



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE
LA SALUD ANIMAL

**Aplicación de un tratamiento de sincronización corto y largo con progestágenos más
prostaglandinas, en combinación con eCG, en la oveja Pelibuey para evaluar la
dinámica folicular a través de ultrasonografía.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:

MVZ DANIELA GARCIAFARRÉ SEMITIEL

TUTOR PRINCIPAL:

M en C ANTONIO ROLDÁN ROLDÁN

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

COMITÉ TUTOR:

DR. ADRIÁN GUZMÁN SÁNCHEZ

Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco

DRA. HILDA M. GURRERO NETRO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE
LA SALUD ANIMAL**

**Aplicación de un tratamiento de sincronización corto y largo con progestágenos más
prostaglandinas, en combinación con eCG, en la oveja Pelibuey para evaluar la
dinámica folicular a través de ultrasonografía.**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

PRESENTA:

MVZ DANIELA GARCIAFARRÉ SEMITIEL

TUTOR PRINCIPAL:

M en C ANTONIO ROLDÁN ROLDÁN

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

COMITÉ TUTOR:

DR. ADRIÁN GUZMÁN SÁNCHEZ

Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco

DRA. HILDA M. GURRERO NETRO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A mis padres, Alba y Gastón.

A mi abuela, Nachi.

AGRADECIDIMIENTOS

Agradezco a mis padres, Alba y Gastón por todo su amor y apoyo incondicional. Gracias por la educación y los valores que me dieron, por enseñarme a ser una persona responsable, a proponerme objetivos y lograrlos, gracias por nunca dudar de mí y de lo que puedo llegar a hacer, gracias, mamá por recordármelo siempre que lo he necesitado. Son los mejores papás que podría tener y sin ustedes no sería quien soy, los amo.

A mis amadas hermanas, Andrea y Mariana, que sin duda son grandes mujeres y un ejemplo a seguir. Gracias por compartir este viaje conmigo.

Agradezco a mi abuela Nachi, por ser el ser más paciente, por siempre escucharme y alentarme a seguir adelante. Te amo, abue.

A mi Genaro, gracias, mi amor por tu inmenso amor y solidaridad, por las incansables pláticas, consejos y regaños. Tu apoyo fue indispensable durante este proceso, gracias por estar ahí para levantarme cuando creía que ya no podía más. Te amo muchísimo.

A mis amigos del alma, Ana y Yael, gracias por siempre acompañarme, escucharme y apoyarme.

A mis amadas perritas, Tuna y Flor, por existir, alegrarme la vida y por su inmenso cariño.

Agradezco a mi asesor, Toño, muchas gracias por aceptarme como tu alumna, por compartir tus conocimientos conmigo y exigirme todos los días para ser mejor.

Agradezco a mi comité tutor, al Dr. Adrián Guzmán y a la Dra. Hilda M. Guerrero por su tiempo, sus críticas y comentarios fueron de gran valor para mi formación académica y para realizar un buen trabajo de maestría.

Gracias a los miembros de mi jurado, Dr. José Manuel Berruecos, Dr. Antonio Ortiz y Dr. José Alfredo Medrano por su tiempo, sus observaciones me ayudaron a culminar de la mejor forma mi trabajo.

Agradezco a Pablo, Diana y Juan por su apoyo durante mi trabajo experimental.

Gracias a May, Pau, Iván, Pam, Moi, Edith, Ari, Memo, Jorge, Melany, Ericka, Itzel, Steph, Brenda, Rebeca y seguramente se me olvida alguien por ahí, les agradezco su tiempo, su paciencia y apoyo durante la fase experimental de mi investigación. Me queda claro que sin ustedes nada de esto sería posible.

Gracias a mi queridísimo amigo José Enrique, por sus aportaciones y apoyo durante este proceso.

Agradezco a CEPIPSA, por permitirme realizar mi trabajo ahí y ser mi casa durante algunas semanas.

A mis borregas Pelibuey, ahora tienen una parte de mi corazón.

A CONACyT por becarme durante dos años y permitirme desarrollarme profesionalmente.

Agradezco al Posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal por aceptarme en el programa y permitirme realizar mis estudios una vez más en mi querida Universidad.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1 Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada	5
4.2 Ciclo estral	5
4.2.1 Secreción de gonadotropinas durante el ciclo estral	6
4.2.2 Secreción de estradiol durante el ciclo estral	6
4.2.3 Secreción de progesterona durante el ciclo estral	7
4.2.4. Cuerpo lúteo	7
4.3 Foliculogénesis	8
4.3.1 Factores de crecimiento y desarrollo folicular	9
4.3.2 Folículos primordiales.....	11
4.3.3 Folículos comprometidos (Primarios y preantrales tempranos).....	11
4.3.4 Folículos sensibles/responsivos a gonadotropinas (Preantrales grandes y antrales pequeños)	12
4.3.5 Folículos dependientes de gonadotropinas (Antrales grandes)	13
4.3.6 Folículos ovulatorios	13
4.4 Dinámica folicular en el ciclo estral	14
4.5 Protocolos de sincronización	16
4.6 Uso de hormonas exógenas para aumentar la tasa ovulatoria.....	17
4.6.1 Gonadotropina coriónica equina (eCG)	18
4.7 Persistencia folicular.....	20
5. HIPÓTESIS	21
6. OBJETIVOS.....	21
7. MATERIAL Y MÉTODOS	22
7.1 Localización.....	22

7.2 Metodología	22
7.2.1 Protocolo de sincronización	23
7.2.2 Seguimiento por ultrasonografía	23
7.2.3. Detección del celo	24
7.2.4. Análisis estadístico	26
8. RESULTADOS	26
8.1 Dinámica folicular	27
8.2 Oleadas foliculares.....	28
8.3 Persistencia folicular.....	29
8.3.1 Casos específicos de persistencia folicular	35
8.4 Respuesta al tratamiento de sincronización	38
9. DISCUSIÓN.....	43
10. CONCLUSIONES.....	49
11. LITERATURA CITADA.....	50
12. ANEXOS	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Efecto de la presencia o ausencia de eCG y del tiempo, sobre las variables: Número de folículos reclutados, número de folículos atrésicos, número de folículos ovulados y tasa de folículos ovulados/folículos atrésicos	27
Cuadro 2. Efecto de la presencia o ausencia de eCG y del tiempo, sobre las variables: Diámetro a la emergencia, diámetro a la ovulación y tiempo de desarrollo del folículo ovulado.....	28
Cuadro 3. Efecto de la presencia o ausencia de eCG sobre las variables: Número de oleadas foliculares y tasa número de oleadas/tiempo desde la inserción de la esponja hasta la ovulación (TNO/TIEO).....	29
Cuadro 4. Efecto de la presencia o ausencia de eCG, el tiempo de tratamiento y la interacción de eCG y tiempo (eCG*Tiempo), sobre las variables: Número de folículos persistentes totales, tasa de folículos persistentes totales/ folículos reclutados, número de folículos persistentes totales categoría tipo I, número de folículos persistentes totales categoría tipo II.....	29
Cuadro 5. Efecto de la presencia o ausencia de eCG, del tiempo de tratamiento y de la interacción eCG y tiempo (eCG*Tiempo) sobre las variables: Número de folículos persistentes ovulados, tasa de folículos persistentes ovulados/ folículos reclutados, número de folículos persistentes ovulados categoría tipo I, número de folículos persistentes ovulados categoría tipo II, número de folículos persistentes no ovulados, tasa de folículos persistentes no ovulados/ folículos reclutados, número de folículos persistentes no ovulados categoría tipo I, número de folículos persistentes no ovulados categoría tipo II.	31
Cuadro 6. Efecto de la presencia o ausencia de eCG y el tiempo de tratamiento sobre las variables: Número de folículos ovulados no persistentes, número de folículos no persistentes atrésicos.....	32
Cuadro 7. Efecto del número de cuerpos lúteos y el número de días con cuerpo lúteo sobre las variables: Presencia de persistencia folicular, número de folículos persistentes totales, presencia de persistencia categoría tipo I y presencia de persistencia categoría tipo II.....	33
Cuadro 8. Efecto de ausencia o presencia de eCG y del tiempo de tratamiento, sobre las variables: Inicio del celo, duración del celo, tiempo entre retiro del dispositivo a ovulación, tiempo entre presentación del estro a ovulación y tiempo de formación del cuerpo lúteo.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reconocimiento de estructuras ováricas.....	24
Figura 2. Tratamiento corto con eCG (TCE).....	24
Figura 3. Tratamiento corto control (TCC).....	25
Figura 4. Tratamiento largo con eCG (TLE).....	25
Figura 5. Tratamiento largo control (TLC).....	25
Figura 6. Relación entre las variables: número de días con cuerpo lúteo y número de folículos persistentes	34
Figura 7. Relación entre las variables: número de días con cuerpo lúteo y presencia de persistencia folicular tipo I.....	34
Figura 8. Dinámica folicular del ovario derecho de la oveja 12209 (TLE).....	35
Figura 9. Dinámica folicular del ovario izquierdo de la oveja 12209 (TLE).....	36
Figura 10. Dinámica folicular del ovario izquierdo y derecho de la oveja 9106 (TCC).	37
Figura 11. Dinámica folicular de la oveja 7006 (TCE).....	38
Figura 12. Diámetro promedio y duración en días de los folículos ovulatorios	40
Figura 13. Diámetro folicular promedio y duración de los folículos ovulatorios del grupo TLC, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.....	41
Figura 14. Diámetro folicular promedio y duración de los folículos ovulatorios del grupo TLE, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.....	41
Figura 15. Diámetro folicular promedio y duración de los folículos ovulatorios del grupo TCC, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.	42
Figura 16. Diámetro folicular promedio y duración de los folículos ovulatorios del grupo TCE, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.....	42
Figura 17. Comportamiento por individuo del grupo TLC	60
Figura 18. Comportamiento por individuo del grupo TLE.....	60
Figura 19. Comportamiento por individuo del grupo TCC	61

Figura 20. Comportamiento por individuo del grupo TCE	61
Figura 21. Dinámica folicular de la oveja 7001	62
Figura 22. Dinámica folicular de la oveja 7003	63
Figura 23. Dinámica folicular de la oveja 7147	64
Figura 24. Dinámica folicular de la oveja 12198	65
Figura 25. Dinámica folicular de la oveja 12201	66
Figura 26. Dinámica folicular de la oveja 7007	67
Figura 27. Dinámica folicular de la oveja 7011	68
Figura 28. Dinámica folicular de la oveja 7021	69
Figura 29. Dinámica folicular de la oveja 9074	70
Figura 30. Dinámica folicular de la oveja 12209	71
Figura 31. Dinámica folicular de la oveja 9106	72
Figura 32. Dinámica folicular de la oveja 12216.....	73
Figura 33. Dinámica folicular de la oveja 7014	74
Figura 34. Dinámica folicular de la oveja 7029	75
Figura 35. Dinámica folicular de la oveja 9122	76
Figura 36. Dinámica folicular de la oveja 9125	77
Figura 37. Dinámica folicular de la oveja 7005	78
Figura 38. Dinámica folicular de la oveja 7006	79
Figura 39. Dinámica folicular de la oveja 7031	80

1. RESUMEN

Daniela Garciafarré Semitiel. Aplicación de un tratamiento de sincronización corto y largo con progestágenos más prostaglandinas, en combinación con eCG, en la oveja Pelibuey para evaluar la dinámica folicular a través de ultrasonografía (bajo la dirección del M en C Antonio Roldán Roldán)

El tratamiento de elección para la sincronización del estro es el uso de esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos. Estas comúnmente se utilizan durante periodos largos de 12 a 14 días; sin embargo, estos tratamientos se han asociado a presencia de persistencia folicular y baja fertilidad. Como alternativa, se ha sugerido el uso de estas esponjas por periodos cortos (5 o 6 días), lo cual promueve un recambio folicular acelerado y un aumento en la fertilidad. Adicionalmente, el uso de gonadotropina coriónica equina (eCG) al final del tratamiento de sincronización, incrementa el número de folículos reclutados y la tasa de crecimiento de folículos antrales, evita la atresia folicular, dando como resultado un aumento en la tasa ovulatoria. El objetivo de este trabajo fue determinar la tasa ovulatoria y la presencia de folículos persistentes, así como su categoría, en protocolos de sincronización cortos y largos, con o sin eCG. Por medio del seguimiento de la dinámica folicular con ultrasonografía transrectal (7.5 MHz), se determinó el número y tamaño de estructuras ováricas, además del tiempo de formación del cuerpo lúteo; así mismo, se midió el inicio y duración del estro, empleando machos con mandil. Se utilizaron cuatro grupos experimentales cada uno con diez ovejas de raza pelibuey, sin embargo, para determinar la dinámica folicular únicamente a cinco individuos de cada grupo, se les realizó ultrasonido transrectal (n=5). A todos los animales se les insertó una esponja intravaginal con acetato de fluorogestona durante 5 (TC) y 11 (TL) días; a su retiro, se administró 125 µg de cloprostenol vía IM. Las ovejas del tratamiento largo control (TLC) y del corto control (TCC), recibieron al final de este, una inyección de solución salina fisiológica (SSF) vía IM. En el caso de las hembras de los tratamientos largos con eCG (TLE) y corto con eCG (TCE), recibieron al final del tratamiento con progestágenos, 200 UI de eCG vía IM. Los animales de tratamiento largo, independientemente del uso o no de eCG, tuvieron una mayor tasa ovulatoria (2.1) y un mayor número de folículos persistentes (2.3), específicamente de categoría I (1.30), en comparación a los tratamientos cortos (1.60, 0.5, 0.0 respectivamente) ($P < 0.05$). A mayor número de días con un cuerpo lúteo endógeno durante un tratamiento de sincronización, hay tendencia ($P = 0.08$) a presentar persistencia folicular categoría I y un mayor número de folículos persistentes. En los animales que recibieron gonadotropina coriónica equina (200 UI), no hubo respuesta significativa en el aumento de la tasa ovulatoria; sin embargo, se encontró mayor número de folículos ovulados no persistentes (1.70), menor tiempo de inicio del celo (44.40 horas) ($P < 0.05$) y una tendencia ($P = 0.06$) a retrasar la formación del cuerpo lúteo, en comparación a los tratamientos que no recibieron eCG (1.0 y 53.30, horas respectivamente).

