración oral de progestágenos sintéticos como el acetato de melengestrol (Quispe *et al.*, 1994; 1995b; Abecia *et al.*, 2012).

Los tratamientos basados en el uso de progestágenos permiten programar o sincronizar la actividad reproductiva de las hembras, lo que facilita la inseminación artificial (Quispe *et al.*, 1994) o el empleo de monta dirigida para mejorar la calidad genética del rebaño. Esto contribuye a compensar el costo de los tratamientos y a obtener una buena relación costo/beneficio (Martin *et al.*, 2004; Luther *et al.*, 2007; Scaramuzzi *et al.*, 2008).

Desde el punto de vista fisiológico, el objetivo de la administración de progestágenos es la simulación de una fase lútea durante la época de anestro, o la simulación de una prolongación de la fase lútea durante la época reproductiva. Mientras se esté administrando el progestágeno el sistema neuroendócrino del animal considerará que tiene un cuerpo lúteo funcional, lo que impedirá la secreción pulsátil frecuente de GnRH y LH, evitando de esta forma el desarrollo final de un folículo preovulatorio (Wildeus, 2000; Abecia *et al.*, 2012). Cuando se retira el progestágeno se deja de inhibir la secreción pulsátil de GnRH y LH, lo que permite la fase final de desarrollo de un folículo dominante en forma similar a lo que ocurre al producirse la regresión del cuerpo lúteo en la época reproductiva. La fase final de desarrollo folicular generalmente tiene una duración de 60-70 h a partir del retiro del progestágeno

(Bartlewski *et al.*, 2004; Emsen y Yaprak, 2006), período durante el cual el folículo preovulatorio produce cantidades crecientes de estradiol, que termina induciendo un pico preovulatorio de LH. La ovulación se produce entre 22 y 26 horas después de este pico de LH (Martin *et al.*, 1986; Bartlewski *et al.*, 2011).

Los dispositivos intravaginales que se consiguen comercialmente son las esponjas impregnadas con 20 mg acetato de fluorogestona (FGA) o con 60 mg de acetato de Medroxyprogesterona (MAP), además de un dispositivo neozelandés conocido como CIDR, fabricado con un elastómero de silicona médica que contiene 300 mg progesterona natural (Wildeus, 2000; Abecia *et al.*, 2012; Fleisch *et al.*, 2012). Estos dispositivos generalmente se colocan y se dejan en la vagina del animal entre 9 y 14 días para simular una fase lútea. Cuando se retiran, se desencadena un incremento en la frecuencia de los pulsos de GnRH y LH para estimular el crecimiento de folículos y elevar las concentraciones de estrógenos, que ejercen retroalimentación positiva sobre el hipotálamo para desencadenar el pico de LH y la ovulación (Wildeus, 2000). Cuando los progestágenos se utilizan de esta manera en la época reproductiva se logra la sincronización del estro y la ovulación en un período corto, lo que facilita la inseminación artificial o la monta dirigida.

Cuando los progestágenos se usan en la época de anestro son capaces de inducir la ovulación. Esta respuesta se favorece si el tratamiento con progestágenos se combina con la aplicación de gonadotropinas al retirar el progestágeno, lo que se debe a que en la época de anestro no siempre se observa un incremento adecuado en los pulsos de GnRH y LH después del retiro del progestágeno porque los estrógenos pueden seguir ejerciendo una retroalimentación negativa que evita el incremento en la frecuencia de los pulsos de LH (Knights *et al.*, 2002; Hawken *et al.*, 2007; Luther *et al.*, 2007).

El porcentaje de preñez que se puede obtener con el uso de progestágenos durante la época de anestro es variable debido a efectos de raza, dieta, etapa del anestro, etapa productiva, así como la fertilidad de los machos (Kaya *et al.*, 2013).

La gonadotropina más utilizada en combinación con los progestágenos es la gonadotropina coriónica equina (eCG), administrada en dosis de 450 a 600 UI al momento del retiro del dispositivo, esperándose la presencia de estros entre 24 y 72 h después. Con este tipo de tratamiento combinado se puede esperar que un 90% de las ovejas sincronizadas presenten estro, y que logren la gestación alrededor del 50% de estas (Wildeus, 2000; Knights *et al.*, 2002; Valasi *et al.*, 2007; Husein y Ababneh, 2008). Una de las desventajas del uso de la eCG en repetidas ocasiones en un mismo rebaño es la formación de anticuerpos contra la hormona, lo que tiene como resultado una disminución en la fertilidad (Al Yacoub *et al.*, 2011).

Otra combinación que se ha utilizado para inducir la ovulación en la época de anestro, es el uso de una esponja con MAP por 12 días, aplicando GnRH al retiro de la esponja. Con este tratamiento se logró adelantar la época reproductiva cuando se aplicó al final de la época de anestro, pero no fue efectivo cuando se aplicó en la época de anestro profundo (Wildeus, 2000).

Cuando se usan CIDRs generalmente hay un incremento en la concentraciones de progesterona en la circulación 2 h después de insertado el dispositivo, alcanzándose niveles de 2.1 ng/ml a partir de ese día, y manteniéndose alrededor de 2 ng/ml hasta por trece días. Existen diversos reportes donde se compara la efectividad de las esponjas y el CIDR, y en la mayoría de los trabajos se ha llegado a la conclusión que no hay diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de hembras que responden a cada tratamiento hormonal (Baril *et al.*, 1993). Sin embargo, se ha informado que con el uso de CIDR se logra una menor incidencia de vaginitis al momento del retiro del dispositivo en comparación con las esponjas.

El acetato de melengestrol (MGA) administrado por vía oral se ha utilizado para sincronizar el estro de ovejas en época reproductiva (Quispe *et al.*, 1994, 1995_a) y para inducir la actividad ovárica de ovejas en anestro (Quispe *et al.*, 1995_b). Esta hormona se administra una o dos veces al día mezclada en el alimento por un período de 7 a 14 días. Aunque se obtienen valores aceptables de presentación de

estros e índice de concepción, la variabilidad en la respuesta a los tratamientos con MGA oral es mayor que la obtenida con el uso de esponjas y dispositivos intravaginales (Quispe *et al.*, 1994, 1995a, 1995b; Wildeus, 2000). Esto puede deberse tanto a la imposibilidad de asegurar que cada oveja reciba la dosis adecuada de la hormona, como a diferencias entre animales en la velocidad de eliminación de la hormona presente en el tracto gastrointestinal (Wildeus, 2000). Al igual que con otros tratamientos basados en progestágenos, la eficiencia de los tratamientos para inducir actividad ovárica con MGA puede mejorar al combinarse con eCG (Quispe *et al.*, 1995b).

Wildeus (2000) reportó que si se combinan los progestágenos con el efecto macho se espera que entre el 10 al 75% de las ovejas presenten signos de estro. Por otra parte Knights *et al.* (2002), informaron que el uso de progestágenos combinados con efecto macho favorece la presentación de signos de estros en corderas pre-púberes. Evans *et al.* (2004) mencionan que el uso del efecto macho en la época reproductiva favorece la sincronización del estro y la ovulación, y encontraron una diferencia estadística en el número de ovejas que permitieron la monta dentro de las primeras horas después de retirado el progestágeno en comparación con las ovejas que no estuvieron en contacto con los machos.

2.2.2 Métodos “limpios, verdes y éticos”

A pesar de su efectividad, la administración exógena de hormonas esteroides ha generado preocupación debido a que este tipo de hormonas y sus metabolitos tienen una vida media muy larga en la carne y la grasa de los animales tratados (Sun *et al.*, 2010), además de ser eliminadas en orina y heces, lo que las convierte en una fuente de contaminación ambiental (Martin *et al.*, 2004; Letelier *et al.*, 2009).

Actualmente en muchos países existe una exigencia por parte de los consumidores para evitar el uso de hormonas y químicos en la producción de alimentos. Esto ha provocado cambios en las normas que regulan la importación y exportación de carne en diferentes países, las que son cada vez más exigentes con respecto a las

concentraciones residuales permitidas. Por esta razón recientemente se ha favorecido el desarrollo de métodos “limpios, verdes y éticos” (Martin *et al.*, 2004).

Entre las características que deben respetar los alimentos que se definen como “limpios”, es que la industria que generó ese alimento (carne o leche) no haya usado medicamentos, químicos u hormonas que dejen residuos, o en su defecto que se reduzca el uso a su mínima expresión. Por ejemplo, se permite el uso de medicamentos en caso de que el animal presente alguna enfermedad. Una de las ventajas de la producción de este tipo de alimentos es que tienen un precio mayor, siendo muy apreciados por los consumidores de productos orgánicos.

Para que un alimento sea considerado como “verde” se requiere que en su proceso de obtención exista el menor impacto sobre el medio ambiente en todos los eslabones de la cadena productiva, favoreciendo así la preservación de los recursos naturales como el suelo, el agua y la biodiversidad de la flora y fauna (Martin *et al.*, 2004).

Cuando nos referimos a alimentos “éticos” son aquellos provenientes de explotaciones que son conscientes de la importancia del bienestar animal, evitando la crueldad o maltrato hacia los animales y favoreciendo el uso de instalaciones en las que se permite que los animales tengan comportamientos propios de la especie (Martin *et al.*, 2004).

Para adaptar los principios de producción verde, limpia y ética a la producción ovina se pueden implementar manejos reproductivos que favorezcan un menor uso de hormonas y la optimización de los recursos disponibles. Una de las estrategias que pueden ayudar a tener un mejor control sobre los eventos reproductivos sin la utilización de hormonas esteroides, es el uso del efecto macho para lograr una sincronización natural de la ovulación e incrementar el índice de ovulación. Esta sincronización favorece la sobrevivencia y el crecimiento del recién nacido debido a que los partos se presentaran en un período más corto, lo que facilitará la atención de los partos y de las crías.

Otra estrategia enfocada al uso de métodos limpios, verdes y éticos, es el uso de suplementación alimenticia en momentos muy específicos de ciclo reproductivo para lograr un efecto positivo sin incrementar el costo de producción. Como ejemplos se puede mencionar la realización de un flushing (sobrealimentación) antes de inicio del efecto macho para incrementar los índices de ovulación, o la suplementación en el último tercio de la gestación para que exista un buen crecimiento del cordero y una buena producción de calostro. Otra estrategia, en el caso de la producción extensiva, es ubicar los nacimientos en los picos de producción de pastura para asegurar el correcto crecimiento de los corderos (Martin *et al.*, 2004; Scaramuzzi *et al.*, 2008).

2.2.3 Efecto macho

El efecto macho es un manejo reproductivo que ayuda a adelantar y/o a extender la época reproductiva de los pequeños rumiantes con un enfoque “limpio, verde y ético” (Martin *et al.*, 2004; Hawken *et al.*, 2007; Hawken y Martin, 2012; Valasi *et al.*, 2012). Entre las principales ventajas de este manejo reproductivo están la inducción y sincronización del estro y la ovulación durante la época de anestro sin utilizar hormonas exógenas (Hawken *et al.*, 2007; Ungerfeld, 2007). Además, se trata de un método de bajo costo y de fácil implementación para el manejo en grupo de las hembras, ayudando a incrementar la eficiencia reproductiva del rebaño. Con el efecto macho, y dependiendo de la estacionalidad del tipo de ovejas utilizadas, generalmente es posible adelantar o alargar la época reproductiva en alrededor de 4-6 semanas.

Además de inducir la actividad ovárica de las ovejas en anestro, con el efecto macho se logra concentrar los estros en un periodo corto, logrando también concentrar la época de partos y el destete de los corderos, lo que a su vez favorece la comercialización de los corderos en lotes más uniformes (Martin *et al.*, 2004).

Desde los años 60 se han llevado a cabo numerosas investigaciones para conocer mejor los efectos de las interacciones entre los integrantes del grupo social en diversas especies (Hawken y Martin, 2012). Gracias a estos estudios fue posible identificar que algunas interacciones son capaces de estimular o inhibir la actividad reproductiva, por lo que han sido consideradas como una estrategia evolutiva (Álvarez y Zarco, 2001). Se considera que este tipo de efectos son parte de la estrategia reproductiva de los ungulados silvestres y se han preservado pese a la domesticación de las especies (Álvarez *et al.*, 2003, 2007).

El efecto social de bioestimulación sexual que ha sido más estudiado y aplicado al manejo reproductivo de los ovinos es el “Efecto macho”, que se describió en ovinos por primera vez en la década de los cincuentas del siglo pasado (Schinkel, 1954; Eyal, 1958) como un efecto mediante el cual la exposición de hembras anéstricas a la introducción de machos resulta en el inicio anticipado de la actividad reproductiva. Posteriormente se demostró que esta respuesta se debía a que la presencia del macho estimulaba la secreción de gonadotropinas en la hembra (Knight *et al.*, 1978; Oldham *et al.*, 1979).

El efecto macho se podría definir como la respuesta fisiológica de una hembra en anestro estacional o prepuberal ante la exposición a uno o varios machos, lo que provoca la activación de eje hipotálamo-hipofisario-gonadal de la hembra, resultando en desarrollo folicular y ovulación. Con el efecto macho es posible adelantar la primera ovulación en ovejas prepúberes (Al-Maully *et al.*, 1991; Knights *et al.*, 2002; Valasi *et al.*, 2012), así como adelantar el inicio de la época reproductiva en ovejas adultas que se encuentren en anestro estacional (Knight y Lynch, 1980; Martin *et al.*, 1986; Ungerfeld, 2007).

Desde hace tiempo se sabe que el efecto macho es principalmente mediado por feromonas y otras sustancias olfatorias (Knight y Lynch, 1980; Gelez y Fabre-Nys, 2004; Hawken y Martin, 2012), aunque también participan estímulos visuales y auditivos (Álvarez y Zarco, 2001). Así, Knight y Lynch (1980) demostraron que es

posible provocar un incremento en los pulsos de LH en ovejas en anestro estacional mediante su exposición a lana o a extractos de lana provenientes de machos, por lo que no es indispensable el contacto directo hembras y machos para lograr una respuesta endocrina. Sin embargo, Pearce y Oldham (1988) reportaron que cuando las ovejas están en contacto directo con los machos hay una mejor respuesta que en las hembras que solo estaban en contacto con lana de carnero. Desde entonces se han realizado numerosos estudios para determinar el tiempo y la intensidad del estímulo que se necesita para provocar una buena respuesta en el rebaño (Delgadillo *et al.*, 2009).

Entre los componentes probables de las feromonas ovinas se ha mencionado al 1,2-hexadecanilol y el 1,2-octadecanediol, así como otros componentes neutros y ácidos (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1994). Recientemente se identificó al 4-etil-octanal como la feromona del macho cabrío que es directamente responsable del efecto macho en esa especie (Murata *et al.*, 2014). En el ovino aún no se ha identificado a la molécula responsable del efecto macho, aunque diversas evidencias sugieren que podría ser la misma o similar a la del macho cabrío, ya que la exposición de ovejas anéstricas a extractos de pelo de chivos resultó en activación de la secreción de LH (Ohara *et al.*, 2014).

Las señales olfativas son percibidas en los dos sistemas olfatorios que tienen los mamíferos, el sistema olfatorio primario y el sistema olfatorio accesorio. En ambos sistemas se perciben las señales químicas, que son analizadas e interpretadas en el cerebro, principalmente en las áreas preóptica, lateral y mediobasal del hipotálamo (Gelez y Fabre-Nys, 2004, 2006; Rosa y Bryant, 2002). Estos dos componentes del sistema olfatorio son importantes para la detección del olor del macho y generalmente actúan de manera sinérgica para obtener una respuesta endocrina favorable, que en el caso de las ovejas será incrementar la frecuencia de los pulsos de LH y favorecer la ovulación (Martin *et al.*, 1986).

El sistema olfatorio primario recibe la información recopilada por los receptores olfativos de la mucosa nasal, la información es procesada en los bulbos olfatorios primarios antes de ser enviada a otras áreas del cerebro (Gelez y Fabre-Nys, 2006; Hawken y Martin, 2012). Por otra parte, el sistema olfatorio accesorio tiene sus receptores en el órgano vomeronasal (VNO), que se localiza a ambos lados del tabique nasal y que una vez que percibe la señal la transmite al bulbo olfatorio accesorio (AOB), de donde viaja al hipotálamo y a regiones cercanas que regulan la secreción de GnRH, activando al generador de pulsos de esta hormona para permitir la activación del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal (Hawken y Martin, 2012).

La activación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario mediante el efecto macho toma en cuenta la integración de la información que se genera por la exposición al fotoperiodo y al estado nutricional en el cual se encuentra el animal, por lo que la respuesta a la presencia de los machos es distinta en diferentes momentos de la época de anestro o en hembras en diferente estado nutricional (Chemineau *et al.*, 2006; Chanvallon *et al.*, 2011).

La respuesta endocrina que se espera obtener después de la introducción de un macho a un grupo de ovejas anéstricas es un incremento en la frecuencia de los pulsos de LH debido a que el efecto macho provoca una disminución en la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa que ejercen los estrógenos durante la época de anestro (Rosa y Bryant, 2002, 2003; Chemineau *et al.*, 2006; Arroyo, 2011). Como consecuencia, a partir de la introducción de los machos, las hembras secretarán un pulso de LH cada 10 a 20 minutos durante un mínimo de 12 h, y solo después de 24 h se observa una disminución en la frecuencia de los pulsos (Martin *et al.*, 1986). Este patrón de secreción pulsátil es similar al que ocurre durante la fase folicular en la época reproductiva. Los pulsos frecuentes de LH estimulan el desarrollo folicular, por lo que se incrementan los niveles de estrógenos hasta que son lo suficientemente elevados para ejercer una retroalimentación positiva para generar el pico preovulatorio de LH, lo que en la

mayoría de las ovejas ocurre durante las 36 h siguientes a la introducción de los machos, con un rango de 6 a 54 h (Gelez y Fabre-Nys, 2004; Chemineau *et al.*, 2006).