2. ABSTRACT

Daniela Garciafarré Semitiel. Application of a short and long synchronization treatment with progestogens plus prostaglandins, in combination with eCG, in Pelibuey sheep to evaluate follicular dynamics through ultrasonography.

The treatment of choice for the synchronization of estrus is the use of intravaginal sponges impregnated with progestogens. These are commonly used for long periods of 12 to 14 days; however, these treatments have been associated with the presence of follicular persistence and low fertility. As an alternative, the use of these sponges for short periods (5 or 6 days) has been suggested, which promotes accelerated follicular turnover and increased fertility. Additionally, the use of equine chorionic gonadotropin (eCG) at the end of the synchronization treatment, increases the number of recruited follicles and the growth rate of antral follicles, prevents follicular atresia, resulting in an increase in the ovulatory rate. The objective of this work was to determine the ovulatory rate and the presence of persistent follicles, as well as their category, in short and long synchronization protocols, with or without eCG. By monitoring follicular dynamics with transrectal ultrasonography (7.5 MHz), the number and size of ovarian structures was determined, in addition to the time of formation of the corpus luteum, likewise, the onset and duration of estrus was measured using males with an apron. Four experimental groups were used each with ten Pelibuey ewes. To determine the follicular dynamics, only to five individuals from each group were performed transrectal ultrasound (n = 5). All animals were inserted an intravaginal sponge with fluorogestone acetate for 5 (TC) and 11 (TL) days, upon withdrawal 125 µg cloprostenol was administered IM. The ewes of the long control treatment (TLC) and the short control treatment (TCC) received at the end of the treatment with progestogens, an injection of physiological saline solution (SSF) via IM. In the case of the females of the long treatments with eCG (TLE) and short treatment with eCG (TCE), they received at the end of the treatment with progestogens, 200 IU of eCG via IM. Long treatment animals, regardless of the use or not of eCG, had a higher ovulatory rate (2.1) and a greater number of persistent follicles (2.3), specifically category I (1.30), compared to short treatments (1.60, 0.5, 0.0 respectively) (P <0.05). The greater the number of days with an endogenous corpus luteum during a synchronization treatment, there is a tendency (P = 0.08) to present category I follicular persistence and a greater number of persistent follicles. In the animals that received equine chorionic gonadotropin (200 IU), there was no significant response in the increase in ovulatory rate; however, a higher number of non-persistent ovulated follicles (1.70), shorter heat initiation time (44.40 hours) (P <0.05) and a tendency (P = 0.06) to delay the formation of the corpus luteum, compared to the treatments that did not receive eCG (1.0, 53.30 hours respectively).

3. INTRODUCCIÓN

En las producciones ovinas, se ha tenido la necesidad de manipular el ciclo estral de la oveja, así como, el apareamiento natural a través de herramientas biotecnológicas que mejoren los índices reproductivos. Estas herramientas permiten programar el periodo de nacimientos, aprovechar la disponibilidad de recursos, atender la demanda de mercado, y otros aspectos importantes para la producción ovina (Rojo-Martínez y Salas-Razo, 2015). La sincronización del estro en ovinos, se basa en la manipulación de la fase lútea, ya sea prolongando su duración con el uso de progestágenos o acortándola, provocando la regresión del cuerpo lúteo (CL) con el uso de prostaglandinas. En pequeños rumiantes el tratamiento de elección para la sincronización de estro es el uso de esponjas intravaginales impregnadas con acetato de fluorogestona (FGA) o acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Wildeus, 2000). Estos tratamientos, comúnmente se utilizan durante periodos largos (12 a 14 días); sin embargo, hacia el final de este tratamiento las concentraciones de progesterona en sangre son bajas y no inhiben de forma efectiva la secreción de la hormona luteinizante (LH). Como consecuencia el folículo dominante no se atresia y se vuelve un folículo persistente que libera un ovocito viejo al momento de la ovulación reduciendo así, la fertilidad (Viñoles *et al.*, 2001; Menchaca y Rubianes, 2004; Salas-Razo *et al.*, 2013). Durante los primeros días de tratamiento con esponjas, las concentraciones de progesterona son altas y favorecen el recambio folicular acelerando la regresión temprana del folículo dominante y permitiendo la emergencia de nuevos folículos que al momento de ovular liberarán ovocitos jóvenes y con mayor viabilidad. Por lo anterior, se ha observado que el uso de tratamientos cortos con progestágenos (5 o 6 días) incrementan la fertilidad (Viñoles *et al.*, 2001; Menchaca y Rubianes, 2004). Uno de los problemas del uso de tratamientos cortos con progestágenos en animales ciclando, es que, al momento del retiro de la esponja, puede haber un CL endógeno que evita la ovulación (Viñoles *et al.*, 2001). Para evitar esto, se debe usar prostaglandina F2 α (PGF2 α) o sus análogos para inducir la regresión del CL y con ello una subsecuente fase folicular con ovulación (Bartlewski *et al.*, 2011; Abecia *et al.*, 2012; Cox *et al.*, 2012). La PGF2 α se puede utilizar, ya sea al retirar el tratamiento con progestágenos o 24 a 48 horas antes del retiro. Esto asegura la reducción de las concentraciones de progesterona y la

ovulación, 60 horas después de haber removido la esponja intravaginal (Martemucci y D'Alessandro, 2011).

Un parámetro reproductivo importante en ovejas es la prolificidad, la cual se puede incrementar aumentando la tasa ovulatoria. En ovejas y otras especies reproductivas esto se puede lograr, a través de la administración de hormonas exógenas, como la gonadotropina coriónica equina (eCG), la cual, tiene principalmente efecto de hormona folículo estimulante (FSH). La eCG actúa durante el desarrollo folicular, incrementando el número de folículos reclutados, aumentando la tasa de crecimiento de folículos antrales y evitando la atresia folicular, lo que al final incrementa el número de folículos ovulados (Barret *et al.*, 2004; Martínez, 2004). Aunque la eCG puede favorecer la prolificidad, se ha reportado que el uso de una dosis de 250 UI en algunas razas de ovejas, sometidas a un tratamiento corto con progestágenos, promueve la formación de quistes foliculares y por lo tanto un aumento en la concentración de estradiol (Viñoles *et al.*, 2001). La literatura sugiere que esto se debe a que la concentración de progesterona endógena continuaba elevada al momento de la inyección con eCG debido probablemente a un CL endógeno (Viñoles *et al.*, 2001).

En cuanto a los efectos del uso de eCG sobre el medio endocrino del animal, se ha reportado que la concentración de estradiol en ovejas tratadas con progestágenos durante periodos largos y cortos, en combinación con eCG, no muestra diferencias en comparación a una ovulación espontánea (Viñoles *et al.*, 2001). En contraste animales tratados con dosis de 1,000 UI, se caracterizan por una elevada producción de progesterona folicular (Driancourt y Fry, 1992). Adicionalmente se sabe que el uso de eCG en dosis de 1,250 UI, activa de forma prematura a los ovocitos y en consecuencia al momento de la ovulación, el ovocito estará envejecido, disminuyendo así la tasa de fertilidad (Moor *et al.*, 1985).

Por lo tanto, el conocer la dinámica folicular a través de la ultrasonografía en tratamientos de sincronización del ciclo estral, permitirá obtener un mayor entendimiento de estos eventos y por lo tanto una mayor capacidad de mejorar las técnicas reproductivas en la oveja Pelibuey, una de las principales razas productoras de carne ovina en México.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada

El hipotálamo y la hipófisis tienen un papel esencial en la regulación gonadal en mamíferos. La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), es sintetizada por neuronas productoras de GnRH, localizadas en el Área Preóptica (POA) y en el Hipotálamo Medio Basal (HMB), sus axones se proyectan hacia la Eminencia Media (EM). La generación de un pulso de GnRH es producida por la actividad sincrónica de muchas neuronas, principalmente de neuronas KNDy (Maeda *et al.*, 2010; Kanda 2019). A través de esta regulación la GnRH es liberada al sistema circulatorio portal hipotalámico-hipofisiario y actúa en las células gonadotropas de la adenohipófisis para estimular la liberación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) (Kanda, 2019; Plant, 2019). La LH y la FSH actúan a nivel gonadal para dar lugar a la secreción de esteroides sexuales necesarios para la gametogénesis, maduración de órganos sexuales y para regular la vía de retroalimentación hormonal de liberación de GnRH y por lo tanto de LH y FSH, bajo diferentes condiciones fisiológicas (de Tassigny y Colledge, 2010).

4.2 Ciclo estral

Los ovinos, son animales poliéstricos estacionales de días cortos, su reproducción se activa en respuesta a la disminución en la duración del día a finales de verano hasta principios de otoño. Esta estacionalidad reproductiva, se caracteriza por cambios conductuales y endocrinos dando lugar a dos periodos distintos: la época reproductiva en la que se presentan ciclos estrales de forma consecutiva cada 17 días, con presencia de comportamiento estral y ovulación. Y el anestro, caracterizado por el cese de la actividad sexual (Legan y Karsch, 1979; Rosa y Bryant, 2003).

El ciclo estral de ovinos y otras especies de mamíferos, está dividido en dos fases: fase folicular (proestro y estro) y fase lútea (metaestro y diestro). La fase folicular, comienza con la regresión del CL y culmina con la ovulación. Durante esta fase ocurre el crecimiento folicular y por lo tanto la hormona predominante es el estradiol (E₂) producido por estos folículos, los cuales también secretan inhibina. La fase lútea, ocurre desde la ovulación hasta la luteólisis

y durante esta fase, la estructura predominante es el CL y por lo tanto la secreción de progesterona (P₄). La lisis del CL provocado por la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}), secretada en el endometrio uterino, dará lugar al comienzo de un nuevo ciclo (Senger, 2005; Bartlewski *et al.*, 2011).

4.2.1 Secreción de gonadotropinas durante el ciclo estral

El ciclo estral está controlado principalmente por la secreción hipotalámica de GnRH, se conocen dos centros de liberación de esta hormona. El centro tónico, es el encargado de la secreción basal, y el centro cíclico da lugar a la ovulación (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Senger, 2005). Durante la fase folicular del ciclo estral, la frecuencia de pulsos de GnRH incrementa, dando lugar a un aumento en la frecuencia y amplitud de LH, desencadenando así el pico preovulatorio de LH. Esto se lleva a cabo por la disminución de P₄ y el aumento en la secreción de E₂. Estas dos hormonas esteroideas, actúan modulando la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH (Rawlings y Cook, 1993; Senger, 2005)).

Durante el periodo interovulatorio, generalmente hay de 3 a 4 oleadas foliculares, las cuales están estrechamente relacionadas con elevaciones periódicas de la concentración sérica de FSH, ya que estos aumentos transitorios, ocurren justo antes de la emergencia folicular (Bartlewski *et al.*, 2011).