Un factor limitante para el uso del efecto macho es que existe variabilidad en la forma en que diferentes hembras responden a él (Delgadillo *et al.*, 2009; Chanvallon *et al.*, 2011). A partir de las 48 h después de la introducción de los machos se puede esperar que ocurra la primera ovulación, que en el ovino invariablemente es silenciosa (sin signos de estro) debido a que el sistema nervioso no ha estado expuesto a la progesterona de un ciclo previo (Rosa y Bryant, 2002; Gelez y Fabre-Nys, 2004; Chemineau *et al.*, 2006).

Por la misma falta de exposición a progesterona de un ciclo previo, en muchos casos, pero no siempre, el cuerpo lúteo que se forma después de la primera ovulación inducida por el efecto macho sufre una regresión prematura (Gelez y Fabre-Nys, 2004; Chemineau *et al.*, 2006; Ungerfeld, 2007). Después de esa regresión prematura se produce una segunda ovulación, también silenciosa pero seguida por la formación de un cuerpo lúteo de duración normal (Gelez y Fabre-Nys, 2004; Chemineau *et al.*, 2006; Ungerfeld, 2007). Debido a esto, si la primera fase lútea fue de corta duración el estro se presentará hasta la tercera ovulación, alrededor de 25 días después de la introducción de los machos. En cambio, si la primera ovulación fue seguida por la formación de un cuerpo lúteo de duración normal, el estro se presentará durante la segunda ovulación, aproximadamente 19 días después de la introducción de los machos (Chemineau *et al.*, 2006; Ungerfeld, 2007; Chanvallon *et al.*, 2011). Además de la variabilidad en el tiempo de respuesta, dependiendo de si la primera ovulación fue seguida o no por un cuerpo lúteo de corta duración, hay ovejas que no responden al efecto macho y otras que regresan al estado de anestro después de la primera o la segunda ovulación (Chanvallon *et al.*, 2011). Por ello el uso del efecto macho por sí solo, aunque es útil para inducir la actividad ovárica en hembras anéstricas, no resulta en una respuesta tan efectiva ni tan precisa como la que se logra con la utilización de progestágenos.

Para mejorar tanto la eficiencia como la precisión de la respuesta al efecto macho es conveniente tomar en cuenta los diversos factores que pueden afectar la respuesta neuroendocrina de las hembras. Entre los más importantes tenemos los siguientes:

- 2.2.3.1 Experiencia reproductiva de la hembra - En algunos reportes se señala que las ovejas primíparas que son expuestas por primera vez a los machos no presentan el característico incremento en la frecuencia de los picos de LH en comparación con ovejas múltíparas, en las cuales si se observa inmediatamente el incremento de los pulsos de LH (Chanvallon *et al.*, 2009). Gelez y Fabre-Nys, (2004) mencionan que las ovejas con experiencia reproductiva presentarán una mayor activación de los neuroreceptores en el VNO y el AOB cuando están en contacto con los machos. En este sentido, existen diversas evidencias de que la respuesta a feromonas y estímulos olfatorios en mamíferos puede estar en parte condicionada al establecimiento previo de un reflejo condicionado (Griffiths y Brennan, 2015).
- 2.2.3.2 Aislamiento previo de machos y hembras - Tradicionalmente se ha considerado que para que las hembras respondan al efecto macho deben haber estado previamente aisladas por completo de la presencia de machos. Por ejemplo, Oldham y Lindsay (1980), indicaron que se requerían por lo menos 17 días de aislamiento para obtener una respuesta en la mayoría de las hembras al momento de la reintroducción de los machos. Martin *et al.* (1986) mencionaron que con 21 días de aislamiento es suficiente para que el efecto macho sea eficiente. Recientemente, en trabajos realizados en cabras se encontró que en realidad no se requiere de aislamiento previo entre machos y hembras, siempre y cuando el macho o los machos utilizados como bioestimuladores sean diferentes a los que han estado previamente en contacto con las hembras, es decir, el efecto macho se produce en respuesta a la presencia de un macho “novedoso” (Delgadillo *et al.*, 2009). Por ello,

para favorecer la respuesta de las hembras al efecto macho, es importante ocupar machos que las hembras no reconozcan como familiares o pertenecientes a su rebaño, obteniéndose una mejor respuesta si los machos son “novedosos”.

- 2.2.3.3 Duración del contacto - Un factor que se debe considerar en la respuesta de las hembras al efecto macho es el tiempo durante el cual se mantienen en contacto con los machos a partir de la exposición inicial. Diversos autores mencionan que 6 h son suficientes para provocar incrementos en la frecuencia de los pulsos de LH y lograr la ovulación, pero se sabe que si se retiran los machos las concentraciones de LH volverán a los niveles basales, lo que evitará una segunda ovulación con signos de estro, teniendo una mayor probabilidad de regresar al anestro. En cambio, si el estímulo de la presencia de los machos permanece después de la ovulación se podrá maximizar el número de ovejas que presenten una segunda o tercera ovulación acompañada de signos de estro (Ungerfeld *et al.*, 2004; Alnimer *et al.*, 2005; Kenyon *et al.*, 2007). Rosa y Bryant (2002, 2003) mencionan que el tiempo que el macho se encuentra con las hembras influye en el número de ovejas que ovularán, por lo que si las ovejas se exponen al macho por 24 h, 4 o 13 días la ovulación aumentara de un 20 % a un 51% y 61 % respectivamente.
- 2.2.3.4. Grado de estacionalidad de la raza - De las variables más estudiadas y que tienen gran influencia en la respuesta al efecto macho es el grado de estacionalidad de las ovejas utilizadas. Diversos autores mencionan que es posible inducir la ovulación en las ovejas que son muy estacionales, pero para ello es necesario que estén a la mitad o al final de su época de anestro, para que presenten un incremento en la frecuencia de los pulsos LH que permita el crecimiento del folículo dominante hasta llegar a la ovulación (Chemineau *et al.*, 2010). Así, existen reportes de ovejas de la raza Suffolk y Hampshire en anestro estacional que al ser expuestas al contacto con

hembras ciclando (efecto hembra) simultáneamente al efecto macho respondieron a este último cuando la estación reproductiva no estaba muy lejana (Rodríguez-Iglesias *et al.*, 1991). En las razas menos estacionales se obtiene una mayor respuesta al efecto macho, además de que pueden ser capaces de responder en cualquier parte de la época de anestro (Rosa y Bryant, 2003; Ungerfeld, 2007).

- 2.2.3.5. Actividad sexual de los machos - Es importante que los machos que se ocupen para la bioestimulación se encuentren sexualmente activos debido a que hay una correlación positiva entre la cantidad de testosterona y la secreción de feromonas por parte de los machos, lo que hace que los machos sexualmente activos sean más eficientes para la estimulación de las hembras en comparación con machos con bajo libido o que estén en su estación no reproductiva. En cabras se han realizado diversos experimentos que demuestran que es posible “activar” machos durante la época de anestro mediante su exposición previa a un fotoperiodo estimulador (Delgadillo *et al.*, 2009, 2015). Además existen factores como el nivel de nutrición del macho, la edad y la experiencia sexual, lo cual tiene una repercusión directa en la cantidad de feromonas que secreta (Rosa y Bryant, 2002; Ungerfeld, 2007).

Aun controlando los factores mencionados anteriormente, continúa existiendo variación individual en la respuesta al efecto macho, por lo que es conveniente explorar la posibilidad de combinar este efecto con el uso de hormonas que por su naturaleza no dejen residuos en los productos de origen animal o en el ambiente. Dos hormonas con estas características son la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$). La primera podría facilitar el desarrollo folicular y sincronizar la ovulación en respuesta al efecto macho, y la segunda podría homogeneizar la respuesta al usarse de forma que garantice una todos los animales inicien su actividad ovárica con un ciclo estral de corta duración en respuesta al efecto macho.

Possible Uso de GnRH para mejorar la respuesta al efecto macho

Como se mencionó en secciones anteriores, no todas las ovejas en anestro ovulan en respuesta a la exposición al efecto macho, por lo que es necesario buscar alternativas para lograr una respuesta óptima. Una de esas alternativas sería combinar el efecto macho con la administración de GnRH para asegurar la ovulación de las ovejas expuestas a los machos. Para ello, es conveniente tomar en cuenta que en diversas especies, la administración exógena de hCG o de GnRH induce el desarrollo y la ovulación de los folículos dominantes presentes en los ovarios durante la primera oleada folicular que se produce después de una ovulación (Schmitt *et al.*, 1996; Wallace *et al.*, 2011), a pesar de que se trata de folículos que normalmente no estarían destinados a ovular.

Desde hace tiempo se sabe que es posible provocar la ovulación de los folículos dominantes presentes en ovejas en anestro estacional mediante la administración de GnRH (Southee *et al.*, 1988; Beard y Hunter, 1994) o de hCG (Hernández-Cerón *et al.*, 1995; Zárate-Martínez *et al.*, 1995). Estas hormonas son una alternativa ecológica y de bajo riesgo ya que son hormonas polipeptídicas de vida media muy corta (Schmitt *et al.*, 1996; Hayden, 2008) y que no dejan residuos debido a que son degradadas a aminoácidos (ambas) y carbohidratos (hCG). Aunque ambas hormonas son efectivas para inducir la ovulación en ovejas en anestro, el uso repetido de hCG puede provocar el desarrollo de inmunidad, con la consiguiente pérdida de eficacia (Duchamp *et al.*, 1987), mientras que el uso de GnRH no ocasiona inmunidad (Schmitt *et al.*, 1996), por lo que en este trabajo se decidió utilizar GnRH.

La mayoría de las ovejas en anestro tratadas con GnRH o hCG ovulan dentro de las primeras 48 horas posteriores a la inyección. Sin embargo, dicha ovulación no es fértil porque resulta en la formación de un cuerpo lúteo que sufre regresión

prematura en los primeros 5 días posteriores a la ovulación (Southee *et al.*, 1988; Zárate-Martínez *et al.*, 1995; Emsen y Yaprak, 2006).

La fase lútea de corta duración que se presenta después de inducir la ovulación en ovejas en anestro se caracteriza por una elevación en las concentraciones de progesterona sérica a más de 0.5 ng/ml, que regresan a niveles basales dentro de los primeros 6-7 posteriores a la ovulación (Johnson *et al.*, 2011; Brown *et al.*, 2014). Esta regresión prematura del cuerpo lúteo es consecuencia de la liberación anticipada de la PGF_{2α} debido a que la ausencia de progesterona de un ciclo previo provoca que en el endometrio aparezcan en forma prematura receptores para estrógenos. Como consecuencia de la aparición prematura de receptores para estrógenos se produce la aparición prematura de un patrón luteolítico de secreción de PGF_{2α} (Southee *et al.*, 1988; Hernández-Cerón *et al.*, 1995; 1997), lo que resulta en la regresión del cuerpo lúteo que apenas se estaba formando.

Debido a que la regresión prematura del cuerpo lúteo que se produce después de inyectar GnRH a ovejas en anestro o después de exponer este tipo de ovejas a la presencia del macho se debe a la falta de progesterona de un ciclo previo, es posible evitarla si antes de inducir la ovulación con GnRH se aplica un tratamiento corto con progesterona (Hunter *et al.*, 1986; Tasende *et al.*, 2005), o si antes de introducir los machos al rebaño se aplica un tratamiento con progestágenos por unos cuantos días (Emsen y Yaprak, 2006; Rodríguez-Iglesias *et al.*, 2013). Sin embargo, el esquema progestágenos-GnRH resulta una vez más en la administración exógena de una hormona esteroide, con los riesgos que sus residuos implican.

Una alternativa consiste en aprovechar la progesterona endógena producida por el cuerpo lúteo de corta duración que resulta de la inducción de una primera ovulación durante la época de anestro, utilizándola como “sensibilizador” natural para que una segunda ovulación resulte en la formación de un cuerpo lúteo de duración normal. Esto es precisamente lo que ocurre en forma natural cada año, cuando al iniciarse la época reproductiva se produce una primera ovulación seguida por un cuerpo lúteo

de corta duración (L'Anson y Legan, 1988; Hernández-Cerón *et al.*, 1997). La progesterona producida por ese primer cuerpo lúteo, aunque está presente en pequeñas cantidades y durante un período corto de tiempo, es suficiente para sensibilizar al sistema y lograr que a partir de la segunda ovulación se formen cuerpos lúteos de duración normal (L'Anson y Legan, 1988).

El cuerpo lúteo formado después de una ovulación inducida con hCG o GnRH durante la época de anestro produce progesterona durante unos cuantos días y deja de funcionar entre el día 4 y 6 post-inyección (Hernández-Cerón *et al.*, 1995), en forma muy similar a lo que ocurre durante la primera ovulación natural de la época reproductiva, por lo que después del día 5 o 6 post-inyección (día 3 a 4 post-ovulación) hay ausencia de progesterona y puede haber la presencia de nuevos folículos en diverso estado de desarrollo (Bartlewski *et al.*, 1998). En algunas ovejas, sobre todo si están expuestas al efecto macho, se puede generar una segunda ovulación a partir de estos folículos, pero en un porcentaje variable de los animales esto no ocurrirá y regresarán al anestro. Una segunda inyección de GnRH aplicada al terminar la primera fase lútea corta, cuando los folículos tengan un estado adecuado de desarrollo, podría garantizar la ocurrencia de la segunda ovulación. Sin embargo, también es posible que en algunas ovejas se produzca una fase lútea de duración normal después de la ovulación inducida con la primera administración de GnRH, lo que impediría que esa oveja estuviera en posibilidad de responder en forma adecuada a la segunda administración de la hormona, que en este caso se estaría inyectando cuando la oveja tiene un cuerpo lúteo funcional. Por esta razón, podría ser conveniente aplicar una dosis de PGF_{2α} antes de aplicar la segunda inyección de GnRH con el objeto de asegurar la ausencia de cuerpo lúteo al realizar el segundo tratamiento con GnRH.

2.2.5 Incorporación de PGF_{2α} a un doble tratamiento con GnRH

La PGF_{2α} es la hormona que al final del ciclo estral destruye el cuerpo lúteo (luteólisis), lo que permite el desarrollo de la fase folicular del ciclo que culmina en

la ovulación. La luteólisis natural depende del establecimiento de un patrón pulsátil de secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ consistente por lo menos en 4 o 5 pulsos secretados con intervalo aproximado de 6 h entre ellos (Zarco *et al.*, 1988; Spencer y Bazer, 2002).

A pesar de que en forma natural la $\text{PGF}_{2\alpha}$ debe ser secretada en forma pulsátil para lograr destruir el cuerpo lúteo, en forma artificial se puede lograr la regresión del cuerpo lúteo mediante la administración de una o dos dosis lo suficientemente grandes para destruir el cuerpo lúteo. De esta forma, es posible sincronizar la regresión del cuerpo lúteo de un grupo de ovejas, lo que resultará en la posterior sincronización de la fase folicular, el estro y la ovulación. La $\text{PGF}_{2\alpha}$ no deja residuos ya que se metaboliza en un solo paso por los pulmones (Abecia *et al.*, 2012; Fierro *et al.*, 2013), por lo que su vida media en el organismo es de unos cuantos minutos y no hay peligro de residuos en la carne de los animales tratados. Por esta razón se considera que el empleo de esta hormona es compatible con las exigencias de los alimentos verdes, limpios y éticos.

A nivel comercial existen diversas presentaciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Entre las más utilizadas está la hormona natural (dinoprost trometamina) cuyo nombre comercial es Lutalyse®. La dosis que generalmente se usa en ovinos es de 12.5 mg. En general, cuando la oveja tiene un cuerpo lúteo maduro hay una buena respuesta al tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ natural o sus análogos, por lo que en la mayoría de los casos se producirá la regresión del cuerpo lúteo seguida por una fase folicular, estro y ovulación (Fierro *et al.*, 2013). Sin embargo, cuando se pretende destruir un cuerpo lúteo de reciente formación se recomienda incrementar la dosis o aplicar dos inyecciones con intervalo de 12 a 24 horas debido a que estos cuerpos lúteos jóvenes pueden ser menos sensibles a la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Fierro *et al.*, 2013).

La administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$ 5 y 6 días después de inducir la ovulación con GnRH en ovejas en anestro podría asegurar la regresión del primer cuerpo lúteo en el momento adecuado para que la oveja responda con ovulación al administrarse una segunda dosis de GnRH en el día 7. De esta forma, se esperaría que la

progesterona producida durante unos cuantos días por el primer cuerpo lúteo sensibilice al sistema para que la segunda ovulación inducida con GnRH sea potencialmente fértil por ser seguida por la formación de un cuerpo lúteo de duración normal.

Este tratamiento GnRH-PGF_{2α}-GnRH podría ser aún más efectivo si se combina con el efecto macho, ya que aún durante la época reproductiva se incrementa el número de ovejas que presentan signos de estro si el tratamiento con dos inyecciones de PGF_{2α} administradas con 10 días de separación es combinado con el efecto macho después de la segunda inyección en comparación con las ovejas que solo reciben las 2 inyecciones de PGF_{2α} (Ali *et al.*, 2009).

Existen evidencias de que las ovulaciones que se producen después de una fase lútea de corta duración pueden ser fértiles, ya que durante la época reproductiva Deligiannis *et al.* (2005) reportaron un 50 % de fertilidad en ovejas de la raza Karagouniko expuestas a un protocolo de sincronización con GnRH el día -7, una aplicación de PGF_{2α} el día -2 y una segunda aplicación GnRH el día -1 realizando la inseminación artificial a las 12 h después de la GnRH. Ellos observaron una fertilidad del 50% a pesar de que la fase lútea previa a la ovulación en la que se realizó la inseminación había sido interrumpida tan solo cuatro días después de la ovulación. Sin embargo, no se tiene información sobre la fertilidad que se puede obtener después de una fase lútea corta en época no reproductiva.

2.3 Justificación

La oveja Suffolk es una de las razas más importantes en el altiplano mexicano, pero presenta una estacionalidad marcada que hace difícil su reproducción durante la época de anestro sin utilizar hormonas esteroides. La respuesta de este tipo de ovejas al efecto macho es menor que la que se obtiene con razas menos estacionales, por lo que resulta conveniente probar la combinación de este efecto con el uso de hormonas no esteroides que pueden mejorar la respuesta ovulatoria sin generar residuos indeseables en los animales o en el ambiente.

Objetivos

El objetivo general de este trabajo es evaluar la capacidad de diversos protocolos para obtener una ovulación fértil en ovejas Suffolk en anestro estacional sin la utilización de hormonas esteroides.

2.4.1 Objetivos específicos

- Evaluar si la inyección de GnRH en ovejas Suffolk en anestro profundo expuestas a efecto macho mejora la respuesta ovulatoria a dicho efecto.
- Determinar la incidencia de fases lúteas cortas después de la primera ovulación inducida por la exposición a machos seguida o no por una inyección de GnRH.
- Determinar la incidencia de una segunda ovulación en ovejas expuestas a machos y tratadas o no con una inyección de GnRH o con una secuencia de GnRH-PGF_{2α}-GnRH.
- Determinar las características de la fase lútea originada a partir de la segunda ovulación en cada uno de los grupos experimentales.
- Determinar el porcentaje de ovulaciones acompañadas por signos de estro en respuesta al efecto macho y a cada una de las inyecciones de GnRH.

- Comparar la incidencia de estros, días a primer estro, días a primer servicio, índice de concepción a primer servicio, días a la gestación, índice de gestación y prolificidad obtenidos en respuesta a la exposición a machos sola o combinada con una inyección de GnRH o con una secuencia de GnRH-PGF_{2α}-GnRH.

2.5 Hipótesis

Es posible inducir actividad ovárica fértil en ovejas Suffolk en anestro estacional utilizando el efecto macho y un protocolo de GnRH - PGF_{2α} - GnRH.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Localización

El experimento se realizó en el Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Ovina (C.E.I.E.P.O.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. El C.E.I.E.P.O. está ubicado en el Km 53.1 de la carretera federal México-Cuernavaca, en el poblado de Tres Marías, municipio de Huitzilac, estado de Morelos. Sus coordenadas son 19°02' de latitud norte y 99°16' longitud oeste, a una altura de 2,743 msnm.

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

3.2 Animales experimentales

El experimento se llevó a cabo durante los meses de marzo y abril, que corresponden a la época de anestro profundo. Se utilizaron 60 ovejas de la raza Suffolk de 2 a 7 años de edad que habían parido en el mes de enero y que fueron destetadas entre los 60 y 70 días de paridas. Durante las tres semanas previas al destete se obtuvieron muestras de sangre cada 3 días para determinar las concentraciones de progesterona y verificar que los animales se encontraran en anestro. Durante ese período las ovejas permanecieron con sus crías en corrales colectivos dotados de sistema de creep-feeding para los corderos.

A partir del destete las ovejas se trasladaron a una pradera en la que permanecían de 8:30 am. a 3:30 p.m.; el resto del día y durante la noche permanecían en un corral, donde recibían un suplemento con heno de avena, concentrado comercial y ensilado de maíz; teniendo acceso a agua *ad libitum* por medio de bebederos automáticos. Las 60 ovejas permanecieron juntas y expuestas en forma

permanente, tanto en la pradera como en el corral, a la presencia de 4 machos provistos de mandil para evitar la cópula. Para esto se contaba con 12 machos de las razas Suffolk, Hampshire y Dorset, con los que se formaron grupos de 4 que eran introducidos en forma alternada al grupo de hembras, cambiándose cada 24 horas. La exposición a los machos comenzó en el día del destete y se mantuvo en forma continua durante 30 días. El día del destete y del inicio de la exposición a los machos se consideró el día 0 del experimento.

3.3 Tratamientos

En el día 2, es decir cuarenta y ocho horas después de iniciar la exposición a los machos las ovejas fueron asignadas al azar a uno de tres tratamientos:

Grupo testigo: Formado 20 hembras que no recibieron tratamiento hormonal, solo estuvieron en contacto con los machos por 30 días a partir del destete.

Grupo GnRH-1: Formado por 20 hembras a las que 48 h después del destete (y del inicio de la exposición a machos) se les aplicó por vía intramuscular una dosis única de 0.0042 mg de GnRH (acetato de buserelina, Conceptal®)

Grupo GnRH-2: Formado por 20 hembras a las que 48 h después del destete (y del inicio de la exposición a los machos) se les aplicó una dosis de GnRH, 7 y 8 días después de la GnRH se les aplicó PGF_{2α} (5 mg de Trometamina de Dinoprost, Lutalyse®) y 24 h después de la última inyección de PGF_{2α} se les aplicó una segunda dosis de GnRH.

A partir del día 7 se comenzaron a detectar celos en la mañana y en la tarde. Para ello se introducían durante 15 minutos machos diferentes a los utilizados como bioestimuladores, con el objeto de que estuviesen frescos y fueran activos para la detección de estros. Los machos utilizados para detectar estros también estaban provistos con mandil para evitar la cópula. Cuando detectaban una oveja en estro era separada para llevarla al sitio donde se le daba monta dirigida con el semental asignado de acuerdo al programa genético del centro. Una vez servida la oveja se

regresaba con el grupo de hembras, pero se volvía a llevar a servicio cada 12 horas mientras la oveja continuara en estro. Todos los sementales utilizados para las montas dirigidas eran machos de fertilidad probada y con buena calidad seminal.

Se estableció como primer diagnóstico de gestación el no retorno a estro (a partir del día 16 post-monta) y a partir del día 40 post-monta se les realizó ecografía para confirmar la gestación. La prolificidad se determinó al momento del parto.

Se colectaron muestras sanguíneas diariamente durante los primeros 8 días del experimento, y cada 48 horas subsecuentemente hasta que cada oveja llegó al día 19 post-monta para medir las concentraciones de progesterona por medio de RIA en fase sólida. En ovejas que nunca presentaron estro, la obtención de muestras de progesterona se suspendió el día 35 del experimento.

3.4 Análisis estadístico

Los días a la primera elevación de progesterona, duración de la primera fase lútea, días a la segunda elevación de progesterona, duración de segunda fase lútea, días al primer estro y días a la gestación se compararon entre grupos mediante análisis de varianza.

Los porcentajes de ovulación, proporción de primeras fases lúteas cortas, presencia de signos de estro, índices de concepción y gestación se compararon mediante la prueba de ji-cuadrada.

IV. RESULTADOS

4.1 Respuesta ovárica

En anexos se presentan las figuras individuales de las concentraciones de progesterona. El 100% de las ovejas de los tres grupos presentaron por lo menos una elevación en las concentraciones de progesterona durante los primeros 12 días a partir del inicio de la exposición a los machos. Sin embargo, se consideró que una oveja tuvo una respuesta ovárica “típica” al tratamiento cuando sus concentraciones de progesterona se elevaron por primera vez dentro de los primeros 8 días posteriores al inicio de la exposición de los machos y sus concentraciones de progesterona indicaron que tuvo ya sea un primer ciclo corto seguido por un ciclo de duración normal o un primer ciclo de duración normal seguido por una nueva ovulación y formación de un nuevo cuerpo lúteo. En el Cuadro 1 se observa que en promedio 90 % de las hembras utilizadas en el experimento tuvieron una respuesta ovárica “típica”, siendo ligeramente más común que presentaran una primera fase lútea corta a que su primera ovulación fuera seguida por un ciclo de duración normal.

Cuadro 1. Porcentaje de ovejas con respuesta ovárica “típica” consistente en un ciclo corto seguido por un ciclo estral de duración normal, o en un primer ciclo estral de duración normal

Variable	GnRH-1	GnRH-2	Testigo	Total
Respuesta ovárica “Típica”	75 % (15/20)	85% (17/20)	95 % (19/20)	90 % (54/60)
Corto + normal	30 % (6/20)	55 % (11/20)	45 % (9/20)	48.3 % (29/60)
Primer ciclo normal	45 % (9/20)	30 % (6/20)	50 % (10/20)	41.6 % (25/60)

No existen diferencias entre grupos para ninguna de las variables ($p>0.05$)

Grupo testigo, sin tratamiento hormonal; GnRH-1, única aplicación de GnRH el día 2; GnRH-2, inyección de GnRH los días 2 y 9, y PGF_{2α} días 7 y 8, todos los grupos expuestos al efecto macho desde el día 0

Las ovejas de cada grupo cuya respuesta ovárica se consideró atípica se describen a continuación:

En el grupo GnRH-1 cuatro ovejas presentaron en forma consecutiva dos ciclos de corta duración. En tres de estas ovejas (602 W, 590 W y 198 T) el tercer ciclo ya tuvo una duración normal, presentándose un estro al término de este tercer ciclo (día 31 a 33). Dos de estas ovejas quedaron gestantes, mientras que la oveja 602 W no concibió. En la otra oveja (806 X), el primer ciclo corto fue seguido por un periodo de 14 días sin elevación en las concentraciones de progesterona, al término del cual se produjo un segundo ciclo de corta duración. Este animal nunca presentó estro durante el periodo experimental.

En el grupo GnRH-2 la oveja (732 X) presentó dos ciclos cortos antes de presentar un tercer ciclo de duración normal a cuyo término se presentó estro, quedando gestante en el día 27. Otra oveja (24 Y) presentó un ciclo corto, al término del cual retornó al anestro. En otra oveja de este grupo (758 S), durante el primer ciclo se produjo persistencia espontánea del cuerpo lúteo, manteniéndose la fase lútea durante 22 días; al producirse finalmente la regresión del cuerpo lúteo la oveja no presentó signos de estro, por lo que llegó al final del periodo experimental sin haber sido servido.

En el grupo testigo, solamente una oveja (788 S) presentó una respuesta ovárica atípica, ya que en la primera elevación de progesterona ocurrió hasta el día 12, y aunque resultó en una fase lútea de duración normal al término de esta no se presentó estro. Aunque este animal presentó un segundo ciclo de duración normal seguido por la presencia de estro, dicho estro ocurrió demasiado tarde (día 49) fuera del periodo de empare.

4.2 Presentación de estros y servicios

Se detectaron estros durante los 50 días posteriores al inicio de la exposición a los machos, sin embargo solamente fueron servidas las ovejas que presentaron estro

durante los primeros 36 días a partir del inicio a la exposición a los machos, por lo que se considera que estas ovejas presentaron estro efectivo.

Toda ovulación precedida por una fase lútea de duración normal debería estar acompañada por signos de estro, por lo que se consideró que la ausencia de estro en estas condiciones se debió a una falla en la detección de los mismos. Por esta razón la eficiencia en la detección de estros se definió como el número de estros detectados en cada grupo dividido entre el número de ovulaciones precedidas por una fase lútea normal, que ocurrieron en el grupo a lo largo del estudio, encontrándose que la eficiencia en la detección de estros fue significativamente menor ($p < 0.05$) en el grupo testigo que en el grupo GnRH-1 (Cuadro 2), la eficiencia en la detección de estros en el grupo GnRH-2 fue intermedia, sin ser diferente a la de los otros grupos ($p > 0.05$). La baja eficiencia en la detección de estros en el grupo testigo ocasionó que dos ovejas fueran servidas casi al final del periodo de servicios (día 33), que 2 ovejas no fueran servidas por presentar su primer estro fuera del periodo de servicios (después del día 36), y que 5 ovejas nunca fueran servidos debido a la falta de signos de estro, a pesar de haber concluido por lo menos un ciclo de duración normal durante el periodo destinado a servicios

Cuadro 2. Porcentaje de ovejas detectadas en estro en algún momento del estudio, porcentaje de ovejas detectadas en estro y servidas durante el periodo de empadre y eficiencia en la detección de estros en cada grupo

Variable	GnRH-1	GnRH-2	Testigo	Total
Total de ovejas detectadas en estro	95% ^a (19/20)	75% ^a (15/20)	75% ^a (15/20)	81.2% (49/60)
Ovejas con estro efectivo (servidas)	90% ^a (18/20)	75 % ^a (15/20)	65 % ^a (13/20)	76.7 % (46/60)
Eficiencia en la Detección de estros	100% ^a (19/19)	86.3% ^{ab} 19/22	60.0 % ^a (15/25)	80.3% (53/66)

^{a,b}Para una determinada variable (renglón), valores que no comparten por lo menos una literal son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Grupo testigo, sin tratamiento hormonal; GnRH-1, única aplicación de GnRH el día 2; GnRH-2, inyección de GnRH los días 2 y 9, y PGF_{2α} días 7 y 8, todos los grupos fueron expuestos al efecto macho desde el día 0.

4.3 Eficiencia reproductiva

Como se observa en el cuadro 3, el índice de concepción en las ovejas utilizadas en el presente trabajo fue en promedio del 93.5%, sin diferencias significativas entre los grupos ($p>0.05$). El índice de gestación del grupo testigo fue significativamente menor que el índice de concepción del mismo grupo ($p<0.05$), y aunque las diferencias entre ambas variables no fueron significativas en los otros dos grupos, si contribuyeron a que el índice de gestación del total de ovejas en el experimento (71.7%) fuera significativamente menor a su índice de concepción ($p<0.01$). En promedio se obtuvieron 1.22 corderos por oveja parida, sin diferencia significativa entre grupos ($p>0.05$). El número total de corderos obtenidos fue muy similar en todos los grupos.

Cuadro 3. Índice de concepción, índice de gestación, prolificidad y producción de corderos en cada grupo

Variable	GnRH-1	GnRH-2	Testigo	Total
Total de ovejas	20	20	20	60
Ovejas servidas	18	15	13	46
Ovejas gestantes	15	15	13	43
Índice de concepción (gestantes/servidas)	83.3%	100%	100%	93.5%
Índice de gestación (gestantes/total)	75 %	75 %	65%*	71.7%*
Prolificidad (Cordero/oveja parida)	1.07	1.2	1.38	1.22
Corderos producidos	16	18	18	52

*Los índices de gestación marcados con un asterisco son significativamente menores a los índices de concepción del mismo grupo ($p<0.05$), ($p<0.01$)

Grupo testigo, sin tratamiento hormonal; GnRH-1, única aplicación de GnRH el día 2; GnRH-2, inyección de GnRH los días 2 y 9, y $PGF_{2\alpha}$ días 7 y 8, todos los grupos expuestos al efecto macho desde el día 0.

4.4 Tiempos e intervalos

En el cuadro 4 se presentan diversas variables calculadas para cada grupo sin tomar en cuenta su tipo de respuesta ovárica. En el cuadro 5 se presentan las mismas variables pero solamente para las ovejas de cada grupo en las que su primera fase lútea fue de corta duración, y en el cuadro 6 se presenta la información para las ovejas de cada grupo que respondieron desde el inicio con una fase lútea de duración normal. Todas las ovejas de todos los grupos presentaron por lo menos una elevación en las concentraciones de progesterona, por lo que en todas ellas se pudo calcular el intervalo en días a la primera elevación de progesterona y la duración de la primera elevación de progesterona. De la misma forma, se pudo calcular el intervalo a la segunda elevación de progesterona en todas las ovejas excepto en una oveja del grupo GnRH-2 que retornó al anestro después de un primer ciclo corto, y en otro animal del mismo grupo que por haber tenido una persistencia espontánea de su primer cuerpo lúteo llegó al término del periodo de muestreo antes de que ocurriera su segunda ovulación.

La duración de la segunda fase lútea solamente pudo ser calculada en los animales cuya primera fase lútea fue de corta duración, ya que la mayoría de los animales que iniciaron su respuesta con un ciclo de duración normal quedaron gestantes durante su segunda ovulación, por lo que ya no fue posible calcular la duración de la segunda fase lútea. Por esta razón la información de esta variable solamente se presenta en el cuadro 5 y no en los cuadros 4 y 6.

En los tres cuadros la variable días a primer estro excluye a los animales que no presentaron estro durante los 50 días en los que se detectaron calores, así como aquellos animales que presentaron su primer estro después de haber concluido el periodo de empadre.

Cuando se toma en cuenta a los animales de cada grupo sin tomar en cuenta el tipo de respuesta inicial (Cuadro 4), se observa que no existieron diferencias significativas entre grupos en ninguna de las variables relacionadas con intervalos

o duraciones. También se observa que en todos los grupos los días al primer estro son iguales o muy similares a los días a gestación, lo que se debe a que todos los animales que quedaron gestantes lo hicieron en su primer estro. La pequeña diferencia entre ambas variables en el grupo GnRH-1 se debe a que tres animales de este grupo no quedaron gestantes al ser servidos en su primer estro, por lo que no fueron incluidas para el cálculo de días a gestación. En promedio, las ovejas de los tres grupos que quedaron gestantes lo hicieron 19.7 días después de iniciar la exposición a los machos, lo que permitió que parieran en promedio 221.7 días después de su parto anterior.