4.2.2 Secreción de estradiol durante el ciclo estral

El primer incremento de E₂ ocurre después de la luteólisis y es concomitante con el aumento en la frecuencia de pulsos de LH, y continúa incrementando durante la fase folicular del ciclo estral. Al momento del pico preovulatorio de LH, las concentraciones de P₄ comienzan a aumentar levemente y las de E₂ a disminuir hasta su mínimo en 16 a 24 horas. Posteriormente se observa nuevamente un incremento de E₂ durante la fase lútea del ciclo estral en intervalos de 3 a 4 días relacionado al desarrollo de oleadas foliculares no ovulatorias (Rawlings and Cook, 1993; Bartlewski *et al.*, 1999a).

4.2.3 Secreción de progesterona durante el ciclo estral

Las concentraciones de P₄, son bajas inmediatamente después de la ovulación, durante el metaestro, pues es en este momento que comienza el proceso de luteinización. A partir del día tres a siete después de la ovulación, las concentraciones de P₄ producidas por el CL comienzan a ser significativas, hasta llegar a una meseta al día 12, posteriormente hay una disminución rápida hasta su nadir antes del siguiente celo y ovulación. (Bartlewski *et al.*, 1999b; Senger, 2005).

4.2.4. Cuerpo lúteo

El metaestro es el periodo entre la ovulación y la formación de un cuerpo lúteo funcional (Senger, 2005). El cuerpo lúteo se forma por la acción de la LH a través de una cascada de cambios funcionales y fenotípicos en las células de la granulosa y de la teca, las cuales se transforman a células lúteas (Niswender *et al.*, 2000).

El cuerpo lúteo está formado por cuatro tipos celulares: células lúteas chicas, células lúteas grandes, fibroblastos y células endoteliales (Farin *et al.*, 1989). Las células lúteas grandes y chicas provienen de las células de la granulosa y de la teca respectivamente (Niswender *et al.*, 2000).

El soporte de LH durante la etapa inicial de formación del cuerpo lúteo es esencial para el crecimiento y diferenciación celular. De tres a cuatro días después de la ovulación, el cuerpo lúteo de las ovejas mide entre 6 a 8 mm y llega a su tamaño máximo de 11 a 14 mm seis días después (Bartlewski *et al.*, 1999b).

El factor luteolítico en rumiantes es la PGF₂α, la cual es secretada por las glándulas endometriales uterinas. La PGF₂α, es transportada al ovario a través de un mecanismo local, desde la vena uterina y vasos linfáticos hacia la arteria ovárica (Mann *et al.*, 2001; Einer-Jensen y Hunter, 2005). La disminución en la concentración de P₄ al inicio de la luteólisis funcional está asociada con el incremento de receptores para oxitocina y la secreción pulsátil de PGF₂α (Sheldrick y Fint, 1985).

4.3 Foliculogénesis

La fertilidad en la hembra depende del suministro y la maduración de las células germinales ováricas (ovocitos) y la diferenciación y proliferación de las células foliculares (células de la granulosa y células de la teca). La unión de los ovocitos con las células somáticas ováricas da lugar a las estructuras foliculares durante el proceso llamado: foliculogénesis inicial, el cual ocurre durante la vida fetal del individuo (Guigon y Magre, 2006). En la oveja, este proceso comienza poco después de la diferenciación sexual, al día 35 de gestación (Scaramuzzi, *et al.*, 2011). Las uniones estrechas entre las ovogonias y células epiteliales mesonéfricas, dan lugar a las células de la pregranulosa (Sawyer *et al.*, 2002). Cuando comienza la meiosis, al menos el 80% de las células germinales sufren apoptosis (Scaramuzzi *et al.*, 2011). Esta pérdida de células germinales, pero no de células somáticas dentro de los cordones ovígeros, es el medio por el cual los ovocitos sobrevivientes ganan células de la pregranulosa adicionales antes de la formación del folículo primordial (Sawyer *et al.*, 2002). La integridad de los cordones ovígeros, se mantiene hasta el día 75 de gestación, momento en el cual, los folículos primordiales comienzan a emerger. Estos folículos tienen en promedio 16 células de la pregranulosa (Baillet *et al.*, 2008; Scaramuzzi *et al.*, 2011). En este punto, se observa la cantidad máxima de células germinales presentes dentro del ovario fetal (Baillet *et al.*, 2008), el reservorio de folículos primordiales en ovejas es de 40,000 a 300,000 folículos (Bartlewski *et al.*, 2011).

El crecimiento folicular inicia antes que se formen los últimos folículos primordiales y continúa a lo largo de la vida fetal, neonatal y adulta (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

El modelo de crecimiento folicular que se propone se basa en la sensibilidad y dependencia de los folículos a las gonadotropinas, en el que un folículo primordial tarda alrededor de 180 días en desarrollarse desde la etapa primordial hasta un folículo ovulatorio (Cahill y MaulCon, 1981; Scaramuzzi *et al.*, 1993).

4.3.1 Factores de crecimiento y desarrollo folicular

El ovocito secreta factores de crecimiento que juegan un papel esencial en la regulación de la foliculogénesis, la diferenciación de las células de la granulosa y del cúmulo, así como, la tasa de ovulación y el tamaño de los folículos ovulados (Mc Natty *et al.*, 2005). Es necesaria una comunicación bidireccional entre el ovocito y las células de la granulosa, así como de las células de la granulosa con las células de la teca (Eppig, 2001).

La superfamilia TGF- β (Factor de crecimiento transformante beta), es un grupo de proteínas con diversas funciones fisiológicas dentro del organismo. Miembros de esta superfamilia, se encuentran clasificados en subfamilias, como: la proteína morfogénica del hueso (BMP), factor de crecimiento y diferenciación (GDF), activina/inhibina, el factor neurotrópico derivado de la célula de la glía (GDNF) y otros miembros adicionales como la hormona anti-mulleriana (AMH). La mayoría de los miembros de esta superfamilia ejerce su función en la célula a través de complejos hetero-tetradiméricos con dos tipos de receptor (tipo I y II). La activación de estos receptores conduce a la fosforilación de cascadas de señalización de moléculas llamadas SMAD, que al trasladarse al núcleo pueden modular la expresión de genes (Knight y Glister, 2006).

La transcripción de estos genes comienza durante la foliculogénesis temprana y su regulación se debe en parte a la expresión de dos factores de transcripción específicos de los ovocitos: Figla y Nobox (Baillet *et al.*, 2008).

Los miembros de TGF- β , tienen un papel esencial en el desarrollo folicular, incluyendo, la activación de folículos primordiales, proliferación y apoptosis de células de la granulosa y teca, esteroidogénesis, expresión a receptores de gonadotropinas, maduración del ovocito, luteinización y formación del CL (Knight y Glister, 2006).

Se ha observado que GDF9 (Factor de crecimiento y diferenciación 9), BMP6 (Proteína morfogénica del hueso 6) y BMP15 (Proteína morfogénica del hueso 15), son expresados por los ovocitos en etapas tempranas de desarrollo. Se ha sugerido que GDF9 participa en la transición de un folículo primario a uno secundario y que su presencia es imprescindible para la activación de folículos primordiales. (Fortune, 2003; Baillet *et al.*, 2008; Sacaramuzzi *et al.*, 2011). En contraste, el ARNm y las proteínas del gen de BMP15 se expresan en los

ovocitos de folículos primarios hasta la ovulación, y se ha observado en ratones *knockout* de BMP15 una subfertilidad a diferencia de ratones *knockout* de GDF9 en los que se observa infertilidad (Fortune, 2003). Se ha planteado que el ovocito de los folículos antrales continúa influyendo en el comportamiento de las células de la granulosa a través de la secreción de estos factores específicos, controlando así su propio microambiente (Eppig, 2001).

Las células de la pre-granulosa que rodean al ovocito en los folículos primordiales expresan una serie de factores peptídicos no relacionados con la familia TGF- β . Algunos ejemplos de estos factores son el ligando de kit (KL), del cual, hay evidencia de su expresión en células de la granulosa de folículos primordiales, folículos preantrales y folículos antrales. Otro factor es el factor inhibitorio de leucemia (LIF), el cual es producido por las células de la pregranulosa y con acción en el ovocito. Ambos, KL y LIF promueven la transición de folículos primordiales a primarios, estimulan el crecimiento de los ovocitos y el reclutamiento y proliferación de células de la teca (Nilsson *et al.*, 2002; Nilsson y Skinner, 2004; Kezele *et al.*, 2005; Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Algunas de las células mesenquimales (precursoras de las células de la teca), producen el factor de crecimiento de queratinocitos (FGF-7) el cual, actúa en las células de la granulosa para regular la acción de KL y amplificar sus efectos positivos de crecimiento y proliferación en la célula (Kezele *et al.*, 2005).

Otro factor que interviene en la foliculogénesis es el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1). El IGF-1 es imprescindible durante las etapas finales de desarrollo folicular (folículos preantrales y antrales), puesto que aumenta la sensibilidad de folículos pequeños (2mm) a la estimulación por gonadotropinas y su transición de folículos responsivos a gonadotropinas a folículos dependientes de gonadotropinas, además de tener efectos en la esteroidogénesis (Fortune, 2003; Mezerbourg *et al.*, 2003; Scaramuzzi *et al.*, 2011). Existe una sinergia entre FSH e IGF-1, para estimular el crecimiento folicular, por un aumento en la proliferación de células de la granulosa, y producción de estradiol (Kikuchi *et al.*, 2001). Sin embargo, la acción de IGF-1 dentro del folículo, debe ser regulada por factores locales intraováricos, principalmente por proteínas de unión a IGF (IGFBP), las cuales, disminuyen

su biodisponibilidad. La concentración de IGFBP se ve disminuida conforme el folículo crece de 1 a 2 mm hasta su tamaño ovulatorio (Mezerbourg *et al.*, 2003).

4.3.2 Folículos primordiales

Los folículos primordiales se encuentran en reposo hasta su reclutamiento a través de la activación de factores paracrinos, este proceso comienza durante la vida fetal y continúa durante gran parte de la vida post natal del animal hasta que esta reserva se agota y cesa la foliculogénesis (Roche, 1996; Eppig, 2001).

Estos folículos miden 0.03 ± 0.003 mm de diámetro, su ovocito carece de zona pelúcida, es meióticamente incompetente y se encuentra rodeado de una capa de células de la pregranulosa contenidas dentro de una lámina basal, se encuentran en la región cortical del ovario y estas estructuras están desprovistas de una red capilar, por lo que su nutrición es por difusión de nutrientes y oxígeno desde los capilares presentes en la corteza ovárica (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Picton, 2001).

4.3.3 Folículos comprometidos (Primarios y preantrales tempranos)

Una vez que los folículos primordiales inician su crecimiento se convierten en folículos comprometidos. Este proceso es independiente de gonadotropinas. Los primeros eventos detectables en esta transformación son, el aumento en la síntesis de ARN por parte del ovocito (parte de este ARN codifica genes que controlan la síntesis de proteínas en la zona pelúcida), agrandamiento del ovocito, formación de la zona pelúcida, aumento en la actividad mitótica, desarrollo cuboidal de las células de la granulosa y proliferación en forma concéntrica alrededor del ovocito hasta obtener de 2 a 3 capas de células (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Scaramuzzi *et al.*, 2011). En promedio se forman alrededor de 128 células y en este proceso se modifica la forma de células planas a cuboidales y el folículo alcanza un diámetro de 0.03-0.1 mm. A pesar de que estos folículos tienen receptores para LH en las células de la teca y para FSH en las de la granulosa, estos continúan su crecimiento de forma independiente a gonadotropinas (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

4.3.4 Folículos sensibles/responsivos a gonadotropinas (Preantrales grandes y antrales pequeños)

Los folículos preantrales grandes, presentan un ovocito de 70-120 μm y entre 1,000 a 3,500 células de la granulosa. Estas células sufren de siete a ocho duplicaciones en su población antes de la formación del antro folicular (McNatty *et al.*, 2007). Además, es necesaria la diferenciación anatómica y funcional en dos linajes celulares: las células de la granulosa murales, que recubren la pared del folículo y cuya función es esteroideogénica, y las células del cúmulo, las cuales están asociadas íntimamente con el ovocito (Gilchrist y Thompson, 2007; McNatty *et al.*, 2007).

En esta etapa de desarrollo folicular, el folículo adquiere función esteroideogénica debido a la adquisición de enzimas como, el citocromo p450 cortadora de cadena lateral (P450scc), citocromo p450 17 α hidroxilasa (P450oc17), 3 β hidroxisteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) y el citocromo p450 aromatasa (P450arom). La P450arom está localizada únicamente en células de la granulosa y es esencial para la transformación de andrógenos a estradiol (McNatty *et al.*, 1999, 2000, 2007). También se observa capacidad de síntesis de activina, inhibina y AMH, así como, la intervención del sistema IGF como modulador del desarrollo de folículos preantrales (Campbell, 2009).

Durante esta etapa de desarrollo, podemos encontrar un número relativamente grande de folículos sensibles a gonadotropinas, aproximadamente de 25 folículos, los cuales miden de 1 a 2.5 mm (Scaramuzzi *et al.*, 1993). De este grupo de folículos se obtienen los folículos que se convierten en dependientes de gonadotropinas y finalmente ovularán, sin embargo, la transición de un folículo preantral a uno antral es un gran desafío fisiológico, por lo que hay un aumento significativo en la tasa de atresia en estos folículos (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

4.3.5 Folículos dependientes de gonadotropinas (Antrales grandes)

Las gonadotropinas hipofisarias, FSH y LH, y diversos factores de crecimiento secretados por el ovocito y las células somáticas del folículo como, el sistema insulina/IGF-1, sistema inhibina/activina, BMP6, BMP15, GDF9 y KL, son los encargados de controlar y llevar a cabo la fase final de la foliculogénesis (Knight y Glister, 2003; Webb y Campbell, 2007; Campbell, 2009). La FSH, permite que el folículo antral, alcance un tamaño mayor a 2.5 mm de diámetro y es esencial para la transición de un folículo responsivo a gonadotropinas a un folículo dependiente de ellas, por lo que, durante esta etapa de dependencia gonadotrópica, hay mayor dependencia a FSH por parte de los folículos. La secreción pulsátil de LH, juega un papel crucial en el desarrollo y maduración final de los folículos y de sus ovocitos y para la producción de andrógenos que serán aromatizados a estradiol (McNeilly *et al.*, 1992; Scaramuzzi *et al.*, 1993; Campbell *et al.*, 1998; Hillier, 2001). La LH es capaz de influir en el nivel y el patrón de liberación de FSH hipofisaria a través de su acción en el control de secreción de estradiol ovárico (Campbell, 2009).

4.3.6 Folículos ovulatorios

Cerca de tres días después de la aparición de un folículo dependiente de gonadotropinas, se logra el estado potencialmente ovulatorio de uno o más folículos con un diámetro de 5 a 8 mm (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Los folículos ovulatorios tienen un cambio absoluto de su dependencia de FSH a LH, gracias al desarrollo de receptores de LH en las células de la granulosa. Por esta razón, el folículo seleccionado como ovulatorio evita el desarrollo de folículos dependientes de gonadotropinas, a través de la secreción de E₂ e inhibina reduciendo así el suministro de FSH a los folículos que dependen de esta hormona (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Scaramuzzi *et al.*, 2011).

4.4 Dinámica folicular en el ciclo estral

El proceso de desarrollo folicular y degeneración de folículos antrales de diferentes tamaños, que son responsivos a gonadotropinas, ocurre de manera continua durante todo el ciclo estral. La dinámica folicular, consiste en 4 fases: reclutamiento, selección, dominancia y atresia (Senger, 2005), y se da en un patrón secuencial de ondas u oleadas foliculares. En ovinos se presentan de 3 a 4 oleadas, cada una de 4 a 8 días de duración (Murphy *et al.*, 1991; Menchaca y Rubianes, 2004; Scaramuzzi *et al.*, 2011). Una oleada folicular, se define como la emergencia de un grupo de folículos antrales pequeños, donde al menos un folículo de cada oleada alcanza un diámetro mayor o igual a 5 mm y su tasa de crecimiento por día es de 1 mm (Menchaca y Rubianes, 2004).

Las oleadas foliculares, ocurren antes de la pubertad, durante la gestación, durante el anestro y durante el puerperio, sin embargo, durante estas etapas fisiológicas, la liberación gonadotrópica de GnRH es insuficiente para promover y mantener la secreción gonadotrópica (Senger, 2005).

El reclutamiento se da por el aumento en la concentración de FSH que ocurre por la disminución de sus inhibidores: estradiol e inhibina. Esta disminución se da cuando un folículo dominante es ovulado o sufre atresia. La FSH, es la encargada de promover la emergencia de folículos sensibles a gonadotropinas (2.5 mm) hacia la etapa de folículos dependientes de gonadotropinas (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Bister *et al.*, 1999; Senger, 2005; Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Los folículos antrales, no solo expresan receptores de FSH en las células de la granulosa y de LH en las células de la teca, sino que también hay expresión de ARNm de enzimas esteroidogénicas: P450scc, P450c17, 3 β .HSD. Estas enzimas, tienden a incrementar el crecimiento folicular de los folículos antrales tempranos. La P450arom, se localiza en las células de la granulosa de folículos reclutados y es necesaria para continuar la esteroidogénesis (Webb *et al.*, 1999). Así mismo, como se mencionó anteriormente, IGF-1, tiene un papel esencial durante la etapa de reclutamiento, ya que aumenta la sensibilidad de los folículos a las gonadotropinas, y actúa de forma sinérgica con FSH para aumentar la proliferación de células de la granulosa y la producción de estradiol (Kikuchi *et al.*, 2001; Fortune, 2003; Mezerbourg *et al.*, 2003; Scaramuzzi *et al.*, 2011).

La selección de folículos dominantes implica la acción de gonadotropinas y de factores locales. Durante la maduración del folículo, este expresa receptores de LH en las células de la granulosa, este evento es crítico para el proceso de selección de los folículos, ya que provoca un cambio de dependencia de FSH a LH por parte de estos folículos. La LH se encarga de mediar directamente la producción de estradiol, que se produce en gran cantidad al igual que inhibina A, que mejora la capacidad de LH para estimular la producción de andrógenos en las células tecaes. El E₂ y la inhibina disminuyen la concentración de FSH a un umbral donde no se permite el desarrollo de otros folículos que continúan dependiendo de FSH, provocando su atresia (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Campbell *et al.*, 1999; Campbell *et al.*, 2003; Webb y Campbell, 2009; Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Tres días después de la emergencia de los folículos, se puede lograr un estado potencialmente ovulatorio con un diámetro de 5 a 8 mm, las células de la granulosa son hasta 10 veces más sensibles a LH que a FSH. Estos folículos seleccionados como dominantes, incrementa su vasculatura en la capa de las células de la teca en comparación con los folículos subordinados. Generalmente el folículo más grande es el folículo dominante, sin embargo, en pequeños rumiantes, los folículos más grandes no siempre son los ovulatorios. Bajo la estimulación de LH, el folículo continúa aumentando de tamaño hasta que la secreción de estradiol es suficiente para inducir una liberación masiva de GnRH y LH que da lugar a la ovulación 24 horas después (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Jiang *et al.*, 2003; Scaramuzzi *et al.*, 2011). Los folículos ovulatorios se desarrollan en la fase folicular del ciclo estral, durante la fase lútea, la alta concentración de P₄ secretada por el cuerpo lúteo durante esta última fase, reduce la frecuencia de pulsos de LH evitando que se lleve a cabo una ovulación, donde eventualmente estos folículos sufren atresia (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

4.5 Protocolos de sincronización

La sincronización del ciclo estral es la base para el éxito en programas de inseminación artificial (IA) y transferencia de embriones. Esta técnica se basa en la manipulación de las fases que componen al ciclo estral. La fase lútea, es la más fácil de controlar por su mayor duración. La fase lútea, se puede alargar utilizando sustitutos de progesterona exógena (tratamientos luteotrópicos) o acortar al provocar la regresión del cuerpo lúteo (tratamientos luteolíticos) (Wildeus, 2000; Hosseinipannah *et al.*; 2014).

El uso de tratamientos luteotrópicos como esponjas intravaginales impregnadas con FGA y MAP, y el dispositivo CIDR (*Controlled Internal Drug Release*), que es una estructura de silicona que contiene progesterona exógena, son utilizados durante un periodo de 9 a 14 días. Estos dispositivos actúan simulando una fase lútea normal, independientemente de la etapa del ciclo estral en el que se encuentre la hembra (Fukui *et al.*, 1999; Wildeus, 2000; Menchaca y Rubianes, 2004; Moradi kor *et al.*, 2011; Cox *et al.*, 2012; Hosseinipannah *et al.*, 2014). La progesterona o progestágenos tienen un efecto de retroalimentación negativa sobre GnRH lo cual reduce la pulsatilidad de LH y por lo tanto hay un bloqueo en el desarrollo final del folículo antral y en la ovulación (Goodman y Karsh, 1980; McNelly *et al.*, 1991). Estos protocolos comenzaron a utilizarse en la década de los noventa, y, por lo tanto, no se tenían los conocimientos que se tienen actualmente sobre la dinámica folicular en ovejas (Menchaca y Rubianes, 2004; Cox *et al.*, 2012). Dado que una oleada folicular emerge cada 4-8 días, se ha propuesto el uso de tratamientos cortos de 5 a 7 días. Además, se sabe que las altas concentraciones de progesterona altas durante todo el tratamiento tienen un efecto positivo en el recambio folicular e incrementan el número de folículos que son potencialmente ovulatorios. En contraste con lo que sucede en tratamientos largos, que las concentraciones de progesterona hacia el final de este tratamiento comienzan a descender y no bloquean de forma eficiente los pulsos de LH, provocando así, persistencia folicular (Viñoles *et al.*, 1999; Viñoles *et al.*, 2001; Menchaca y Rubianes, 2004). Viñoles *et al.*, (2001), encontraron mayor fertilidad en tratamientos cortos (87%) en comparación a tratamientos largos (67%), así mismo, Urgerfeld y Rubianes (1999), también encontraron mayor fertilidad en tratamientos cortos de 6 días (75%) en comparación a tratamientos largos de 12 días (68%).

Como tratamiento luteolítico, se utiliza $\text{PGF2}\alpha$, la cual, controla el ciclo estral al final de la fase lútea al provocar la regresión del cuerpo lúteo, suceso que da fin a esta fase. Los productos que se utilizan son la $\text{PGF2}\alpha$ y su análogo sintético, el cloprostenol, entre otros. El protocolo que se usa es un sistema doble de inyecciones (125 μg) con 11 días de diferencia, puesto que no todas las etapas del ciclo estral son receptivas a este tratamiento, ya que el CL responde a esta hormona luteolítica, a partir del día tres después de la ovulación (Wildeus, 2000; Rubianes *et al.*, 2003).

La combinación de ambos tipos de tratamientos; luteotrópico y luteolítico suele utilizarse, la prostaglandina se puede administrar al finalizar un tratamiento con progestágenos o de 24 a 48 horas antes de finalizar este tratamiento, y asegura la ovulación 60 horas después de haber removido la esponja intravaginal (Martemucci y D'Alessandro, 2011).

4.6 Uso de hormonas exógenas para aumentar la tasa ovulatoria

Scaramuzzi y colaboradores (2011), proponen un modelo para la regulación de la tasa ovulatoria, este consiste en un muro metafórico que regula el número de folículos dependientes a gonadotropinas que lo atraviesan, evitando así la atresia y convirtiéndose en folículos ovulatorios. La puerta de este muro representa el tiempo en el que la concentración de FSH permanece por encima del mínimo requerido por los folículos dependientes de gonadotropinas para evitar la atresia.

El número de folículos ovulatorios está determinado por varios factores, estos son: la cantidad de folículos sensibles a gonadotropinas disponibles para ser reclutados, la viabilidad de los folículos dependientes de gonadotropinas y la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis a los efectos inhibitorios del estradiol e inhibina sobre la secreción de FSH (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

La primera forma de lograr el aumento de la tasa ovulatoria es ampliando la ventana de reclutamiento de folículos responsivos a gonadotropinas, al reducir la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, donde la FSH permanece por encima del umbral mínimo necesario durante más tiempo, para que los folículos eviten la atresia y puedan continuar su desarrollo. La segunda forma, se refiere a aumentar el número de folículos potencialmente ovulatorios que hay a la espera de pasar por esta ventana metafórica, la cual es más breve

que el caso anterior, pero que permitirá que un folículo no inhiba el desarrollo de otro, en un fenómeno llamado co-dominancia. Estos eventos no son excluyentes y pueden ocurrir de forma simultánea (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

La administración de FSH, eCG o HMG (gonadotropina menopáusicas humana), aumenta la tasa de ovulación al prevenir la atresia de folículos dependientes de gonadotropinas y al aumentar el número de folículos sensibles a gonadotropinas que pasan a ser folículos dependientes de gonadotropinas. La FSH aumenta la ventana de tiempo durante el cual un folículo dependiente de gonadotropinas puede continuar siendo viable (Hay y Moor, 1975; Scaramuzzi *et al.*, 1993).