Cuadro 4. Intervalos a la primera y segunda elevación de progesterona, duración de la primera fase lútea, intervalos al estro y a la gestación e intervalo entre partos en el total de ovejas de cada grupo sin tomar en cuenta el tipo de respuesta inicial a los tratamientos

Variable	GnRH-1	GnRH-2	Testigo	Total
Días a primera elevación P ₄	4.1 ± 0.5 (n=20)	3.0 ± 0.5 (n=20)	3.5 ± 0.5 (n=20)	3.6 ± 0.3 (n=20)
Duración primera Fase lútea	5.7 ± 0.5 (n=20)	5.3 ± 0.5 (n=20)	6.1 ± 0.5 (n=20)	5.7 ± 0.6 (n=20)
Días a segunda elevación P ₄	14.7 ± 1.6 (n=20)	11.9 ± 1.3 (n=18)	15.4 ± 1.6 (n=20)	14.5 ± 0.9 (n=58)
Días a primer estro	20.2 ± 1.4 (n=18)	19.6 ± 1.2 (n=15)	20 ± 1.7 (n=13)	19.9 ± 0.8 (n=46)
Días a gestación	19.5 ± 1.4 (n=15)	19.6 ± 1.2 (n=15)	20 ± 1.7 (n=13)	19.7 ± 0.9 (n=43)
Intervalo entre partos	219.5 ± 1.7 (n=15)	223.2 ± 1.8 (n=15)	223.3 ± 2.4 (n=13)	221.7 ± 1.1 (n=43)

No existen diferencias significativas entre grupos para ninguna de las variables (p>0.05)

Grupo testigo, sin tratamiento hormonal; GnRH-1, única aplicación de GnRH el día 2; GnRH-2, inyección de GnRH los días 2 y 9, y PGF_{2α} días 7 y 8, todos los grupos fueron expuestos al efecto macho desde el día 0

En el cuadro 5 se muestran los intervalos y duraciones calculados en cada grupo al tomar en cuenta solamente a las ovejas en las que su primera fase lútea fue de corta duración (1.7 días en promedio). El número de ovejas con este tipo de respuesta fue distinto en cada grupo, pero no existieron diferencias significativas entre grupos para ninguna de las variables relacionadas con intervalos o duraciones. Cabe mencionar que ninguna de las ovejas que iniciaron su respuesta con un ciclo corto presentó estró en su segunda ovulación, por lo que todas ellas tuvieron una segunda fase lútea antes de ser servidas y quedar gestantes, lo que hizo posible calcular la duración de su segunda fase lútea.

Cuadro 5. Intervalos a la primera y segunda elevación de progesterona, duración de la primera y segunda fase lútea, intervalos al estró y a la gestación e intervalo entre partos en las ovejas de cada grupo que iniciaron su respuesta a los tratamientos con un ciclo de corta duración

Variable	GnRH-1	GnRH-2	Testigo	Total
Días a primera elevación P ₄	3.4 ± 0.6 (n=11)	3.0 ± 0.6 (n=13)	2.7 ± 0.7 (n=9)	2.4 ± 0.4 (n=33)
Duración primera Fase lútea	1.8 ± 0.6 (n=11)	2.0 ± 0.6 (n=13)	1.3 ± 0.7 (n=9)	1.7 ± 0.4 (n=33)
Días a segunda elevación P ₄	10.4 ± 1.3 (n=11)	9.1 ± 1.2 (n=3)	8.4 ± 1.4 (n=9)	9.3 ± 0.8 (n=58)
Duración de segunda fase lútea	7.8 ± 0.7 (n=11)	9.1 ± 0.7 (n=13)	10.2 ± 0.8 (n=9)	9.0 ± 0.4 (n=33)
Días a primer estró	23.1 ± 1.7 (n=9)	20.9 ± 1.6 (n=11)	20.2 ± 2.5 (n=5)	21.4 ± 1.3 (n=25)
Días a gestación	22.4 ± 2.2 (n=7)	20.9 ± 1.6 (n=11)	20.2 ± 2.4 (n=5)	21.0 ± 1.2 (n=23)
Intervalo entre partos	222.5 ± 2.6 (n=7)	224.1 ± 2.3 (n=9)	225.8 ± 2.8 (n=5)	224.1 ± 1.1 (n=23)

Las diferencias entre grupos no son significativas (p>0.05)

Grupo testigo, sin tratamiento hormonal; GnRH-1, única aplicación de GnRH el día 2; GnRH-2, inyección de GnRH los días 2 y 9, y PGF_{2α} días 7 y 8, todos los grupos fueron expuestos al efecto macho desde el día 0.

En el cuadro 6 se muestran los intervalos y duraciones de las ovejas cuya primera fase lútea fue de duración normal (10.6 días en promedio). En estas ovejas no se observaron diferencias significativas entre grupos para ninguna de las variables. La primera fase lútea en las ovejas del cuadro 6 fue significativamente más larga ($p < 0.05$) que la de las ovejas incluidas en el cuadro 5. Como consecuencia de la mayor duración de su primera fase lútea, el intervalo a la segunda elevación de progesterona fue mayor ($p < 0.05$) en las ovejas incluidas en el cuadro 6 que en las del cuadro 5. En contraste, las ovejas con un primer ciclo corto (cuadro 5) presentaron el primer estro después ($p < 0.05$) que las ovejas cuyo primer ciclo fue de duración normal (cuadro 6), a pesar de lo cual no se presentaron diferencias en los días a la gestación o intervalo entre partos.

Cuadro 6. Intervalos a la primera y segunda elevación de progesterona, duración de la primera fase lútea, intervalos al estro y a la gestación e intervalo entre partos en las ovejas de cada grupo que iniciaron su respuesta a los tratamientos con un ciclo de duración normal

Variable	GnRH-1	GnRH-2	Testigo	Total
Días a primera elevación P ₄	5.0 ± 0.7 (n=9)	3.1 ± 0.7 (n=7)	4.2 ± 0.6 (n=11)	4.2 ± 0.5 (n=27)
Duración primera Fase lútea	10.4 ± 0.7* (n=9)	11.4 ± 0.8* (n=7)	10 ± 0.6* (n=11)	10.6 ± 0.4* (n=27)
Días a segunda elevación P ₄	19.7 ± 1.4* (n=9)	19.0 ± 1.9* (n=5)	21.1 ± 1.2* (n=11)	19.9 ± 0.9* (n=25)
Días a primer estro	17.2 ± 1.8 (n=9)	16.0 ± 2.6 (n=4)	19.9 ± 1.9 (n=8)	17.7 ± 1.2* (n=21)
Días a gestación	16.9 ± 2.0 (n=8)	20.7 ± 2.8 (n=4)	19.9 ± 2.0 (n=8)	19.2 ± 1.3 (n=20)
Intervalo entre partos	217.2 ± 2.3 (n=8)	220.7 ± 3.6 (n=4)	220.2 ± 3.2 (n=8)	219.3 ± 1.8 (n=20)

No existen diferencias entre grupos para ninguna de las variables ($p > 0.05$)

*Los valores con asterisco son significativamente diferentes de los valores correspondientes de las ovejas incluidas en el cuadro 5.

Grupo testigo, sin tratamiento hormonal; GnRH-1, única aplicación de GnRH el día 2; GnRH-2, inyección de GnRH los días 2 y 9, y PGF_{2α} días 7 y 8, todos los grupos fueron expuestos al efecto macho desde el día 0.

V. DISCUSIÓN

En los sistemas intensivos de producción ovina generalmente se busca obtener más de un parto por oveja por año. Para ello se han desarrollado diversos sistemas de partos acelerados que requieren la instrumentación de dos, tres o hasta cinco periodos de empadre en diferentes momentos del año (deNicolo *et al.*, 2008; Fogarty y Mullholand, 2013a). En estas circunstancias por lo menos uno de los periodos de empadre coincide con la mitad de la época de anestro de las razas con marcada estacionalidad, resultando en una pobre eficiencia reproductiva en esos empadres a menos que se utilice algún método efectivo para inducir la actividad reproductiva (Hulet *et al.*, 1983; Lewis *et al.*, 1996; Fogarty y Mullholand, 2013b).

La mejor forma de inducir actividad ovárica en ovejas en anestro estacional es utilizando progesterona o progestágenos sintéticos (Daniel *et al.*, 2001; Windorski *et al.*, 2008; Abecia *et al.*, 2012), por lo que los sistemas de pariciones aceleradas generalmente dependen del uso de estas hormonas en los empadres que coincidan con baja o nula actividad reproductiva natural (Wheaton *et al.*, 1992; deNicolo *et al.*, 2008; Gül y Keskin, 2010). Sin embargo, las preocupaciones de los consumidores con respecto a potenciales efectos negativos de las hormonas esteroides sobre el ambiente y sobre la salud pública se han ido incrementando (Regal *et al.*, 2012) y estas preocupaciones han aparecido aun cuando se utilizan hormonas naturales, como la progesterona (Reyes *et al.*, 2012). Esto ha servido para motivar el desarrollo de métodos de control reproductivo que reduzcan o incluso eliminen el uso de hormonas esteroides (Martemucci y D'Álessandro, 2010; Mayorga *et al.*, 2011).

Algunos esfuerzos para lograr este propósito han incluido una reducción en la dosis de los progestágenos sintéticos que se utilizan en los dispositivos intravaginales (Letelier *et al.*, 2009) o el uso de progesterona natural exclusivamente (Reyes *et al.*, 2012), pero aún estos métodos no son considerados por muchos consumidores como “verdes, limpios y éticos” debido a que aún requieren del uso de hormonas esteroides (Martin *et al.*, 2004).

Una alternativa al uso de hormonas esteroides es el empleo de métodos naturales para la inducción de actividad ovárica. Las ovejas de razas que no son muy estacionales se pueden manejar en forma exitosa en sistemas de producción intensivos utilizando exclusivamente el efecto macho para inducir la actividad ovárica en etapas difíciles del año (Martin *et al.*, 2004). Sin embargo las ovejas Suffolk han demostrado ser muy difíciles de inducir a ciclar en la época de anestro sin utilizar hormonas esteroides. En particular, el efecto macho no ha sido efectivo cuando se aplica en ovejas de esta raza durante la época de anestro profundo (Nugent y Notter, 1990; Minton *et al.*, 1991) e incluso cuando se ha intentado utilizarlo durante el periodo de transición hacia la época reproductiva (Hudgens *et al.*, 1987). Por esta razón, diversos autores han concluido que en las ovejas de esta raza el “efecto macho” no es una alternativa efectiva (Rosa y Bryant, 2002; Martin *et al.*, 2004; Martin y Kadokawa, 2006).

A pesar de lo anterior, en el presente trabajo se logró inducir actividad ovárica fértil en una proporción importante de las ovejas Suffolk en anestro profundo sin utilizar hormonas esteroides. Para ello se utilizó el efecto macho solo o combinado con GnRH o GnRH y PGF_{2α}, siendo posible inducir la actividad ovárica en todas las ovejas empleadas en los diferentes tratamientos. El 90 % de las hembras respondieron con alguna de las dos modalidades de respuesta “típica” al efecto macho, es decir, un primer ciclo corto seguido por un ciclo estral de duración normal, o bien con ciclos de duración normal desde el inicio. En consecuencia, fue posible dar servicio al 76.7 % de las ovejas durante un periodo de empadre de 36 días, dejando gestante al 71.7 % del total de ovejas con un solo servicio. En la búsqueda bibliográfica solo se encontró un trabajo realizado en ovejas Suffolk inducidas a ciclar sin la utilización de hormonas esteroides con resultados comparables a los obtenidos en este trabajo. En dicho trabajo, Kusakari y Ohara (1997) administraron melatonina durante 34 a 47 días antes de introducir a los machos, logrando un 100 % de incidencia de estros y 93 % de concepciones alrededor de 23 días después de la introducción de los machos. Los resultados obtenidos en el presente trabajo

son ligeramente inferiores a los alcanzados por Kusakari y Ohara (1997), lo que se debió principalmente a que la eficiencia en la detección de estros en el presente trabajo fue del 80.3 % mientras que en el de ellos fue del 100 %. Sin embargo, debe tomarse en cuenta que en el trabajo de Kusakari y Ohara (1997) los machos usados para la bioestimulación estaban dotados con un crayón marcador y copulaban libremente con las hembras, mientras que en nuestro caso los machos bioestimuladores no portaban crayones marcadores, por lo que solamente se detectaron estros mediante observación visual del comportamiento dos veces al día para posteriormente dar un solo servicio dirigido por hembra en estro. Por otra parte, en el trabajo de Kusakari y Ohara fue necesario administrar individualmente pellets de melatonina en forma oral diariamente durante por lo menos 37 días antes de exponer las ovejas a los machos, mientras que en nuestro trabajo se aplicaron entre cero (grupo testigo) y tres inyecciones (en el grupo GnRH-2) cuando las hembras ya estaban siendo expuestas a los machos, por lo que los tratamientos planteados en este trabajo son más prácticos y demandan un periodo menor de tratamiento que el método utilizado de Kusakari y Ohara (1997). Tanto la melatonina utilizada por Kusakari y Ohara (1997) como el GnRH y PGF_{2α} utilizados en este trabajo pueden ser consideradas como hormonas “limpias, verdes y éticas” ya que se degradan completa y rápidamente dentro del organismo animal y no dejan residuos (Martemucci y D’Alessandro, 2010).

Un resultado inesperado en el presente trabajo fue la alta tasa de respuesta ovárica de las ovejas expuestas solamente al efecto macho, ya que, como se mencionó anteriormente, generalmente se ha encontrado que las ovejas Suffolk en anestro profundo no responden adecuadamente al efecto macho cuando se utiliza sin apoyo hormonal (Nugent y Notter, 1990; Minton *et al.*, 1991; Kusakari y Ohara, 1997; Rosa y Bryant, 2002; Martin *et al.*, 2004; Martin y Kadokawa, 2006).

Tres factores pueden ser importantes para los buenos resultados obtenidos en el presente trabajo en el grupo testigo, que solamente fue expuesto al efecto macho. El primero factor fue la intensidad del estímulo, ya que se mantuvo a las hembras

en contacto continuo con diversos machos, incluyendo machos de una raza (Dorset) poco estacional, que por ser más activos sexualmente son mejores bioestimuladores que los machos Suffolk. Por ejemplo, Clemente *et al.* (2012) encontraron que los machos solamente indujeron actividad ovárica en el 66 % de las hembras Suffolk expuestas a machos Suffolk, y en todos los casos las ovulaciones inducidas no fueron acompañadas por signos de estro. En cambio, cuando expusieron las ovejas Suffolk a machos de la raza Saint-Croix, todas ellas ovularon, presentaron estro y fueron servidas.

El segundo posible factor fue el efecto de “macho novedoso”, ya que se ha demostrado tanto en cabras como en ovejas que los machos que no han estado en contacto con las hembras que van a ser inducidas, o los machos que son periódicamente cambiados durante el periodo de bioestimulación son más efectivos para inducir a las hembras en anestro que si se utilizan machos ya conocidos por las hembras y no se produce alternancia entre ellos (Delgadillo *et al.*, 2009; Hawken y Beard, 2009; de St Jorre *et al.*, 2012; Gallego-Calvo *et al.*, 2014).

El tercer posible factor fue la combinación temporal del efecto macho con un posible efecto estimulante del destete sobre la actividad del eje hipotálamo-hipófisis gonadal (Ronquillo *et al.*, 2008). En el presente trabajo las hembras fueron expuestas a los machos por primera vez inmediatamente después del destete, por lo que ambos efectos estimulantes pudieron haberse combinado (Salloum *et al.*, 2005).

En el presente trabajo se pretendió mejorar la respuesta al efecto macho mediante su combinación con una o dos aplicaciones de GnRH administradas en el momento apropiado para asegurar la ovulación de folículos cuyo crecimiento ha sido estimulado mediante la presencia de machos. Esta mejoría no fue evidente ya que la respuesta ovárica se presentó en todas las ovejas expuestas al efecto macho independientemente de su combinación o no con GnRH (cuadros 1, 4, 5 y 6). Sin embargo, la eficiencia en la detección de estros si fue mejorada significativamente

por los tratamientos (cuadro 2), ya que el 40 % de las ovejas del grupo testigo no presentaron estros a pesar de haber tenido ovulaciones (ovulaciones silenciosas). En cambio, en el grupo GnRH-1 hubo un 100 % de eficiencia en la detección de estros y en el grupo GnRH-2 la eficiencia fue de 85%, siendo estas diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el grupo GnRH-1 y el grupo testigo.