El uso de hormonas exógenas se ha utilizado para procedimientos de superovulación, los cuales, fueron desarrollados hace 70 años y parecen ser una técnica eficiente para obtener una fuente de ovocitos para su maduración *in vitro* o para realizar transferencia de embriones (Driancourt y Fry, 1992). La superovulación, al igual que el aumento de la tasa ovulatoria, se logra mediante el reclutamiento de folículos pequeños y por la prevención de su atresia (McNatty *et al.*, 1982; Driancourt y Fry, 1992).

4.6.1 Gonadotropina coriónica equina (eCG)

La gonadotropina coriónica equina, se produce por las copas endometriales en yeguas durante los días 40 a 130 de la gestación. En especies no équidas, esta hormona tiene actividad parecida a FSH en un 80% y a LH en un 20% (Barrett *et al.*, 2004), con una vida media de 63 horas (Driancourt y Fry, 1992).

La eCG, puede utilizarse para inducir a ovejas anéstricas o que se encuentran fuera de la época reproductiva, generalmente se administran dosis de 500 UI después de un tratamiento con progestágenos por 12 a 14 días (Barret *et al.*, 2004). La eCG, es más utilizada durante la época reproductiva después de protocolos de sincronización con progestágenos, la mayoría de estos protocolos, utilizan una sola dosis de eCG al final del tratamiento, ya que aumenta la tasa ovulatoria al reclutar folículos pequeños y aumentando la tasa de crecimiento de folículos antrales (Driancourt y Fry, 1992; Roy *et al.*, 1998; Barret *et al.*, 2004; Moakhar *et al.*, 2012). Existe gran variabilidad en la respuesta ovárica hacia el tratamiento con eCG. Algunas de las causas que explicarían esta variación son: la dosis utilizada, la raza, la

variación estacional, el estado nutricional del animal, el estado ovárico al momento del tratamiento y el tiempo de administración de eCG (Moakhar *et al.*, 2012).

Los tratamientos con eCG, se han asociado con el desarrollo de quistes foliculares y con una temprana regresión del CL, además que el estro posterior a un tratamiento con esta hormona se caracteriza por una elevada concentración de estradiol dada por los grandes folículos durante la primera oleada folicular (Armstrong y Evans, 1983; Saharrea *et al.*, 1998). Sin embargo, Viñoles y colaboradores (2001), sugieren que la presencia de estos quistes se debe a que las concentraciones de progesterona se encontraban elevadas a causa de un CL endógeno al momento de la administración de eCG (250 UI) en combinación con tratamientos cortos con progestágenos.

Las dosis de eCG utilizadas para aumentar la tasa ovulatoria en ovejas (450 a 850 UI), no muestran diferencias significativas en la cantidad media de folículos pequeños, medianos y grandes entre grupos experimentales a los que se les administraron esas dosis (Moakhar *et al.*, 2012). Moakhar *et al.* (2012), encontraron mayor fertilidad (75%) en ovejas tratadas con dosis de eCG de 550 y 650 UI al final de un tratamiento de sincronización con progestágenos (75%) en comparación a ovejas control (41.6%) y ovejas que recibieron una dosis de 850 UI de eCG (50%). En contraste, Martínez *et al.* (2019), reportan que no hay diferencia significativa en cuanto al número de cuerpos lúteos formados entre grupos con tratamiento corto (5 días) que recibieron eCG a una dosis de 400 UI (1.7) y aquellos que recibieron solución salina fisiológica (1.4); de igual manera, en tratamientos largos de 14 días más eCG a una dosis de 400 UI (2.2), no hay diferencia con tratamientos largos sin eCG (1.9). Por otra parte, Ali (2007), encontró una mayor tasa ovulatoria en ovejas tratadas con progestágenos durante 8 días más eCG (500 UI) al final de tratamiento (2.33), en comparación a ovejas control que no recibieron eCG (1.00).

La eCG se utiliza también en dosis altas (1,000-2,000 UI) para programas de superovulación, con las que se induce una gran cantidad de folículos grandes (8 a 10 folículos), su ovulación y posterior formación de cuerpo lúteo (6 a 8 cuerpos lúteos) (González-Bulnes *et al.*, 2003). La administración de eCG, aumenta el tamaño folicular y su eficiencia esteroideogénica, sin embargo, la lenta tasa de depuración de eCG junto con su actividad de LH produce una activación temprana de los ovocitos, dado que el ambiente folicular no es el adecuado, el

ovocito envejece y disminuye la fertilidad. Además, se ha confirmado que la eCG causa secreción excesiva de esteroides por parte de los folículos, lo que ocasiona anomalías en los oviductos lo que aumenta la pérdida embrionaria antes de la implantación (Moor *et al.*, 1985).

4.7 Persistencia folicular

Escorcía (2019), categorizó a los folículos persistentes en dos diferentes grupos. El primero (Categoría tipo I), se refiere a aquellos folículos que emergieron con un diámetro de 2mm y alcanzaron una vida media igual o mayor a 9 días, y el segundo (Categoría tipo II), incluye a aquellos folículos que mantuvieron la etapa de dominancia durante más de 6 días, con un diámetro superior a 5 mm. La hipótesis más aceptada de persistencia folicular en el ganado es la existencia de un desequilibrio hormonal en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, sin embargo, evidencia experimental sugiere que la persistencia folicular puede estar causada por factores intraováricos (Ortega *et al.*, 2015).

El evento crítico para entender la diferencia entre estas dos categorías de folículos persistentes es el momento de selección del folículo, pues en la categoría tipo I dependen de FSH y en la categoría tipo II de LH.

Existen factores de crecimiento producidos por el folículo, capaces de modular ya sea atenuando o amplificando la acción de FSH. Se conocen dos factores involucrados en esta acción: IGF-1 y BMP15 (Matsui *et al.*, 2004). Se ha propuesto que BMP15 determina de forma importante la acción de FSH al inhibir la expresión de receptores para esta hormona, por lo tanto, juega un papel esencial en el crecimiento y desarrollo de los folículos (Otsuka *et al.*, 2001). Por otro lado, Ortega *et al.* (2008), proponen que una disminución de la concentración de IGF-1 en el líquido folicular pero no en el suero, está asociado a la presencia de persistencia folicular en el ganado, ya que esta disminución puede afectar la respuesta de FSH y LH resultando en anomalías en los sistemas reguladores y en la esteroidogénesis. El IGF-1 actúa de forma sinérgica con FSH promoviendo la sensibilidad de folículos pequeños a gonadotropinas, así como, su transición a folículos dependientes de las mismas. Además, el IGF-I actúa estimulando la proliferación y diferenciación de células de la granulosa (Fortune, 2003; Mezerbourg *et al.*, 2003; Scaramuzzi *et al.*, 2011). La actividad intrafolicular

de IGF-I está regulada por factores intraóvaricos como las IGFBPs (por sus siglas en inglés). Estas inhiben la acción de IGF-I al unirse a él y así, evitar la unión con su receptor. Específicamente, la IGFBP-4, disminuye conforme el folículo crece de 2 mm a su tamaño preovulatorio (Scaramuzzi *et al.*, 2011). También, se debe prestar mayor atención a la proteína plasmática asociada a la gestación (PAPP-A) cuya principal acción es la lisis de IGFBP-4, se ha observado su presencia en altas concentraciones en el líquido de folículos sanos y se considera que tiene un papel muy importante en el desarrollo de folículos dominantes. La FSH, estimula la expresión de PAPP-A en las células de la granulosa murales, pero el ovocito, a través de BMP15, puede inhibir la expresión de PAPP-A inducida por la FSH en las células del cúmulo (Matsui *et al.*, 2004). Rodríguez *et al.*, (2017), encontraron mayores concentraciones de IGFBP-4 en folículos persistentes, por lo tanto, se puede inferir que las concentraciones de PAPP-A se encuentran disminuidos en individuos con persistencia folicular, dando lugar a mayor cantidad de IGFBP-4 y por ende menor biodisponibilidad de IGF-1.

Por otra parte, Menchaca y Rubianes (2004), y Viñoles *et al.* (1999), explican que concentraciones sublúteas de progesterona tienen un bloqueo ineficiente de LH, lo que provoca un aumento en la frecuencia de sus pulsos, sin embargo, este no es suficiente para provocar la ovulación, pero si para que el folículo más grande persista y su dominancia se prolongue, evitando así la emergencia de nuevos folículos.

5. HIPÓTESIS

El uso de un protocolo de sincronización de corta duración y una dosis baja de eCG, disminuyen la presentación de folículos persistentes, aumentan la tasa de ovulación, el recambio folicular y mantienen sin cambios la formación del cuerpo lúteo.

6. OBJETIVOS

- Describir y comparar la dinámica folicular a través de ultrasonografía, en ovejas sincronizadas con tratamientos cortos y largos, utilizando acetato de fluorogestona y prostaglandinas en combinación con gonadotropina coriónica equina.

- Identificar la presencia de folículos persistentes que retrasen la presentación del estro y la ovulación en ovejas sincronizadas con tratamientos cortos y largos, utilizando acetato de fluorogestona y prostaglandinas en combinación con gonadotropina coriónica equina
- Determinar el tiempo de manifestación del estro y su duración en ovejas sincronizadas con tratamientos cortos y largos, utilizando acetato de fluorogestona y prostaglandinas en combinación con gonadotropina coriónica equina
- Determinar el tiempo de formación del cuerpo lúteo en ovejas sincronizadas con tratamientos cortos y largos, utilizando acetato de fluorogestona y prostaglandinas en combinación con gonadotropina coriónica equina

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Localización

La investigación se realizó en el Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), ubicado en Avenida Cruz Blanca No. 486, en San Miguel Topilejo, Delegación Tlalpan, C.P. 14500, CDMX. La altura a la que se encuentra es de 2,760 metros sobre el nivel de mar, con un clima semifrío-semihúmedo con lluvias en verano, dando una precipitación anual de 800 a 1,200 milímetros anuales y una temperatura de 19°C.

7.2 Metodología

El trabajo experimental se realizó en los meses de junio y julio de 2019. Se utilizaron 40 ovejas Pelibuey adultas multíparas de entre 4-7 años de edad, clínicamente sanas y con una condición corporal similar (2.75 ± 0.33 , en una escala del 1-5, donde uno se refiere a ovejas emaciadas y cinco a ovejas obesas). Las hembras fueron mantenidas en estabulación constante y con alimentación controlada, basada en ensilado de maíz, paja de avena y concentrado comercial, cubriendo sus necesidades nutricionales (NRC, 2006). Para la detección de estro, se utilizaron dos machos adultos de entre 3-7 años, que tuvieron la misma alimentación que las hembras y se encontraban alojados en sementaleras.

7.2.1 Protocolo de sincronización

Todas las ovejas (40 animales) se encontraban ciclando al momento del tratamiento, sin embargo, la fase del ciclo estral en la que se encontraba cada individuo no se tomó en cuenta. Las 40 hembras se sincronizaron con una esponja intravaginal con 20 mg de cronolona micronizada, (Chronogest®CR, MSD). En 20 animales las esponjas permanecieron por 5 días (TCE; n=10 y TCC; n=10), en los otros 20 animales, por 11 días (TLE; n=10 y TLC; n=10). A todos los animales se les aplicó por vía intramuscular prostaglandina sintética (cloprostenol, 125 µg; Celosil®, MSD) al momento de retirar la esponja. A los grupos TCE y TLE, se les administraron 200 UI de eCG (Folligon®, MSD) por vía intramuscular (IM), mientras que al resto de los animales (grupos TCE y TLC) se les administró SSF (1 mL) por vía IM, al momento del retiro de la esponja (Barret *et al.*, 2004; Ali, 2007) (Figura 2-5).

7.2.2 Seguimiento por ultrasonografía

Se utilizó un equipo Mindray DP-50Vet, con transductor lineal 75L50EAV, a una frecuencia de 7.5 MHZ (Barret *et al.*, 2004; Salas-Razo *et al.*, 2013). En cinco ovejas de cada grupo se realizó ultrasonografía transrectal cada 24 horas, desde dos días antes de la inserción de la esponja hasta dos días antes de removerla. Posteriormente la ultrasonografía se realizó cada 12 horas hasta la formación del CL para detectar el momento más cercano a la ovulación (Figuras 1-4). En cada observación, se contaron y midieron (en mm) las estructuras ováricas en ambos ovarios, para identificar el número de oleadas foliculares, la duración de estas oleadas, el tamaño que presentan los folículos antes y después de la administración del tratamiento y el número de folículos (pequeños, medianos y grandes) (Figura 1). Se categorizaron como folículos persistentes aquellos que emergieron con 2 mm de diámetro y alcanzaron una vida media igual o mayor a 9 días o que mantuvieron la etapa de dominancia durante más de 6 días, con un diámetro superior a 5 mm (Escorcía, 2019). De la misma manera, se identificaron las estructuras lúteas (CL) (Barret *et al.*, 2004).

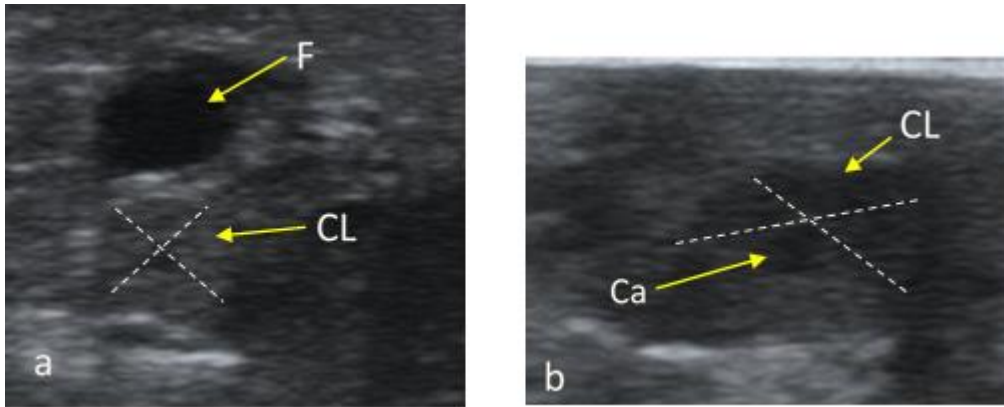


Figura 1. Reconocimiento de estructuras ováricas: a) Ovario con folículo (F) y cuerpo lúteo (CL); b) Cuerpo lúteo (CL) con cavidad (Ca).

7.2.3. Detección del celo

Se usaron dos machos con mandil para detectar el inicio y la duración del celo, se introdujeron durante 15 minutos por corral (13 a 15 hembras), cada seis horas, a partir de las 30 horas del retiro de la esponja y hasta el término del celo. El manejo completo de cada grupo se puede observar en las Figuras 2-5.



Figura 2. Tratamiento corto con eCG (TCE)

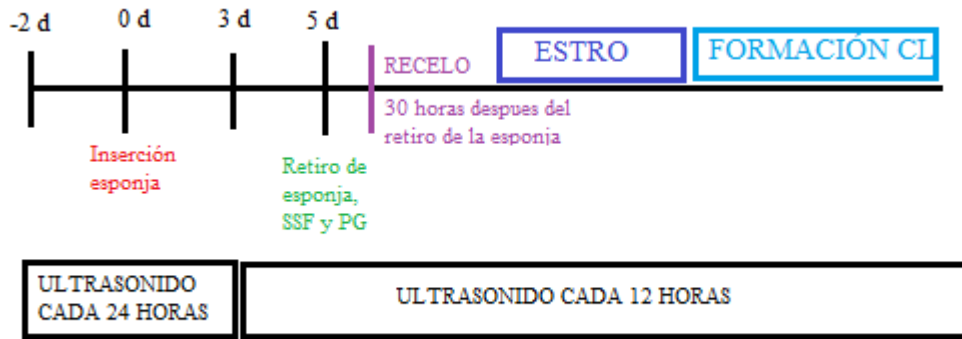


Figura 3. Tratamiento corto control (TCC)



Figura 4. Tratamiento largo con eCG (TLE)



Figura 5. Tratamiento largo control (TLC)

7.2.4. Análisis estadístico

Se obtuvieron resultados de dinámica folicular, presencia de persistencia folicular y respuesta al tratamiento de sincronización. En cada resultado se analizaron los efectos principales de uso o no de eCG, tiempo de tratamientos (cortos y largos) y la interacción eCG por tiempo.

Se realizó estadística descriptiva en el número y tamaño de los folículos por individuo, posteriormente se llevó a cabo un análisis comparativo mediante Chi-cuadrada en las variables diámetro a la emergencia, diámetro a la ovulación, tiempo de desarrollo del folículo ovulado y número de folículos ovulados (Bartlewski, *et al.*, 1999).

En cuanto a persistencia folicular y su categorización en folículos persistentes tipo I y II, se realizó un análisis comparativo de Chi-Cuadrada.

El tiempo entre el retiro del progestágeno y el inicio del celo, el momento de la ovulación, la duración del estro, así como, las variables: número de oleadas foliculares y tasa de número de oleadas foliculares/tiempo desde la inserción de la esponja hasta la ovulación, se analizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) factorial 2X2. Posteriormente, si el análisis el ANOVA mostraba efecto, se realizó una prueba de Tukey para comparaciones múltiples donde correspondiera; de lo contrario, se realizó una prueba de t para determinar las diferencias donde sólo había dos grupos. La variable: tasa número de oleadas/tiempo desde la inserción de la esponja hasta la ovulación, nos permite expresar de forma adecuada la relación del número de oleadas con el tiempo entre la inserción de la esponja y la ovulación. Para todos los análisis se utilizó el programa estadístico SAS/STAT Versión 8.2 (*Procedures Guide SAS Institute Inc*, 2014).

8. RESULTADOS

El grupo experimental TCC, únicamente tiene cuatro individuos. Esto se debe a que una de las ovejas (7033), no presentó conducta estral ni ovulación después del retiro de la esponja, permaneció con cuerpo lúteo funcional hasta 13 días después del retiro de la esponja y tuvo una ovulación simple tres días después del último día en el que se observó el CL.

8.1 Dinámica folicular

En el análisis realizado para evaluar el efecto de la presencia o ausencia de eCG y del efecto del tiempo de tratamiento, así como, su interacción (eCG*Tiempo), sobre las variables: número de folículos reclutados, número de folículos atrésicos, número de folículos ovulados y tasa de folículos ovulados/folículos atrésicos, se muestra en el Cuadro 1. Los resultados muestran que el número de folículos reclutados y el número de folículos atrésicos tiende a ser mayor ($P= 0.10$ y $P= 0.11$ respectivamente) en animales en los que se usó eCG, en comparación con los animales en los que no se usó esta hormona. En estas variables no se observó efecto del tiempo ($P>0.28$) ni de la interacción tiempo*eCG ($P> 0.25$). Respecto a la variable número de folículos ovulados, se encontró que los tratamientos largos, tienden ($P=0.09$) a presentar mayor número de folículos ovulados (2.10) en comparación a los tratamientos cortos (1.66) (Cuadro 1), no se observó efecto del uso de eCG o de la interacción tiempo*eCG en esta variable.

Cuadro 1. Efecto de la presencia o ausencia de eCG y del tiempo, sobre las variables: Número de folículos reclutados, número de folículos atrésicos, número de folículos ovulados y tasa de folículos ovulados/folículos atrésicos.

Variable	Efecto de eCG		Efecto de Tiempo		Valor de P		
	Sin eCG	Con eCG	Corto	Largo	eCG	Tiempo	eCG*Tiempo
Número de folículos reclutados	31.22±3.96	40.70±3.73	33.22±3.96	38.90±3.73	0.10	0.29	0.26
Número de folículos atrésicos	29.44±4.01	38.7±3.78	31.55±4.01	36.8±3.78	0.11	0.34	0.26
Número de folículos ovulados	1.77±0.18	2.00±0.17	1.66±0.18	2.10±0.17	0.18	0.09	0.84
Tasa de folículos ovulados/ folículos atrésicos	0.06±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01	0.56	0.49	0.39

$P\leq 0.05$ muestra diferencia estadística.

En las variables diámetro a la emergencia y diámetro a la ovulación, no se observaron efectos del uso de eCG, tiempo de tratamiento y la interacción ($P > 0.05$). Sin embargo, el tiempo de desarrollo del folículo ovulado fue mayor en los animales del tratamiento largo (8.12 días) en comparación con el tratamiento corto (5.35 días) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de la presencia o ausencia de eCG y del tiempo, sobre las variables: Diámetro a la emergencia, diámetro a la ovulación y tiempo de desarrollo del folículo ovulado.

Variable	Efecto de eCG		Efecto de Tiempo		Valor de P		
	Sin eCG	Con eCG	Corto	Largo	eCG	Tiempo	eCG*Tiempo
Diámetro a la emergencia (cm)	0.27±0.00	0.27±0.00	0.27±0.00	0.27±0.00	0.52	0.56	0.70
Diámetro a la ovulación (cm)	0.54±0.01	0.52±0.01	0.51±0.01	0.54±0.01	0.41	0.16	0.72
Tiempo de desarrollo del folículo ovulado (días)	7.53±0.80	5.93±0.73	5.35±0.82	8.12±0.71	0.16	0.02	0.68

$P \leq 0.05$ muestra diferencia estadística.

8.2 Oleadas foliculares

En cuanto a la variable: número de oleadas foliculares, no se encontró diferencia estadística en ninguno de los efectos estudiados. La Tasa Número de oleadas/ tiempo desde la inserción de la esponja hasta la ovulación (TNO/TIEO), tendió a ser mayor ($p=0.10$) en los animales de los tratamientos cortos (tasa =0.22) respecto a los tratamientos largos (tasa = 0.15) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de la presencia o ausencia de eCG sobre las variables: Número de oleadas foliculares y tasa número de oleadas/tiempo desde la inserción de la esponja hasta la ovulación (TNO/TIEO).

Variable	Efecto de eCG		Efecto de Tiempo		Valor de P		
	Sin eCG	Con eCG	Corto	Largo	eCG	Tiempo	eCG*Tiempo
Número de oleadas foliculares	1.88±0.27	2.20±0.25	1.88±0.27	2.20±0.25	0.40	0.40	0.84
TNO/TIEO	0.17±0.03	0.20±0.03	0.22±0.03	0.15±0.03	0.59	0.10	0.74

P≤0.05 muestra diferencia estadística.

8.3 Persistencia folicular

Respecto a la persistencia folicular, los resultados muestran que los animales en los tratamientos largos tuvieron mayor presencia de folículos persistentes totales (2.30) en comparación con los tratamientos cortos (0.50; P=0.01). Además, los animales en los tratamientos largos también tuvieron un mayor (P=0.006) número de folículos persistentes totales categoría tipo I (1.30) que los tratamientos cortos (0.00) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de la presencia o ausencia de eCG, el tiempo de tratamiento y la interacción de eCG y tiempo (eCG*Tiempo), sobre las variables: Número de folículos persistentes totales, tasa de folículos persistentes totales/ folículos reclutados, número de folículos persistentes totales categoría tipo I, número de folículos persistentes totales categoría tipo II.

Variable	Efecto de eCG		Efecto de Tiempo		Valor de P		
	Sin eCG	Con eCG	Corto	Largo	eCG	Tiempo	eCG*Tiempo
Número de folículos persistentes totales	1.77±0.45	1.20±0.42	0.5±0.45	2.3±0.42	0.45	0.01	0.84
Tasa de folículos persistentes totales/ folículos reclutados	0.07±0.02	0.05±0.02	0.03±0.02	0.08±0.01	0.64	0.17	0.71

Número de folículos persistentes totales categoría tipo I	0.66±0.37	0.70±0.36	0.00±0.00	1.30±0.39	0.87	0.006	
Número de folículos persistentes totales categoría tipo II	1.11±0.26	0.50±0.26	0.55±0.24	1.00±0.29	0.60	0.60	

P≤0.05 muestra diferencia estadística.