En estudios previos se ha encontrado que la principal causa de falla del efecto macho en ovejas Suffolk es la presencia de ovulaciones silenciosas (Kusakari y Ohara, 1997; Clemente *et al.*, 2012) y que dicha incidencia puede ser reducida con medidas adicionales como la administración de melatonina (Kusakari y Ohara, 1997) o el uso de machos muy activos de razas poco estacionales (Clemente *et al.*, 2012). En el presente trabajo la administración de GnRH parece haber corregido este problema. Sin embargo, es difícil entender el posible mecanismo de acción, ya que todas las administraciones de GnRH se realizaron durante la primera semana del experimento, mientras que los estros se presentaron en todos los grupos en promedio en el día 20, después de producirse la regresión de un cuerpo lúteo de duración normal (Cuadro 4). Solamente podría especularse que el GnRH pudo haber mejorado la función lútea durante los ciclos posteriores a su administración, y que la producción adicional de progesterona podría haber facilitado la expresión de signos de estro en ovulaciones subsecuentes (Johnson *et al.*, 2011). Sin embargo, estas diferencias tendrían que haber sido muy sutiles ya que la duración promedio de las fases lúteas fue similar en todos los grupos (Cuadros 4, 5 y 6). Al no haberse determinado las concentraciones de progesterona todos los días durante el experimento no contamos con información suficiente para evaluar si, por ejemplo, el ritmo de elevación de los niveles de progesterona al inicio del ciclo o el ritmo de caída de los mismos al final del ciclo pudieran haber sido distintos entre los grupos, o si podría haber diferencias en estas características entre las ovejas que tuvieron ovulaciones silenciosas y las que no lo hicieron.

Aunque existen trabajos previos en los que se utilizó GnRH para tratar de mejorar la respuesta al efecto macho en ovejas de diversas razas, incluyendo la Suffolk, en

dichos trabajos se utilizó adicionalmente progesterona para asegurar la inducción de actividad ovárica, por lo que la inclusión de GnRH en el protocolo no pretendía mejorar dicha inducción sino sincronizar mejor las ovulaciones para realizar la inseminación artificial (Jordan *et al.*, 2009). En otro trabajo, realizado en ovejas de baja estacionalidad también se combinó el efecto macho con la administración de GnRH, aunque en momentos diferentes a los empleados en el presente trabajo (Mirzaei *et al.*, 2011). En ese trabajo se concluyó que la inclusión de GnRH en el protocolo de inducción con efecto macho redujo la fertilidad de las ovejas posiblemente debido a un efecto negativo sobre la producción de progesterona. En este sentido, es interesante advertir que en el presente trabajo el menor índice de concepción y la menor prolificidad se presentaron en el grupo GnRH-1. Aunque dichas variables no fueron significativamente distintos a los otros grupos, sí produjeron un efecto compensatorio mediante el cual la significativamente mejor eficiencia en la detección de estros en el grupo GnRH-1 no resultó en un mayor número de ovejas gestantes o de corderos producidos en este grupo con respecto a los otros 2 grupos (Cuadro 3).

Como se mencionó anteriormente, la administración de GnRH en el presente trabajo, aunque tuvo efectos sobre la eficiencia en la detección de estros, no modificó en sí la respuesta ovárica de las ovejas, por lo que en todos los grupos se presentaron respuestas similares a las que normalmente se producen en ovejas de razas poco estacionales, que si responden al efecto macho (Ungerfeld *et al.*, 2004; Salloum *et al.*, 2005; Chemineau *et al.*, 2006), incluyendo alrededor de un 50 % de primeras fases lúteas cortas (Cuadro 1, Johnson *et al.*, 2011), y la presentación de estros al terminar la primera fase lútea de duración normal, alrededor de 17 días después de la exposición inicial a los machos en las ovejas en las que su primera fase lútea fue de duración normal (Cuadro 6, Chemineau *et al.*, 2006) o 21 a 23 días después de la exposición a los machos en las ovejas con una primera fase lútea de corta duración (Cuadro 5, Salloum *et al.*, 2005; Chemineau *et al.*, 2006; Johnson *et al.*, 2011; Brown *et al.*, 2014).

Tanto la duración como las características de las primeras fases lúteas cortas (Cuadro 5) como las de las primeras fases lúteas normales (Cuadro 6) ocurridas en los diferentes grupos de este trabajo son similares a las reportadas previamente en ovejas sometidas al efecto macho (Chemineau *et al.*, 2006; Johnson *et al.*, 2011; Brown *et al.*, 2014), por lo que el tratamiento con GnRH no parece haber afectado el inicio de la actividad ovárica.

Entre las respuestas “atípicas” al efecto macho se ha reportado que en algunos animales la primera elevación de progesterona se produce después de 6 o 7 días de iniciada la exposición a los machos (Chemineau *et al.*, 2006; Scaramuzzi *et al.*, 2008; Johnson *et al.*, 2011). Este tipo de respuesta se observó en unos cuantos animales en el presente trabajo, y se ha asociado con ovejas que estén en baja condición corporal debido a que se están recuperando de la lactación (Chemineau *et al.*, 2006; Scaramuzzi *et al.*, 2008).

Finalmente, en el presente trabajo se encontraron muy buenos índices de concepción en todos los grupos (Cuadro 3), por lo que la limitante principal no fue la fertilidad sino la respuesta ovárica y en mayor medida la eficiencia en la detección de estros.

Se concluye que es posible inducir actividad ovárica sin utilizar hormonas esteroides en ovejas Suffolk durante la época de anestro profundo. Para ello puede bastar con utilizar un efecto macho muy intenso (con presencia continua y alternancia de diversos machos de diversas razas) combinando dicho efecto con un posible efecto estimulante del destete. La inclusión de GnRH en el protocolo de inducción puede mejorar la eficiencia de la detección de estros aunque no necesariamente mejorar el desempeño reproductivo de las ovejas.

VI. LITERATURA CITADA

Abecia, J.A., Forcada, F., González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of Reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 130: 173-179.

Ali, A., Hayder M., Saifelnaser, E.O.H. (2009). Ultrasonographic and endocrine evaluation of three regimes for oestrus and ovulation synchronization for sheep in the subtropics. *Reproduction Domestic Animal*. 44:873-878.

Alnimer, M., Tabbaa. M. J., Amasheh, M., Alzyoud, H. (2005). Hormonal treatments and the ram effect on synchronized oestrus in Awassi ewes at the beginning of the breeding season. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 48:473-480.

Al-Maulay, N.Z.N., Bryant, M.J., Cunningham, F.J. (1991). Effect of the introduction of rams on the pulsatile release of luteinizing hormone and the onset of reproductive activity in ewe lambs. *Animal Production*. 53:209-214.

Alvarez, R.L., Zarco, Q.L. (2001). Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Veterinaria México*. 32: 117-129.

Alvarez, L., Martin, G.B., Galindo, F., Zarco, L.A. (2003). Social dominance of female goats affects their response to the male effect. *Applied Animal Behavior Sci*. 84:119-126.

Alvarez, L., Zarco, L., Galindo, F., Blache, D., Martin, G.B. (2007). Social rank and response to the "male effect" in the Australian Cashmere goat. *Animal Reproduction Science*. 102 (3-4):258-266.

Al-Yacoub, A.N., Gauly, M., Sohnrey, B., Holtz, W. (2011). Fixed-timed deep uterine insemination in PGF_{2α} synchronized goats. *Theriogenology*. 76:1730-1735.

Arroyo, L.J., Gallegos-Sánchez, J., Villa-Godoy, A., Valencia, M.J. (2006). Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: una revisión. *Interciencia*. 31:8-15.

Arroyo, L.J., Gallegos-Sánchez, J., Villa-Godoy, A., Berruecos, J.M., Perera, G., Valencia, J. (2007). Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*. 102:24-30.

Arroyo, L.J. (2011). Reproductive seasonality of sheep in Mexico. *Tropical and Subtropical Agrosystems*. 14:829-845.

Baril, G., Leboeuf, B., Saumande, J. (1993). Synchronization of estrus in goats: the relationship between time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*. 40:621-628.

Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Cook, S.J., Rawlings, C. (1998). Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 113:275-285.

Bartlewski, P.M., Aranvindakshan, J., Beard, A.P., Nelson, M.L., Batista-Arteaga, M., Cook, S.J., Rawlings, N.C. (2004). Effects of medroxyprogesterone acetate (MAP) on ovarian antral follicle development, gonadotrophin secretion and response to ovulation induction with gonadotrophin-releasing hormona (GnRH) in seasonally anoestrous ewes. *Animal Reproduction Science*. 81:63-75.

Bartlewski, P.M., Baby, T.E., Giffin, J.L. (2011). Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*. 124:259-268.

Beard, A.P., Hunter, M.G. (1994). Effects of bovine follicular fluid and exogenous oestradiol on the GnRH-induced short luteal phase in anoestrous ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 100:211-217.

Brown, H.M., Fabre Nys, C., Cognié, J., Scaramuzzi, R. J. (2014). Short oestrous cycles in sheep during anoestrus involve defects in progesterone biosynthesis and luteal neovascularization. *Reproduction*. 147: 357-367.

Chanvallon, A., Sagot, L., Pottier, E., Scaramuzzi, R.J., Fabre-Nys, C. (2009). Interactions among seasonality of reproduction, genotype and the ram effect. *Archiva Zootechnica*. 12(3):73-81

Chanvallon, A., Sagot, L., Pottier, E., Debus, N., Francois, D., Fassier, T., Scaramuzzi, R.J., Fabre-Nys, C. (2011). New insights in to the influence of breed and time of the year on the response of ewes on the "ram effect". *Animal*. 5(10):1594-1604.

Chemineau, P., Pellicer-Rubio, M. T., Lassoued, N., Khaldi, G., Monniaux, D. (2006). Review: Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reproduction Nutrition Development*. 46:417-429.

Chemineau, P., Malpoux, B., Brillard, J.P., Fostier, A. (2007). Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*. 1(3):419-432.

Chemineau, P., Bodin, L., Migaud, M., Thiéry, J. C., Malpoux B. (2010). Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reproduction in Domestic Animals*. 45:42-49.

Clemente, N., Orihuela, A., Flores-Pérez, I., Aguirre, V., Ortiz, A., Solano, J., Valencia, J. (2012). Reproductive activity of Suffolk ewes in seasonal anestrus after

being exposed to Saint Croix or Suffolk rams. *Journal of Applied Animal Research*. 40(3), 203-207.

Cohen-Tannoudji, J., Einhorn, J., Signoret, P. (1994). Ram sexual pheromone: First approach of chemical identification. *Physiology and Behavior*. 56(5):955-961.

Daniel, J.A., Sterle, S.W., McFadin-Buff, E.L., Keisler, D.H. (2001). Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. *Theriogenology*. 56:105-110.

Delgadillo, J.A., Gelez, H., Ungerfeld, R., Hawken, P.A.R., Martín, B.G. (2009). Review. The "male effect" in sheep and goats – revisiting the dogmas. *Behavioral Brain Research*. 200:304-314.

Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Hernández, H., Poindron, P., Keller, M., Fitz-Rodríguez, G., Duarte, C., Vielma, J., Fernández, I.G., Chemineau, P. (2015). Sexually active males prevent the display of seasonal anestrus in female goats. *Hormone and Behavior*. 69:8-15.

Deligiannis, C., Valasi, I., Rekkas, C.A., Goulas, P., Theodosiadou, E., Lainas, T., Amiridis, G.S. (2005). Synchronization of ovulation and fixed time intrauterine insemination in ewes. *Reproduction in Domestic Animal*. 40:6-10.

De Lucas, T. J., González-Padilla, E., Martínez-Rojas, L.L. (1997). Estacionalidad reproductiva en ovejas de cinco razas en el altiplano central Mexicano. *Técnica Pecuaria*. 35 (1): 25-31.

De Lucas, T.J., Zarco, Q.L.A., Vásquez, P.C. (2008). Use of the male effect to induce reproductive activity in ovine intensive breeding systems. *Veterinaria México*. 39(2):117-127.

deNicolo, G., Morris, S.T., Kenyon, P.R., Kemp, P.D., Morel, P.C.H. (2008). Ewe reproduction and lambing performance in a five period mating system. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 51:397-407.

de St Jorre, T.J., Hawken, P.A.R., Martin, G.B. (2012). Role of male novelty and familiarity in male-induced LH secretion in female sheep. *Reproduction, Fertility and Development*. 24(4):523-530.

Duchamp, G., Bour, B., Combarous, Y., Palmer, E. (1987) Alternative solutions to hCG induction of ovulation in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 35:221-228.

European Parliament (2009). Regulation (EC) No. 470/2009 Of the European Parliament and of the Council of 6 may, 2009, laying down community procedures for the establishment of pharmacologically active substances in foodstuffs of animal origin. *Official Journal of the European Union*. L 152/11-L52/22.

Emsen, E., Yaprak, M. (2006). Effect of controlled breeding on the fertility of Awassi and Red Karaman ewes and the performance of the offspring. *Small Ruminant Research*. 66:230-235.

Evans, A.C.O., Duffy, P., Crosby, T.F., Hawken, P.A.R., Boland, M.P., Beard, A.P. (2004). Effect of ram exposure at the end of progestogen treatment on estrus synchronization and fertility during the breeding season in ewes. *Animal Reproduction Science*. 84:349-358.

Eyal, E. (1958). The introduction of rams as a factor influencing sexual activity of ewes. *The Israel Journal Agricultural Research*. Ktavium. 8: 359-366.

Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., Thun, R., Janett, F. (2012) Comparison of 6 day progestogen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research*. 107:141-146.

Fleisch, A., Bollwein, H., Piechotta, M., Janett, F. (2015). Reproductive performance of Lacaune dairy sheep exposed to artificial long days followed by natural photoperiod without and with additional progestogen treatment during the nonbreeding season. *Theriogenology*. 83:320-325.

Fierro, S., Gil, J., Viñoles, C., Olivera-Muzante, J. (2013). The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology*. 79:399-408.

Fogarty, N.M., Mulholland, J.G. (2013a). Annual lambing performance of crossbred ewes in out-of-season and accelerated lamb production systems. *Animal Production Science*. 53:1093-1100.

Fogarty, N.M., Mulholland, J.G. (2013b). Seasonal reproductive performance of crossbred ewes in intensive lamb production systems. *Animal Production Science*. 54:791-801.

Gallego-Calvo, L., Gatica, M.C., Celi, I., Guzmán, J.L., Delgadillo, J.A., Zarazaga, L.A. (2014). No previous isolation of female goats is required for novel males to induce a male effect, especially if direct physical contact is established. *Theriogenology*. 82(9):1310-1315.

Gallegos-Sánchez, J., Delaleu, B., Caraty, A., Malpoux, B., Thiéry, J.C. (1997). Estradiol acts locally within the retrochiasmatic area to inhibit pulsatile luteinizing-hormone release in the female sheep during anestrus. *Biology of Reproduction*. 56(6):1544-1549.

Gallegos-Sánchez, J., Malpoux, B., Thiéry, J.C. (1998). Control of pulsatile LH secretion during seasonal anoestrus in the ewe. *Reproduction Nutrition Development*. 38(1): 3-15.

García, E. (1973). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. 196-197

Gelez, H., Fabre-Nys C. (2004). The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Hormones and Behavior*. 46:257-271.

Gelez, H., Fabre-Nys C. (2006). Neural pathways involved in the endocrine response of anestrus ewes to the male or its odor. *Neuroscience*. 140:791-800.

González-Godínez, A., Urrutia-Morales, J., Gámez-Vázquez, H.G. (2004). Comportamiento reproductivo de ovejas Dorper y Katahdin empadradas en primavera en el norte de México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17:123-127.

Griffiths P.R., Brennan, P.A. (2015). Roles for learning in mammalian chemosensory responses. *Hormones and Behavior*. 68:91-102.

Gül, S., Keskin, M. (2010). Reproductive characteristics of Awassi ewes under Cornell alternate month accelerated lambing system. *Italian Journal of Animal Science*. 9:255-259.

Hamra, A.H., Massri, Y.G., Marek, J.M., Wheaton, J.E. (1986). Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone controlled internal drug release dispensers, implants and sponges. *Animal Reproduction Science*. 11:187-194.

Hernández-Cerón, J., Kindahl, H., Balcázar-Sánchez, J.A., Valencia-Méndez, J.J., Zarco-Quintero, L.A. (1995). Secreción de la prostaglandina F2 alfa en ovejas con fases lúteas cortas tratadas con líquido folicular equino libre de esteroides. *Veterinaria México*. 26(2) 341.

Hernández-Cerón, J., Valencia M.J. y Zarco, Q.L. (1997). Regresión prematura del cuerpo lúteo en la oveja. *Agrociencia*. 31: 457-463.

Hayden, C. (2008). GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. *European Journal Endocrinology*. 159:S17-S25.

Hawken, P.A.R., Beard, A.P., Esmaili, T., Kadokawa, H., Evans, A.C.O., Blache, D., Martin, G.B. (2007). The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH secretion in cyclic ewes during the breeding season. *Theriogenology*. 68:56-66.

Hawken, P.A.R., Beard, A.P. (2009). Ram novelty and the duration of ram exposure affects the distribution of mating in ewes exposed to rams during the transition into the breeding season. *Animal Reproduction Science*. 111(2): 249-260.

Hawken, P.A.R., Martin, G.B. (2012). Sociosexual stimuli and gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretion in sheep and goats. *Domestic Animal Endocrinology*. 43:85-94.

Hudgens, R.E., Martin, T.G., Diekman, M.A., Waller, S.L. (1987). Reproductive performance of Suffolk and Suffolk-cross ewes and ewe lambs exposed to vasectomized rams before breeding. *Journal of Animal Science*. 65:1173-1179.

Hulet, C.V., Stellflug, J.N., Knight, A.D. (1983). Effect of time of early weaning and time of lambing on accelerated lambing in Polypay sheep. *Theriogenology*. 20:141-148.