El promedio de folículos persistentes ovulados (0.80) y no ovulados (1.5) fue mayor (P<0.06) en los animales de los tratamientos largos en comparación con los tratamientos cortos (0.22 y 0.33, respectivamente). Al realizar el análisis por tipo de persistencia, se observó que la persistencia folicular categoría tipo I en los animales de los tratamientos largos, es la que predomina en ambos folículos (ovulados: 0.50 y no ovulados: 0.80), mostrando diferencia estadística (P<0.05) respecto a los animales en los tratamientos cortos, donde no se encontró ningún folículo persistente categoría tipo I ovulado y no ovulado (Cuadro 5). En cuanto a la variable número de folículos persistentes no ovulados categoría tipo II, se encontró un mayor número (P=0.04) de estos folículos en los animales de los tratamientos que no recibieron eCG (0.77), en comparación con los animales que sí recibieron esta hormona (0.30) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de la presencia o ausencia de eCG, del tiempo de tratamiento y de la interacción eCG y tiempo (eCG*Tiempo) sobre las variables: Número de folículos persistentes ovulados, tasa de folículos persistentes ovulados/ folículos reclutados, número de folículos persistentes ovulados categoría tipo I, número de folículos persistentes ovulados categoría tipo II, número de folículos persistentes no ovulados, tasa de folículos persistentes no ovulados/ folículos reclutados, número de folículos persistentes no ovulados categoría tipo I, número de folículos persistentes no ovulados categoría tipo II.

Variable	Efecto de eCG		Efecto de tiempo		Valor de P		
	Sin eCG	Con eCG	Corto	Largo	eCG	Tiempo	eCG*Tiempo
Número de folículos persistentes ovulados	0.77±0.20	0.30±0.19	0.22±0.20	0.80±0.19	0.15	0.05	0.20
Tasa de folículos persistentes ovulados/ folículos reclutados	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01	0.10	0.11	0.32
Número de folículos persistentes ovulados categoría tipo I	0.44±0.24	0.10±0.10	0.00±0.00	0.50±0.22	0.22	0.03	
Número de folículos persistentes ovulados categoría tipo II	0.33±0.16	0.20±0.13	0.22±0.14	0.30±0.15	0.52	0.70	
Número de folículos persistentes no ovulados	1.00±0.36	0.90±0.34	0.33±0.36	1.5±0.34	0.92	0.03	0.62
Tasa de folículos persistentes no	0.03±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.04±0.01	0.57	0.06	0.81

ovulados / folículos reclutados							
Número de folículos persistentes no ovulados categoría tipo I	0.22±0.22	0.60±0.30	0.00±0.00	0.80±0.32	0.32	0.03	
Número de folículos persistentes no ovulados categoría tipo II	0.77±0.22	0.30±0.21	0.33±0.16	0.70±0.26	0.04	0.47	

P≤0.05 muestra diferencia estadística.

También se observó un efecto de eCG (P=0.05) sobre el número de folículos ovulados no persistentes, donde los animales que recibieron eCG, ovularon mayor cantidad de folículos que no presentaron persistencia folicular de cualquier tipo (1.70), en comparación con los que no recibieron la dosis de eCG (1.00) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Efecto de la presencia o ausencia de eCG y el tiempo de tratamiento sobre las variables: Número de folículos ovulados no persistentes, número de folículos no persistentes atrésicos.

Variable	Efecto de eCG		Efecto de Tiempo		Valor de P		
	Sin eCG	Con eCG	Corto	Largo	eCG	Tiempo	eCG*Tiempo
Número de folículos ovulados no persistentes	1.00±0.23	1.70±0.22	1.40±0.23	1.30±0.22	0.05	0.70	0.33
Número de folículos atrésicos no persistentes	28.44±4.13	37.8±3.89	31.22±4.13	35.30±3.89	0.12	0.46	0.29

P≤0.05 muestra diferencia estadística.

El 95% de las ovejas estudiadas tenían presente un cuerpo lúteo durante el tratamiento con progestágenos. De los tratamientos largos (TLC y TLE), el 60% de los individuos tuvo presencia de CL durante todo el tratamiento con progestágenos y de los tratamientos cortos (TCC y TCE), únicamente un individuo no presentó CL. A mayor número de días con cuerpo lúteo hubo tendencia ($P=0.07$) a aumentar el número de folículos persistentes totales (Cuadro 7, Figura 6) y a mayor número de días con cuerpo lúteo hubo también una tendencia ($P=0.08$) de presentarse más persistencia tipo I (Cuadro 7, Figura 7).

Cuadro 7. Efecto del número de cuerpos lúteos y el número de días con cuerpo lúteo sobre las variables: Presencia de persistencia folicular, número de folículos persistentes totales, presencia de persistencia categoría tipo I y presencia de persistencia categoría tipo II.

	Presencia de persistencia	Número de folículos persistentes	Presencia de persistencia tipo I	Presencia de persistencia tipo II
Número de cuerpos lúteos	0.88	0.36	1.00	0.50
Número de días con cuerpo lúteo	0.39	0.07	0.08	0.78

El valor representado, corresponde al valor de P, donde $P<0.05$ indica sí el número de CL o el número de días con CL afecta la presencia de persistencia, el número de folículos persistentes y la presencia de persistencia tipo I y II.

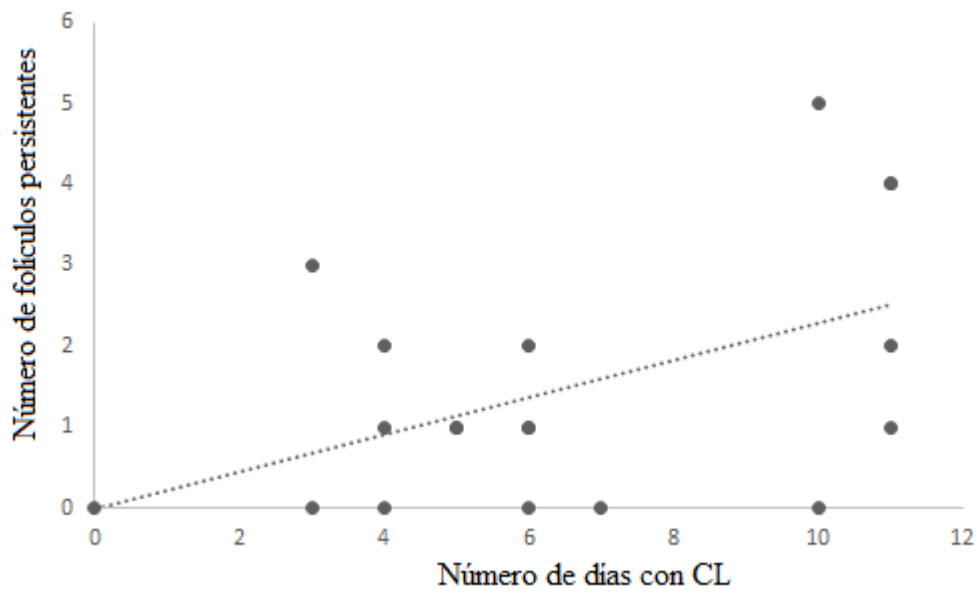


Figura 6. Relación entre las variables: número de días con cuerpo lúteo y número de folículos persistentes ($R^2=0.24$).

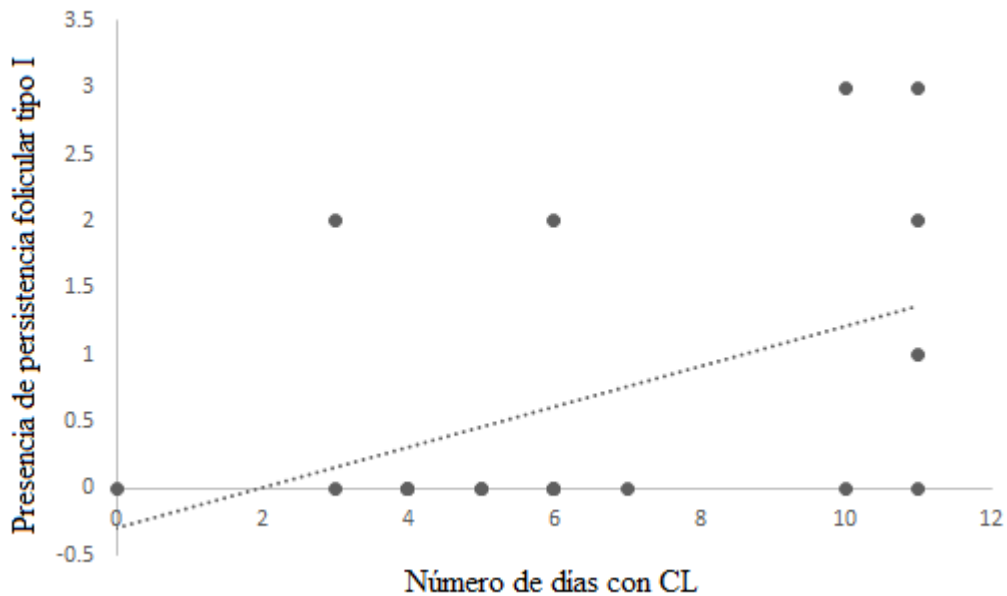


Figura 7. Relación entre las variables: número de días con cuerpo lúteo y presencia de persistencia folicular tipo I ($R^2=0.20$).

8.3.1 Casos específicos de persistencia folicular

Una oveja del grupo experimental largo con eCG (TLE), con número de identificación 12209, tuvo ovulación en ambos ovarios y diagnóstico de gestación positivo para dos productos. En la Figura 8, se muestra la dinámica folicular del ovario derecho, en el que se observa que el folículo ovulado, emergió antes del retiro de la esponja intravaginal con un diámetro de 22 mm y posteriormente se formó su cuerpo lúteo. También se observa la emergencia de otro folículo antes de la finalización del tratamiento con progestágenos y de la administración de eCG, este folículo, emergió de 29 mm y persistió durante más de 30 días.

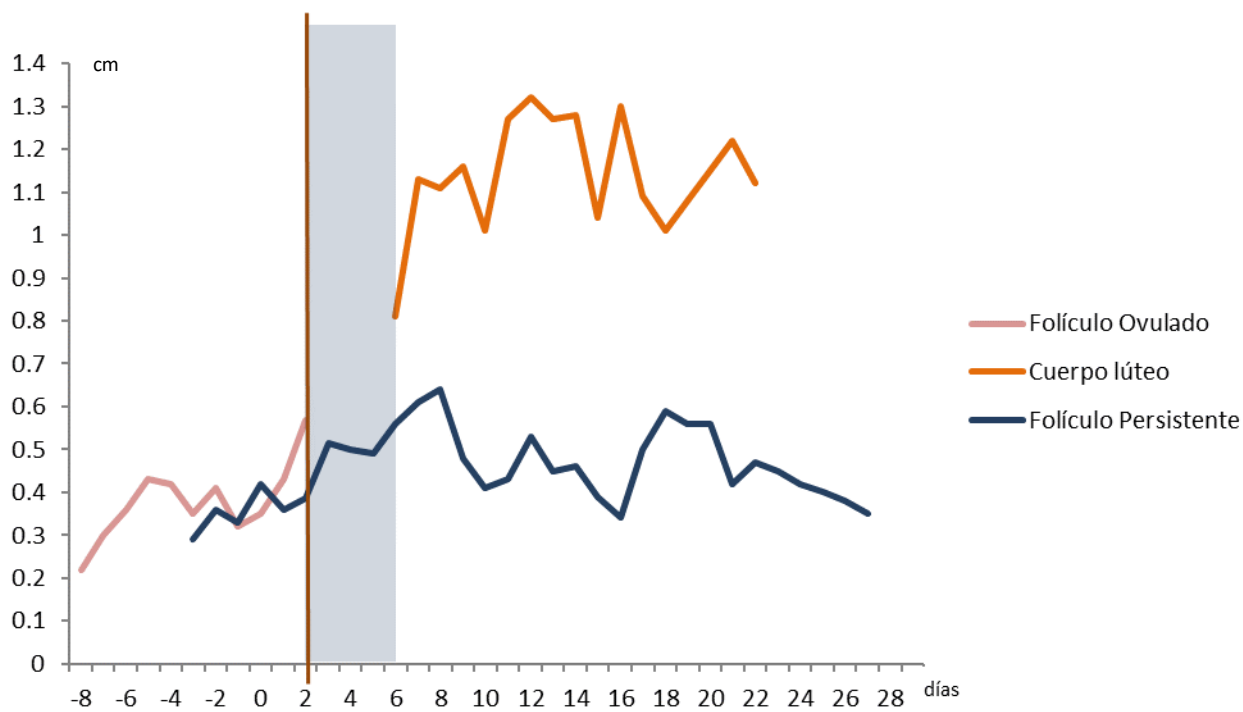


Figura 8. Dinámica folicular del ovario derecho de la oveja 12209 (TLE). Se representa el día 0 (cero), como el día en el que se retiró la esponja intravaginal. En color rosa, se muestra el desarrollo del folículo que fue ovulado al día dos (línea café), momento en el cual, comienza una ventana (recuadro azul), que representa el periodo de formación del cuerpo lúteo, posteriormente en color naranja, están representadas las mediciones del CL. Por último, de color azul marino se muestra el desarrollo del folículo persistente.