Hunter, M.G., Southee, J.A., McLeod, B.J., Haresign, W. (1986). Progesterone pretreatment has direct effect on GnRH induced preovulatory follicles to determine their ability to develop into normal corpora lutea in anoestrous ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 76:349-363.

Husein, M.Q., Ababneh, M.M. (2008). A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestogen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology*. 69:376-383.

Johnson, L., Fabre Nys, C., Chanvallon A., François, D., Fassier, T., Menassol, J.B., Brown, H.M., Lardic, L., Scaramuzzi, R.J. (2011). The effect of short-term nutritional supplementation and body condition on the pituitary and ovarian responses of anoestrous ewes to the "Ram Effect". *Journal Veterinary Science Technology*. S2:001.

Jordan, K.M., Inskeep, E.K., Knights, M. (2009). Use of gonadotropin releasing hormone to improve reproductive responses of ewes introduced to rams during seasonal anestrus. *Animal Reproduction Science*. 116(3): 254-264.

Katz, L.S. (2007). Sexual behavior of domesticated ruminants. *Hormones and Behavior*. 52:56-63.

Karsch, F.J., Dahl, G.E., Evans, N.P., Manning, J.M., Mayfield, K.P., Moenter, S.M., Foster, D.L. (1993). Seasonal changes in gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe: alteration in response to the negative feedback action of estradiol. *Biology Reproduction*. 49(6):1377-1383.

Kaya, S., Kaçar, C., Kaya, D., Aslan, S. (2013). The effectiveness of supplemental administration of progesterone with GnRH, hCG and PGF2 on the fertility of Tuj Sheep during the non-breeding season. *Small Ruminant Research*. 113:354-370.

Formatted: Spanish (Mexico)

Formatted: Spanish (Mexico)

Kenyon, P.R., Morel, P.C.H., Morris, S.T., West, D.M. (2007). A note on the effect of vasectomized and short-term exposures to entire rams prior to the breeding period on the reproductive performance of ewe lambs. *Applied Animal Behavior Science*. 110:397-403.

Knight, T.W., Peterson, A.J., Payne, E. (1978). The ovarian and hormonal response of the ewe to stimulation by the ram early in the breeding season. *Theriogenology*. 10:343-344.

Knight, T.W., Lynch, P.R. (1980). Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Animal Reproduction Science*. 3:133-136.

Knights, M., Maze, T.D., Bridges, P.J., Lewis, P.E., Inskeep, E.K. (2001). Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrus ewes. *Theriogenology*. 55:1181-1191.

Knights, M., Baptiste, Q.S., Lewis P.E. (2002). Ability of ram introduction to induce LH secretion, estrus and ovulation in fall-born ewe lambs during anestrus. *Animal Reproduction Science*. 69:199-209.

Kusakari, N., Ohara, M. (1997). Effect of melatonin feeding on early onset of reproductive activity in postpartum Suffolk ewes lactating during anestrus season. *Journal of Reproduction and Development*. 43(1):97-100.

l'Anson, H., Legan, S.J. (1988). Changes in LH pulse frequency and serum progesterone concentrations during the transition to breeding season in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 82:341–351.

Letelier, C.A., Contreras-Solís, R.A., García-Fernández, R.A., Ariznavarreta, C., Tresguerres, J.A.F., Flores, J.M., González-Bulnes, A. (2009). Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology*. 71:676-682.

Lewis, R.M., Notter, D.R., Hogue, D.E., Magee, B.H. (1996). Ewe fertility in the STAR accelerated lambing system. *Journal of Animal Science*. 74:1511-1522.

Luther, J.S., Grazul-Bilska, A.T., Kirsch, J.D., Weigi, R.M., Kraft, K.C., Navanukraw, C., Pant, D., Reynolds, L.P., Redmer, D.A. (2007). The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. *Small Ruminant Research*. 72:227-231.

Martemucci, G., D'Alessandro, A.G. (2010). Estrous and fertility responses of dairy ewes synchronized with combined short term GnRH, PGF2 α and estradiol benzoate treatments. *Small Ruminant Research*. 93:41-47.

Martin G.B. Oldham, C. M., Cognié, Y., Pearce, D.T. (1986). The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams, a review. *Livestock Production Science*. 15:219-247.

Martin, G., Milton, J., Davidson, R., Banchero-Hunzicker, G., Lindsay, D., Blache, D. (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 82-83:231-245.

Martin, G.B., Kadokawa, H. (2006). "Clean, green and ethical" animal production. Case study: reproductive efficiency in small ruminants. *Journal Reproduction Development*. 52:145-152.

Martínez, R.R.D., Cruz, L.C., Rubio, G.I., Zarco, Q.L.A. (1998) Influencia del carnero sobre la ocurrencia de estros en la oveja Pelibuey. *Veterinaria México*. 29:111-115.

Mayorga, I., Mara, L., Sanna, D., Stelletta, C., Morgante, M., Casu, S., Dattena, M. (2011). Good quality sheep embryos produced by superovulation treatment without the use of progesterone devices. *Theriogenology*. 75:1661-1668.

Minton, J.E., Coppinger, T.R., Spaeth, C.W., Martin, L.C. (1991). Poor reproductive response of anestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. *Journal of Animal Science*. 69:3314-3320.

Mirzaei, A., Mohebbi-Fani, M., Nazifi, S., Aghamiri, M. (2011). Effect of GnRH administration, combined with the ram effect, on the occurrence of ovulation and pregnancy during the transition period from anoestrus in crossbred ewes. *Small Ruminant Research*. 100:59-62.

Murata, K., Tamogami, S., Itou, M., Ohkubo, Y., Wakabayashi, Y., Watanabe, H., Okamura H., Takeuchi Y., Mori, Y. (2014). Identification of an olfactory signal molecule that activates the central regulator of reproduction in goats. *Current Biology*. 24(6): 681-686.

Nugent, R.A., Notter, D.R. (1990). Effect of cohabitation with white-faced ewes on estrous activity of Hampshire and Suffolk ewes exposed to rams in June. *Journal of Animal Science*. 68:1513-1519.

Ohara, H., Kazutaka, M., Ichimaru, T., Ohkura, S., Takeuchi, Y., Yuji, M., Okamura, H. (2014). Effects of exposure to male goat hair extracts on luteinizing hormone secretion and neuronal activation in seasonally anestrous ewes. *Journal of Veterinary Medical Science*. 76(10):1329-1337

Oldham, C.M., Martin, G.B., Knight, T.W. (1979). Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. I. Time from introduction of the rams to the preovulatory LH surge and ovulation. *Animal Reproduction Science*. 1:283-290.

Oldham, C.M., Lindsay, D.R. (1980). Laparoscopy in the ewe: a photographic record of the ovarian activity of ewe experiencing normal or abnormal oestrous cycles. *Animal Reproduction Science*. 3:119-124.

Pearce, G.P., Oldham, C.M. (1988). Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 84:333-339.

Porras, A.A., Zarco, Q.L., Valencia, M.J. (2003). Estacionalidad reproductiva en ovejas. *Ciencia Veterinaria*. 9:1-33.

Quispe, T., Zarco, L., Valencia, J., Ortiz, O. (1994). Estrus synchronization with melengestrol acetate in cyclic ewes. Insemination with fresh or frozen semen during the first or second estrus post treatment. *Theriogenology*. 41:1385-1392.

Quispe, Q.T., Zarco, Q.L., Ortiz, H.A., Valencia, M.J. (1995a). Sincronización de estros en ovejas mediante un tratamiento corto con acetato de melengestrol (MGA) combinado con Cipionato de Estradiol (ECP). *Veterinaria México*. 26:23-29.

Quispe, T., Valencia, J., Ortíz, A., Zarco, L. (1995b). Inducción de estros en borregas en anestro utilizando acetato de melengestrol (MGA) combinado con gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG). *Avances en Investigación Agropecuaria*. 4:1-13.

Regal, P., Cepeda, A., Fente, C.A. (2012). Natural hormones in food-producing animals: Legal measurements and analytical implications. In: Aladjadjyan A (Ed) *Food Production – Approaches, Challenges and Tasks*. Intechopen Books, Rijeka, Croacia. 205-230.

Reyes, J.M., Murcia, C., Zarco, L., Alvarez, L. (2012). Progesterone concentrations in milk of CIDR-treated goats. *Small Ruminant Research*. 106:178-180.

Rhodes, L., Nathanielsz, P.W. (1988). Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal sponges for estrus synchronization in ewes. *Theriogenology*. 30(4):831-836.

Rodríguez-Iglesias R.M., Ciccioli N. H., Irazoqui, H., Rodríguez, B.T. (1991). Importance of behavioural stimuli in ram-induced ovulation in seasonally anovular Corriedale ewes. *Applied Animal Behavior Science*. 30:323-332.

Rodríguez-Iglesias R.M., Ciccioli N. H., Ferrería J., Pevsner D. A., Rosas, C.A., Rodríguez, M. M., Pedrueza J. R. (2013). Short-lived corpora lutea syndrome in anestrus ewes following 17 β -oestradiol or MAP treatments applied before an allogenic sexual stimulation with rams and oestrous ewes. *Animal Reproduction Science*. 136:268-279.

Ronquillo, J. C. C., Martínez, A. P., Pérez, C. M. B., Sandoval, B. F., Martín, G. B., Valencia, J., Sánchez, J. G. (2008). Prevention of suckling improves postpartum reproductive responses to hormone treatments in Pelibuey ewes. *Animal Reproduction Science*. 107(1):85-93.

Rosa, H.J.D., Bryant M.J. (2002). Review: The "ram effect" as a way of modifying the reproductive activity of the ewe. *Small Ruminant Research*. 45:1-16.

Rosa, H.J.D., Bryant M.J. (2003). Review: Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research*. 48:155-171.

Salloum, B.A., Claus, R. (2005). Interaction between lactation, photoperiodism and male effect in German Merino ewes. *Theriogenology*. 63:2181-2193.

Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B. (2008). The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reproduction Domestic Animal*. 43(2):129-136.

Schinkel, P.G. (1954). The effect of the presence of the ram on the ovarian activity of the ewe. *Australian Veterinary Journal*. 30: 189-195.

Schmitt, E.J.P., Diaz, T., Barros, C.M., de la Sota, L., Drost, E.W., Fredriksson, E.W., Staples, C.R., Thorner, R., Thatcher, W.W. (1996). Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Journal Animal Science*. 74:1074-1083.

Smith, M.S., True, C., Grove, K.L. (2010). The neuroendocrine basis of lactation-induced suppression of GnRH: Role of kisspeptin and leptin. *Brain Research*. 1364:139-152.

Southee, J.A., Hunter, M.G., Haresign, W. (1988). Function of abnormal corpora lutea *in vivo* after GnRH-induced ovulation in the anoestrous ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 84:131-137.

Spencer, T.E., Bazer, F.W. (2002). Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Frontiers in Bioscience*. 7:1879-1898.

Sun, H.W., Kang, Z.S., LI, H. (2010). Determination of nine steroid hormone residues in beef samples by gel permeation chromatography-solid phase extraction-rapid resolution liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry. *Chinese Journal Analytical Chemistry*. 38(9):1272-1276.

Tasende, C., Rodríguez-Piñón, M., Acuña, S., Garófalo, E.G., Fosberg, M. (2005). Corpus luteum life span and pituitary oestrogen and progesterone receptors in cyclic and gonadotrophin-releasing hormone-treated anoestrous ewes. *Reproduction, Fertility and Development*. 17:721-726.

Thiéry, J.C., Chemineau, P., Hernandez, X., Migaud, M., Malpoux, B. (2002). Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Animal Endocrinology*. 23:87-100.

Titi, H.H., Kridli, R.T., Alnimer, M.A. (2010). Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GnRH, progestogen and prostaglandin F_{2α}. *Reproduction in Domestic Animals*. 45:594-599.

Ungerfeld, R., Forsberg, M., Rubianes, E. (2004). Overview of the response of anoestrus ewes to the ram effect. *Reproduction Fertility and Development*. 16:479-490

Ungerfeld, R. (2007). Socio-sexual signaling and gonadal function: opportunities for reproductive management in domestic ruminants. In: Juengel J.I., Murray J.F., Smith M.F. (eds), *Reproductions in Domestic Ruminants VI*. Nottingham University Press. Nottingham, pp 207-221.

Valasi, I., Leontides, L., M, I., A, G.S. (2007). Oestradiol concentration as a predictor of ovarian response in FSH stimulated ewe-lambs. *Animal Reproduction Science*. 102:145-151.

Valasi, I., Chadio, S., Fthenakis, G.C., Amiridis, G.S. (2012) Management of pre-pubertal small ruminants: Physiological basis and clinical approach. *Animal Reproduction Science*. 130:126-134.

Wallace, L.D., Breiner, C.A., Breiner, R.A., Spell, A.R., Carter, J.A., Lamb, G.C., Stevenson, J.S. (2011). Administration of human chorionic gonadotropin at embryo transfer induced ovulation of a first wave dominant follicle, and increased progesterone and transfer pregnancy rates. *Theriogenology*. 75(8):1506-1515.

Wheaton, J.E., Windels, H.F., Johnston, L.J. (1992). Accelerated lambing using exogenous progesterone and the ram effect. *Journal of Animal Science*. 70:2628-2635.

Windorski, E.J., Schauer, C.S., Wurst, A.K., Inskip, E.K., Luther, J.S. (2008). Effects of melengestrol acetate and PG 600 on fertility in Rambouillet ewes outside the natural breeding season. *Theriogenology*. 70:227-232.

Wildeus, S. (2000). Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal Animal Science*. 77:1-14.

Zarate-Martínez, J.P., Zarco-Quintero, L.A., Mejía-Villanueva, V.O., Balcázar-Sánchez, J.A. (1995). Efecto de la aplicación de líquido folicular equino libre de esteroides sobre la función lútea de ovejas en anestro estacional inducidas a ovular con hCG. *Veterinaria México*. 26 (2):350.

Zarco, L., Stabenfeldt, G.H., Quirke, J.F., Kindahl, H., Bradford, G.E. (1988). Release of prostaglandin F2 alfa and the timing of events associated with luteolysis in ewes with different oestrus cycle lengths. *Journal of Reproduction and Fertility*, 83:517-526.

VII. ANEXOS.

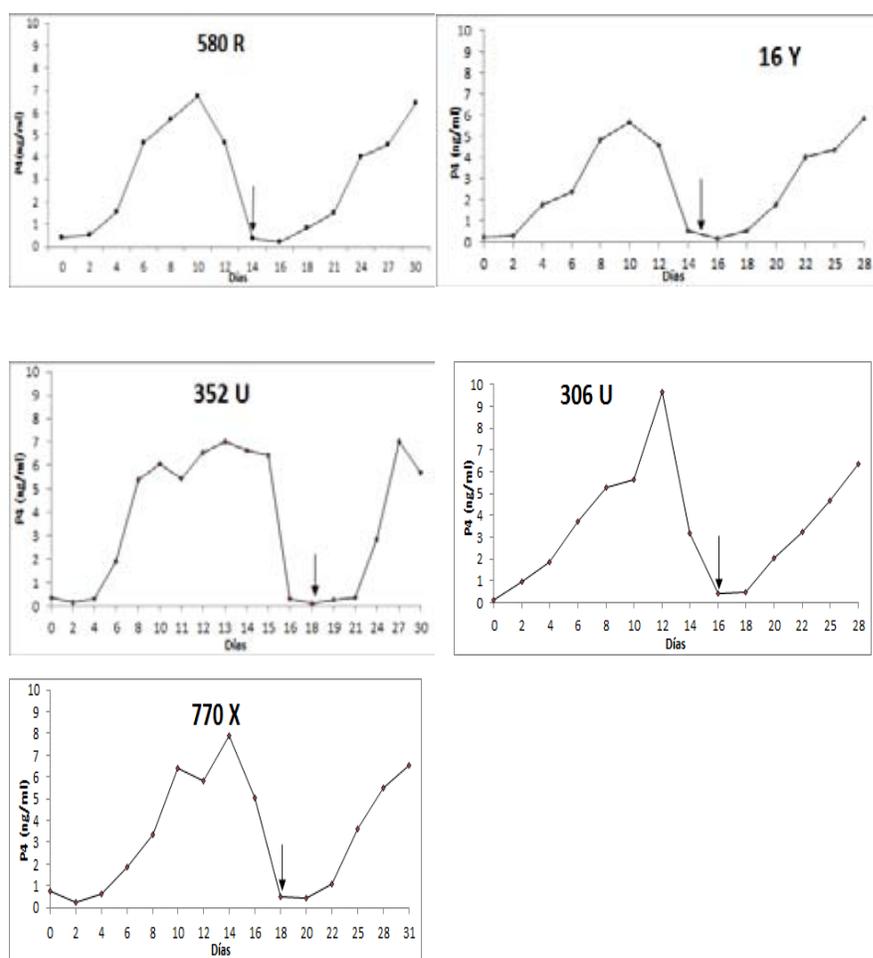


Figura 1. Concentraciones de progesterona de las ovejas pertenecientes al grupo testigo que tuvieron un primer ciclo de duración normal y presentaron estro al terminar el primer ciclo. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas y quedaron gestantes.

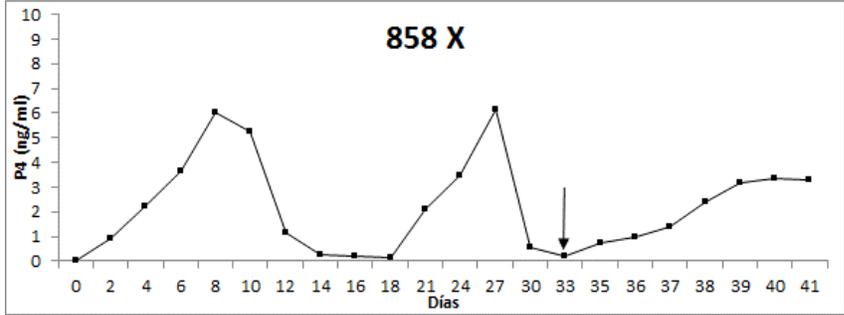
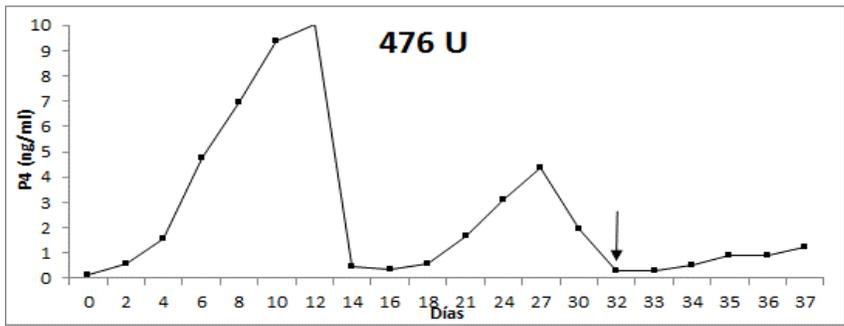


Figura 2. Concentraciones de progesterona de las ovejas pertenecientes al grupo testigo que tuvieron un primer ciclo de duración normal, pero presentaron estro hasta concluir el segundo ciclo. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas y quedaron gestantes.

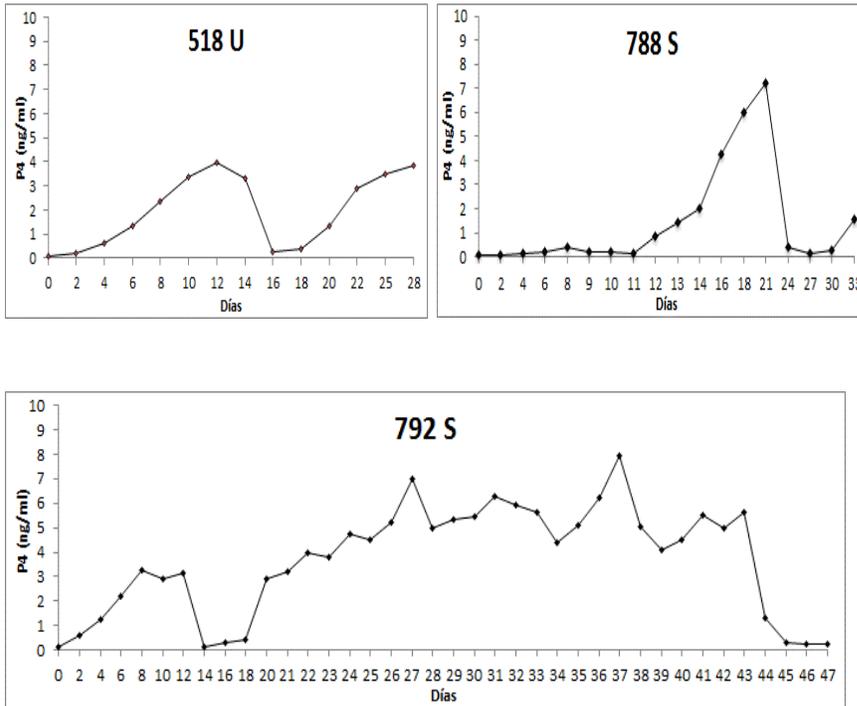


Figura 3. Concentraciones de progesterona de ovejas del grupo testigo que tuvieron un primer ciclo de duración normal pero nunca presentaron esto. La oveja 792 S presentó persistencia espontánea del cuerpo lúteo después de su segunda ovulación.

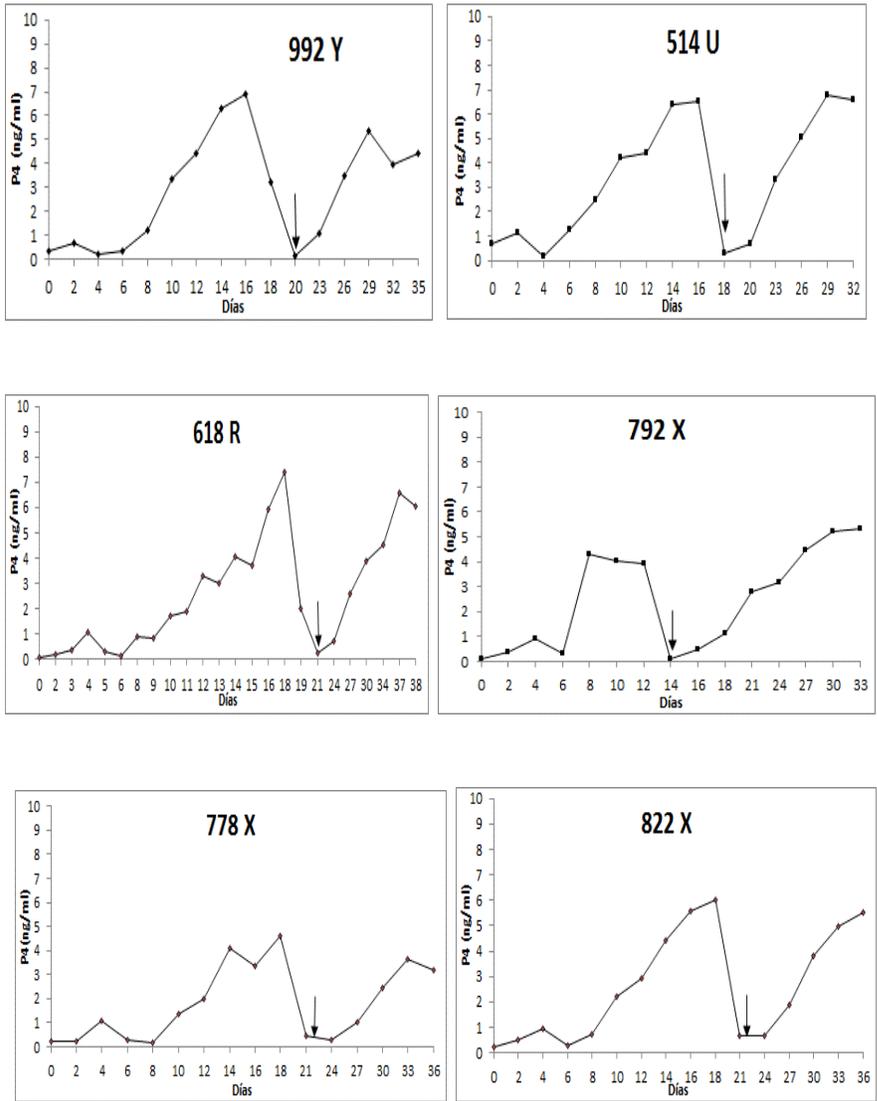


Figura 4. Concentraciones de progesterona en ovejas del grupo testigo que presentaron un primer ciclo corto de corta duración. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas.

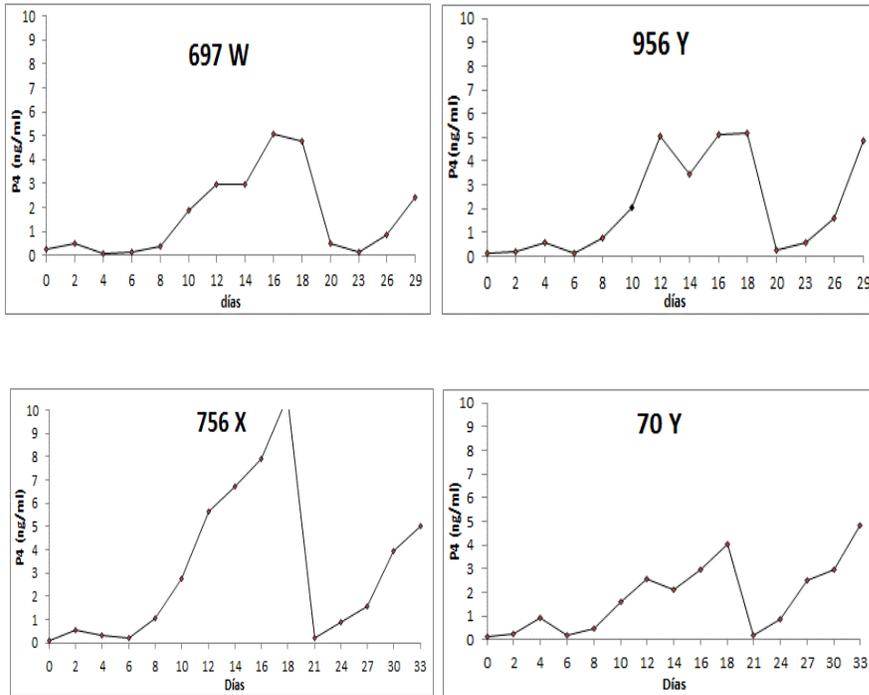


Figura 5. Concentraciones de progesterona en ovejas del grupo testigo que presentaron un primer ciclo de corta duración y nunca presentaron estro a pesar de haber tenido un ciclo subsecuente de duración normal.

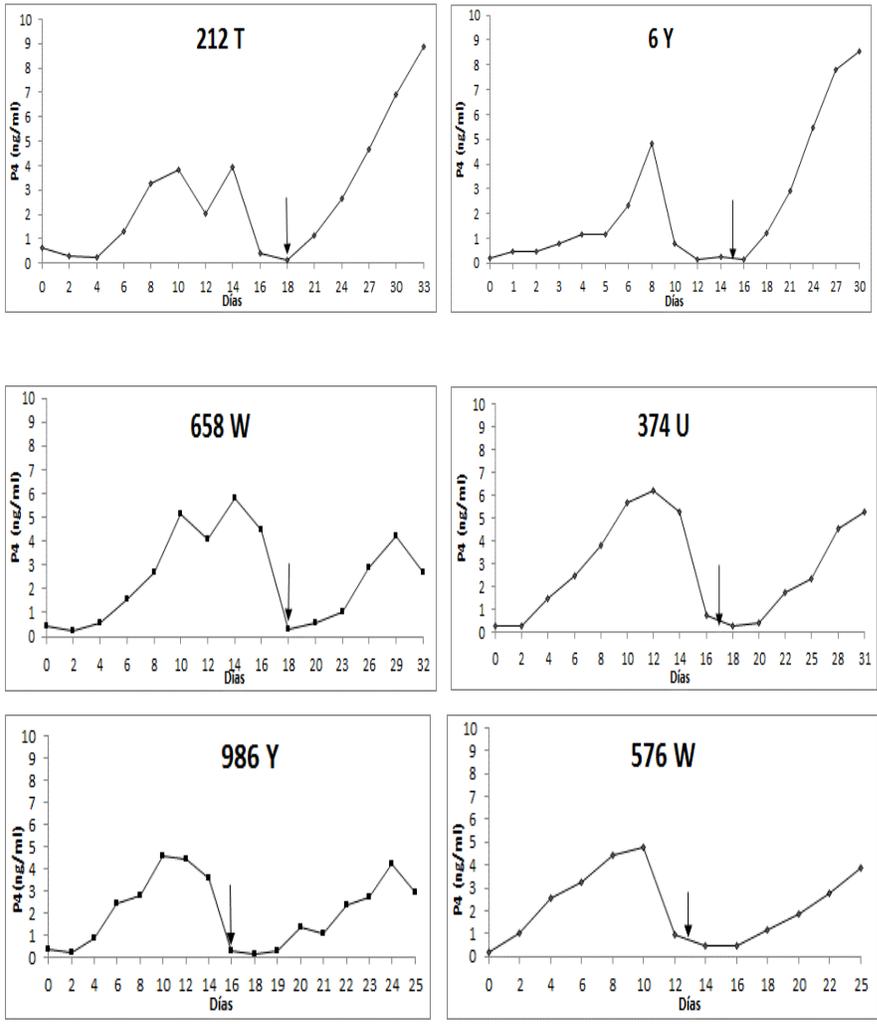


Figura 6. Concentraciones de progesterona en ovejas pertenecientes al grupo GnRH-1 que presentaron un primer ciclo de duración normal. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas y quedaron gestantes.

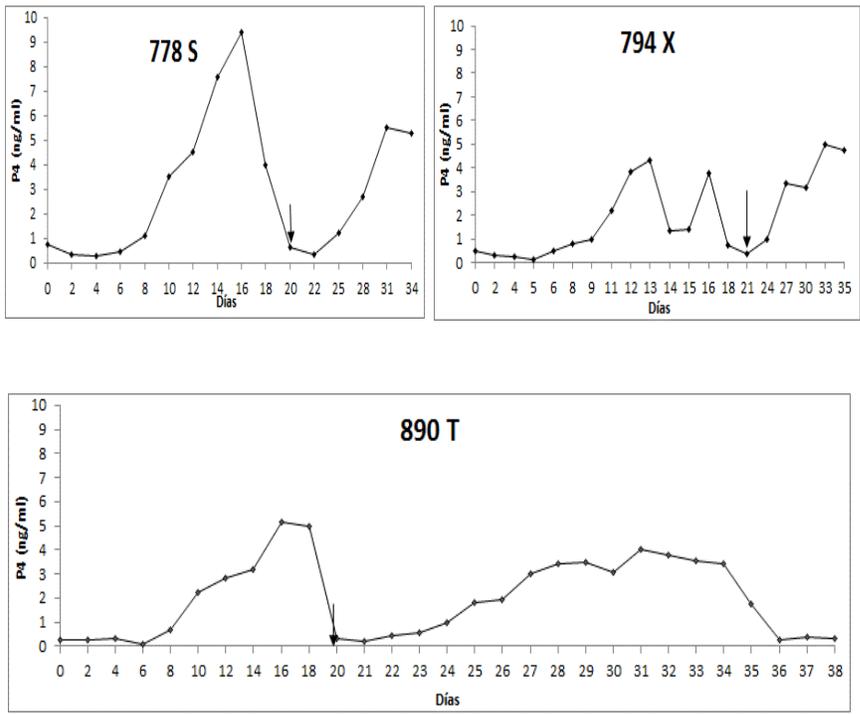


Figura 7. Concentraciones de progesterona en ovejas pertenecientes al grupo GnRH-1 que presentaron un primer ciclo de duración normal. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas. Las ovejas 778S y 794X quedaron gestantes en ese estro. La oveja 890T no quedó gestante.

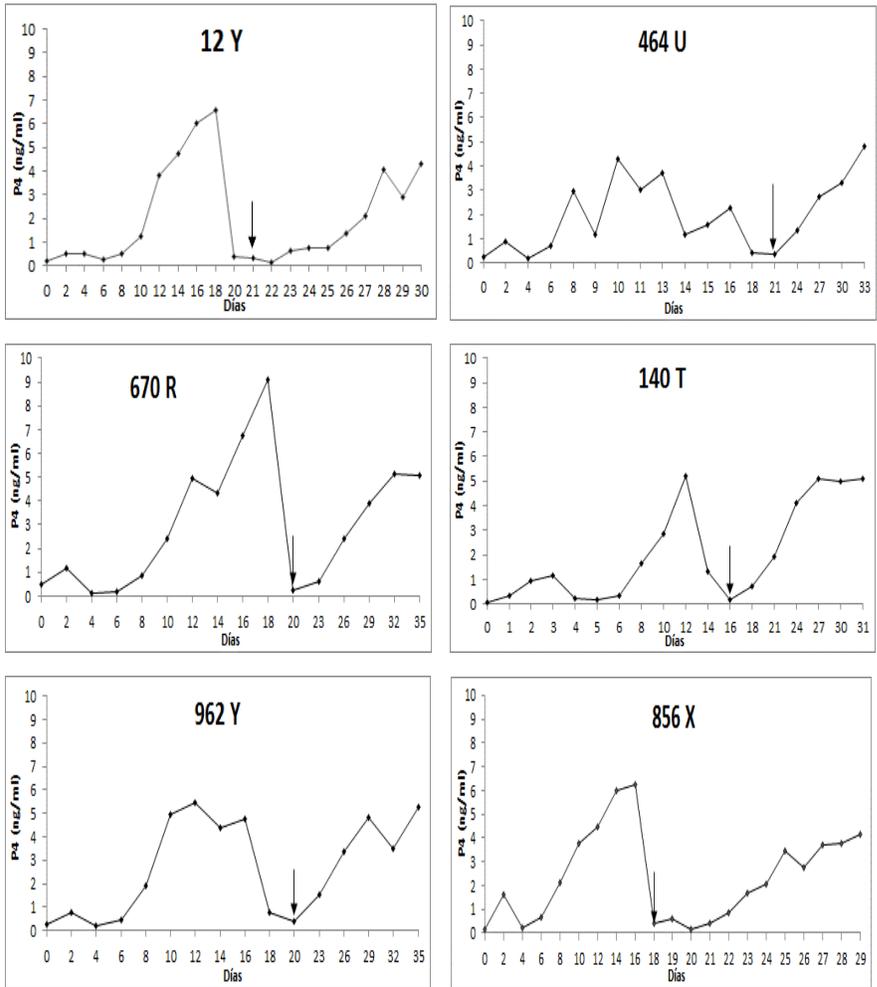


Figura 8. Concentraciones de progesterona en ovejas del grupo GnRH-1 que presentaron un primer ciclo de corta duración. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento del primer servicio y el momento en que quedaron gestantes.

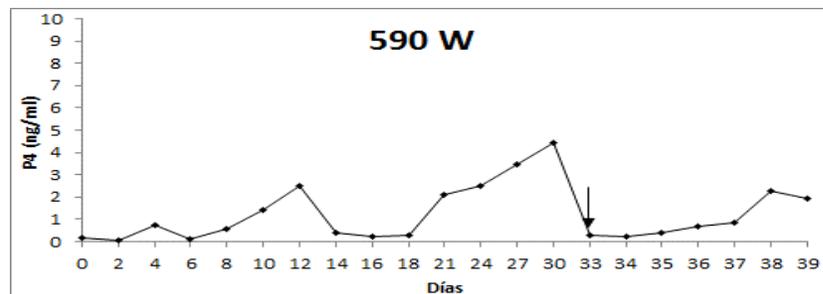
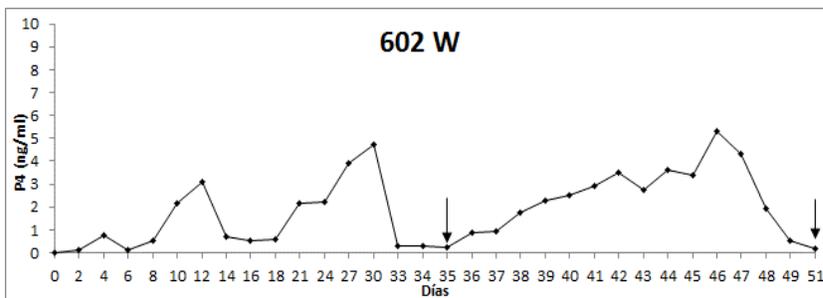
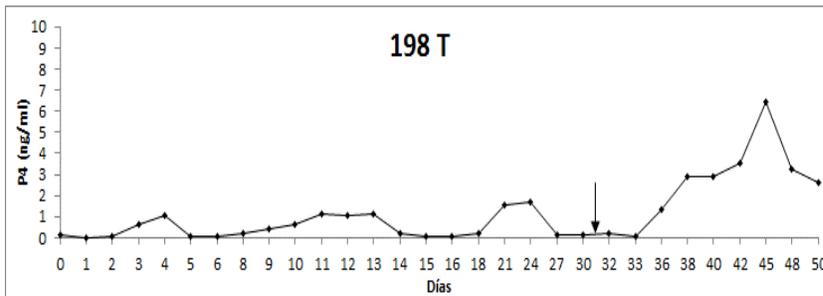


Figura 9. Concentraciones de progesterona en ovejas pertenecientes al grupo GnRH-1 que tuvieron un primer ciclo de corta duración y presentaron estro hasta la tercera ovulación. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas. La oveja 198 quedó gestante en ese servicio. La oveja 602 W no quedó gestante y retornó a estro en el día 51 pero ya no fue servida. La oveja 590 W tuvo dos ciclos cortos antes de tener un ciclo de duración normal.

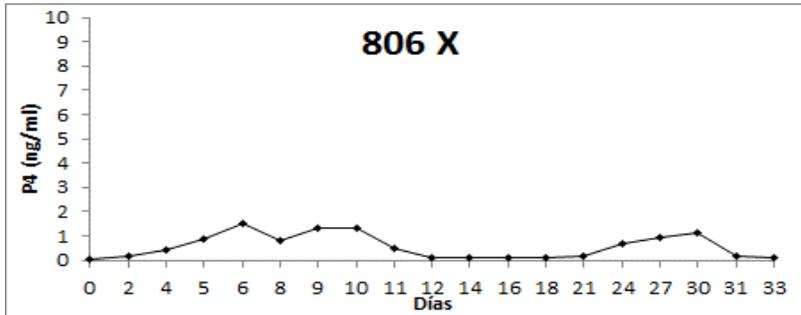
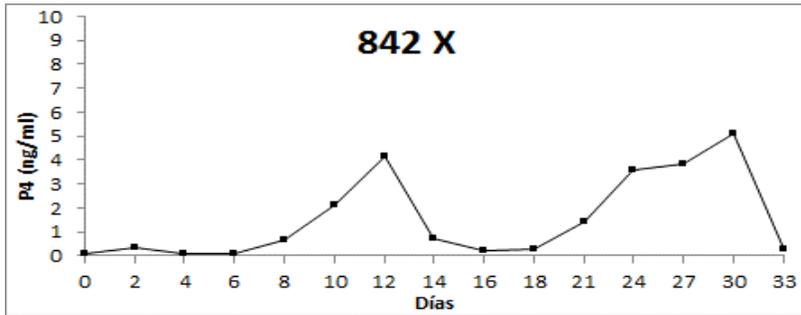


Figura 10. Concentraciones de progesterona en ovejas del grupo GnRH-1 que nunca presentaron estro.

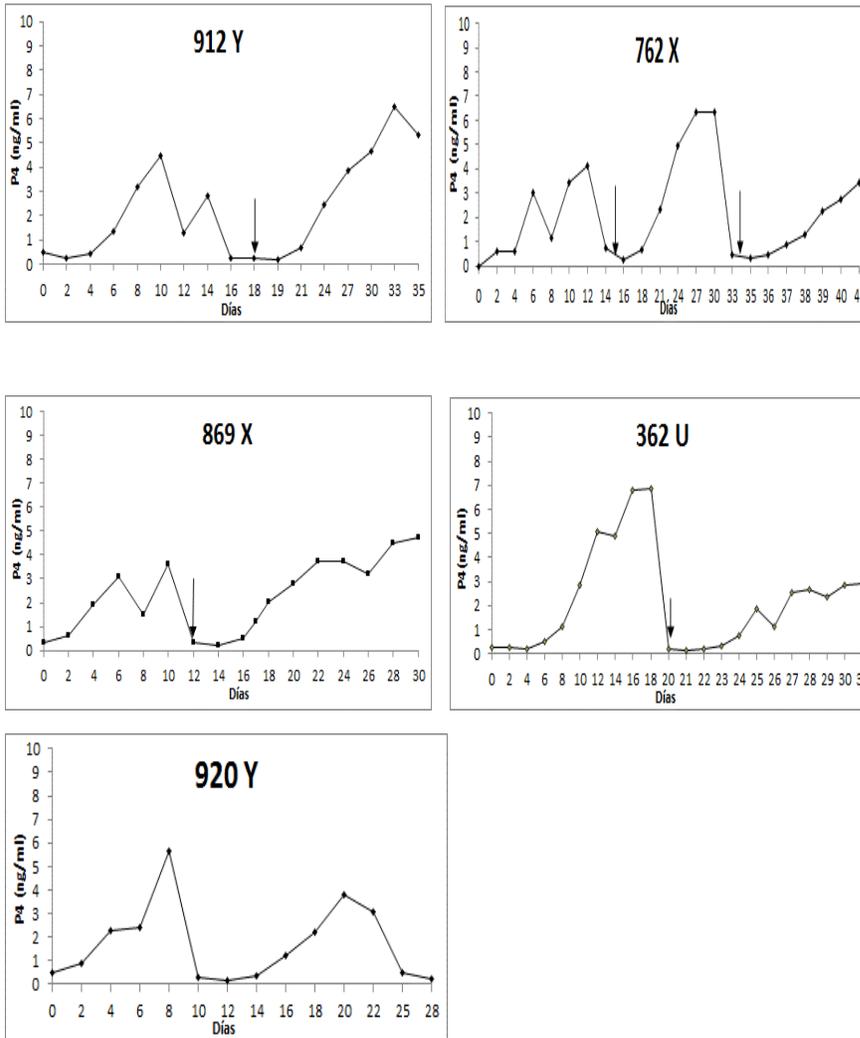


Figura 11. Concentraciones de progesterona en ovejas pertenecientes al grupo GnRH-2 que presentaron un primer ciclo de duración normal. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas y quedaron gestantes. La oveja 920 Y no presentó estro durante el experimento.

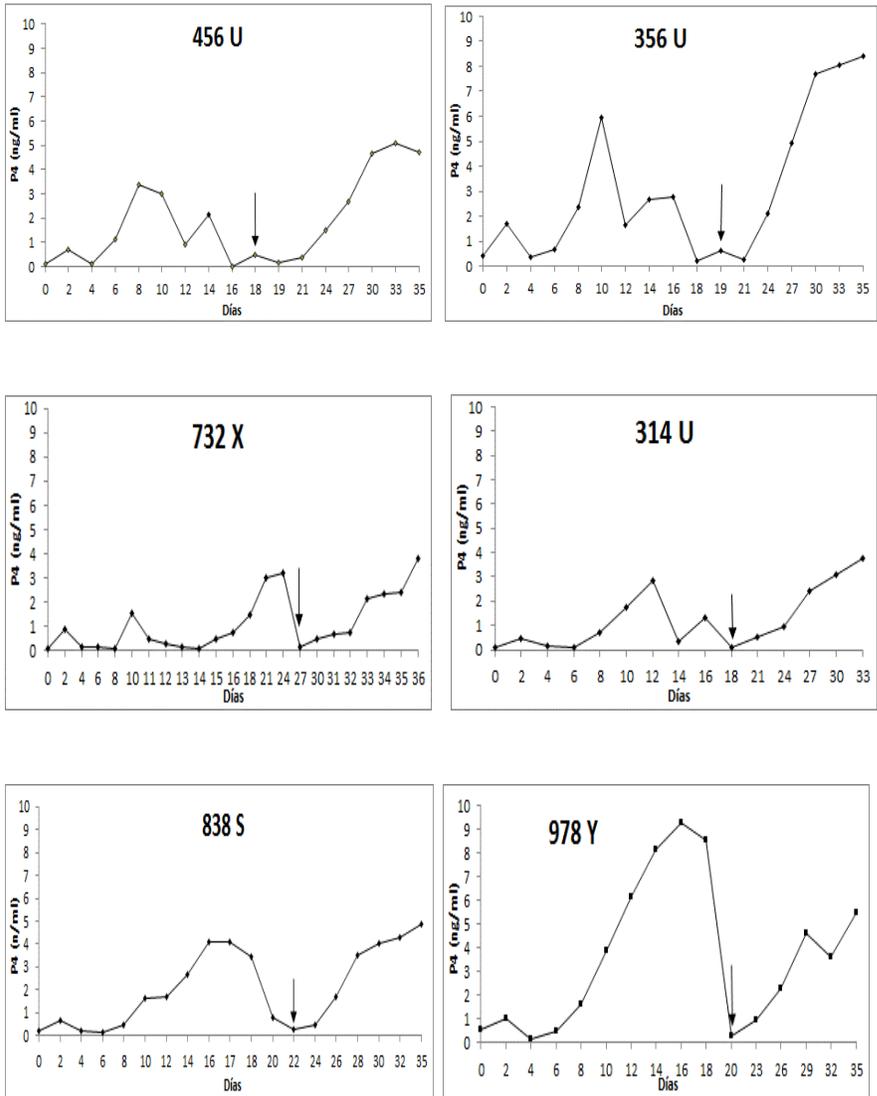


Figura 12. Concentraciones de progesterona en ovejas del grupo GnRH-2 que presentaron un primer ciclo corto. Las flechas indican el momento del primer estro, que es también el momento en que fueron servidas y quedaron gestantes.

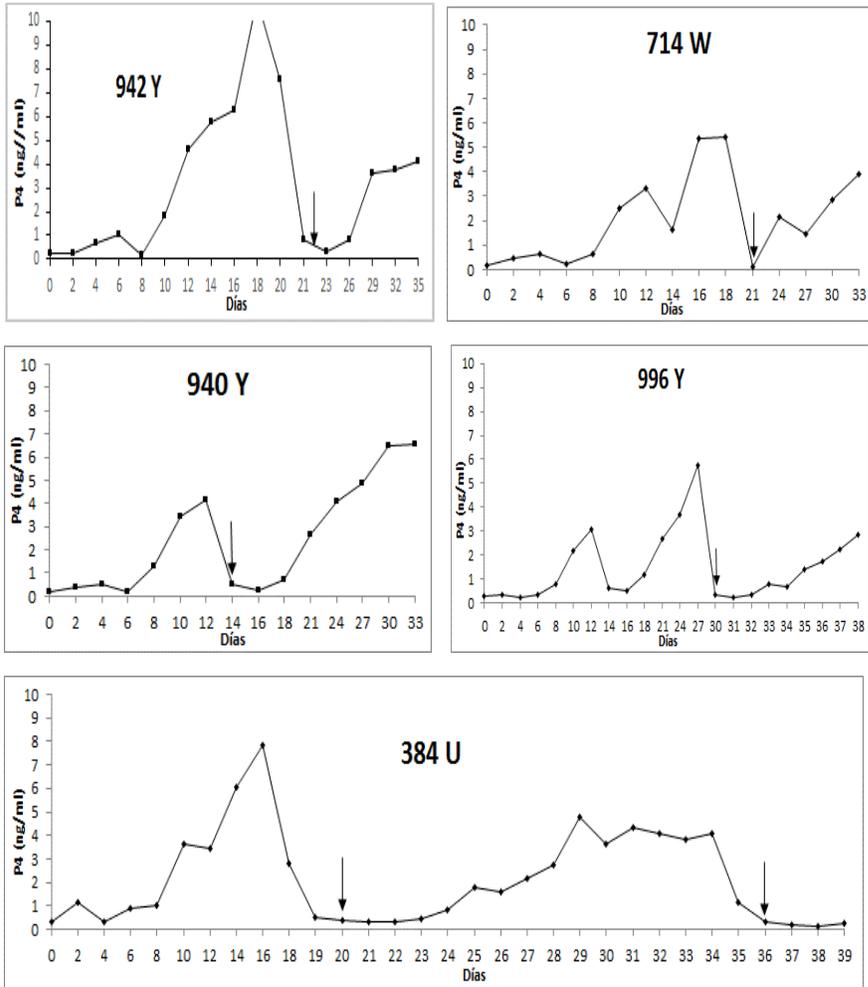


Figura 13. Concentraciones de progesterona en ovejas del grupo GnRH-2 que tuvieron un primer ciclo de corta duración. Las flechas indican el momento en que presentaron estró y fueron servidas. Las ovejas 942Y, 714 W y 940Y quedaron gestantes en el servicio indicado en las gráficas. Las ovejas 996 Y y 384 U no quedaron gestantes en ninguno de los servicios indicados.

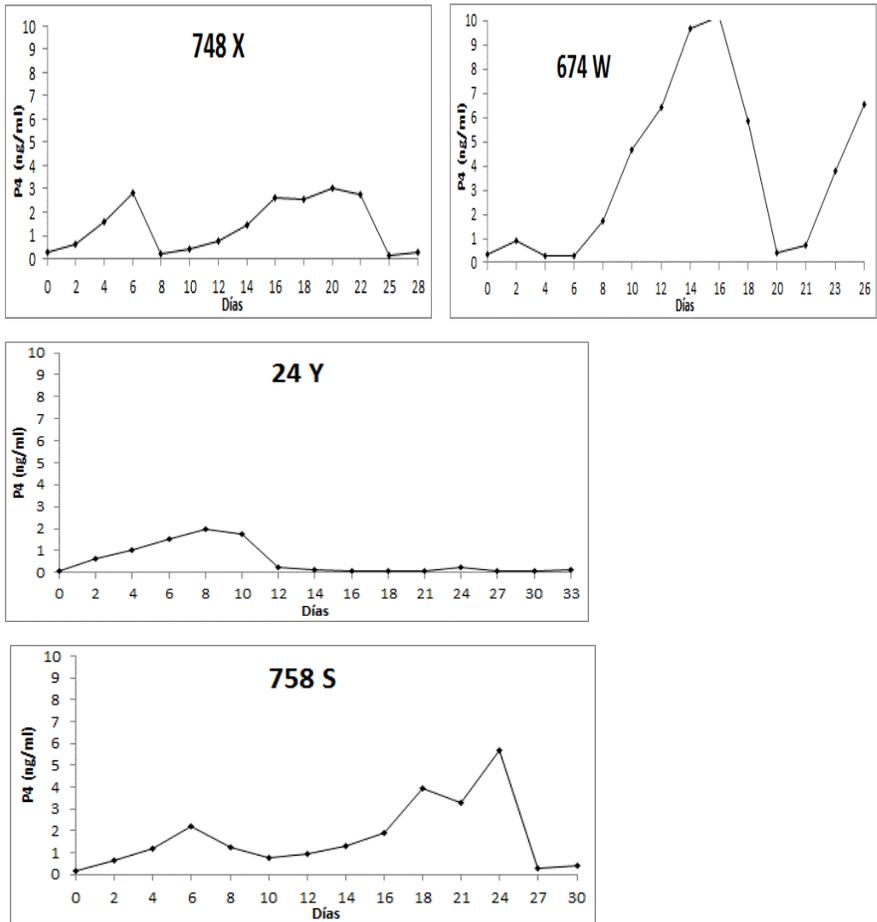


Figura 14. Concentraciones de progesterona en dos ovejas del grupo GnRH2 que tuvieron un primer ciclo corto y nunca presentaron estro (ovejas 748 X y 674W), y en dos ovejas con respuesta ovárica atípica. La oveja 24 Y retornó al anestro después de la primera fase lútea. La oveja 758 S tuvo persistencia espontánea de la primera fase lútea. Ninguna de las dos ovejas presentó estro durante el estudio.