En la Figura 9, se observa la dinámica folicular del ovario izquierdo de la oveja 12209, donde nuevamente el folículo ovulatorio emergió antes del retiro de la esponja intravaginal con un diámetro de 28 mm y posteriormente se formó su cuerpo lúteo el cual permaneció durante toda la gestación. Sin embargo, se observó la emergencia y persistencia de otros dos folículos, ambos emergieron durante la gestación del individuo, alcanzaron diámetros mayores a 5 mm y permanecieron así por 47 y 53 días.

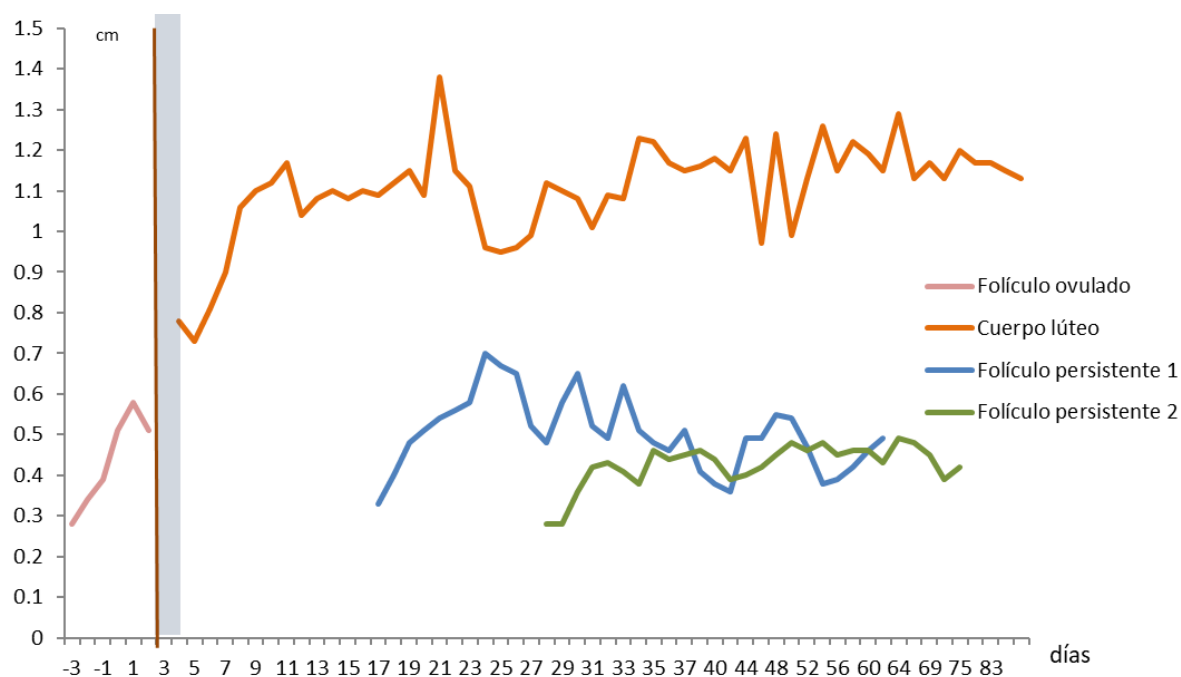


Figura 9. Dinámica folicular del ovario izquierdo de la oveja 12209 (TLE). Se representa al día 0 (cero) como el día en el que se retiró la esponja intravaginal. En color rosa, se representa el crecimiento del folículo ovulado, este evento está marcado con la línea café claro, ocurrió dos después de retirar la esponja. El recuadro azul, representa el periodo de formación del CL. En color naranja, esta representada la medición del CL. En colores azul y verde se representan los folículos persistentes.

Un miembro del grupo TCC, cuyo número de identificación es el 9106, también presentó persistencia folicular (Figura 10). Esta oveja tuvo una ovulación simple del ovario izquierdo. El folículo ovulado emergió de 29 mm y ovuló de 48 mm. En el ovario derecho, presentó un folículo persistente, el cual emergió de 23 mm y permaneció con un diámetro mayor a 5 mm por 88 días.

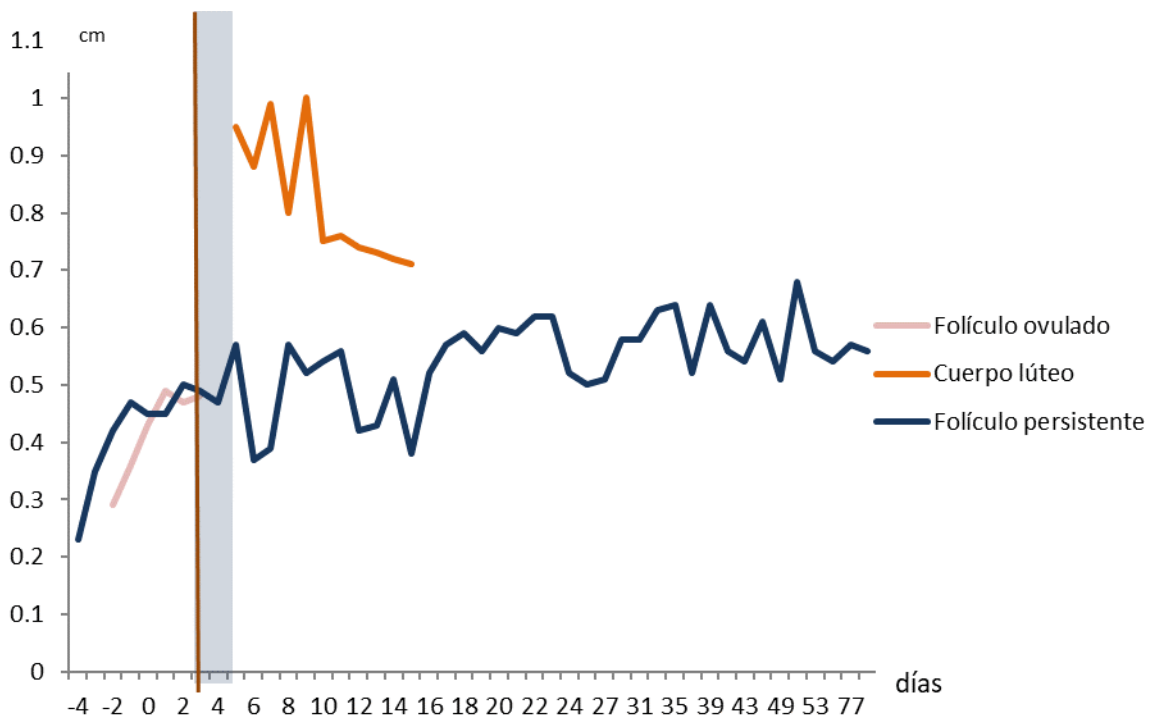


Figura 10. Dinámica folicular de ovario izquierdo y derecho de la oveja 9106 (TCC). El día 0 (cero), representa el día en el que se retiró la esponja intravaginal. Del ovario izquierdo, se muestra en color rosa el desarrollo del folículo ovulado, evento marcado con la línea café claro, y las mediciones del cuerpo lúteo correspondiente en color naranja, el recuadro azul, representa el periodo de formación del cuerpo lúteo. La línea azul representa el folículo persistente que se mantuvo presente en el ovario derecho.

Por último, en la Figura 11, se muestra la dinámica folicular de la borrega 7006 del grupo TCE. Esta oveja ovuló del ovario derecho, el folículo ovulado emergió de 27 mm y su cuerpo lúteo estuvo presente 12 días. En el ovario izquierdo, se desarrolló un folículo el cual emergió de 28 mm y llegó a un diámetro de 70 mm, donde comenzó a engrosarse su pared formando un quiste folicular que llegó a un diámetro cercano a 90 mm y después comenzó a disminuir.

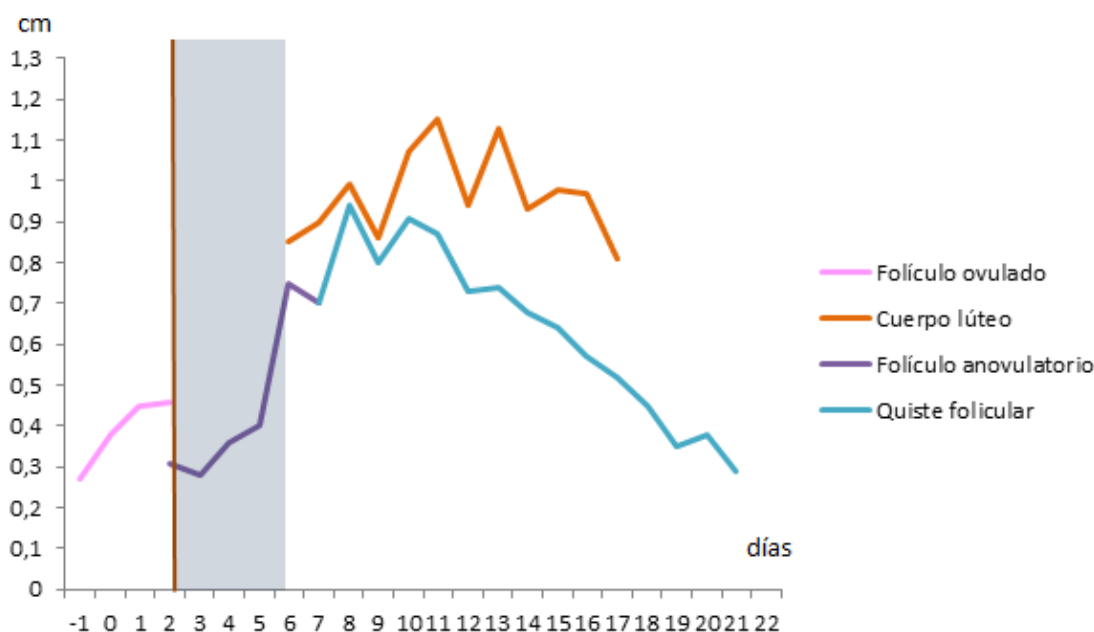


Figura 11. Dinámica folicular de la oveja 7006 (TCE). Se muestra en color rosa el folículo ovulado (evento marcado con la línea café claro) en el ovario derecho, y en color naranja, el desarrollo del CL correspondiente. El recuadro azul, corresponde a la formación del CL. En color morado, se observa el crecimiento de un folículo anovulatorio que se convierte en quiste folicular (azul claro) en el ovario izquierdo.

8.4 Respuesta al tratamiento de sincronización

En las variables tiempo entre retiro del dispositivo a ovulación y tiempo desde presentación del estro a la ovulación, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en ninguno de los efectos estudiados. Sin embargo, en la variable inicio del estro, se observó diferencia ($P < 0.05$), en el efecto presencia o ausencia de eCG, donde los animales que no recibieron esta hormona al final del tratamiento con progestágenos tardaron más tiempo en iniciar el celo (55.30 horas) en comparación con los animales que sí recibieron eCG (44.40 horas). De la misma forma ocurrió en el efecto de duración del tratamiento, los individuos de los tratamientos largos tardaron menos en tiempo (44.10 horas) en entrar en celo ($P < 0.05$) que los individuos de los tratamientos cortos (53.36 horas) (Cuadro 8).

En cuanto a las variables duración del estro y tiempo de formación del cuerpo lúteo, únicamente se observó diferencia ($P < 0.05$) en el efecto de duración del tratamiento. Los animales en los tratamientos largos presentaron mayor duración del celo (39.90 horas) y

mayor tiempo para la formación del cuerpo lúteo (54.6 horas) en comparación con los tratamientos cortos que tuvieron menor duración del celo (31.86 horas) y menor tiempo de formación del cuerpo lúteo (42.66 horas). Además, hubo una tendencia (P=0.06) del uso de eCG sobre la formación del cuerpo lúteo, aquellos animales en los grupos a los que se les administró eCG tardaron más tiempo (52.66 horas) en comparación con los tratamientos sin eCG (44.60 horas) (Cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto de ausencia o presencia de eCG y del tiempo de tratamiento, sobre las variables: Inicio del celo, duración del celo, tiempo entre retiro del dispositivo a ovulación, tiempo entre presentación del estro a ovulación y tiempo de formación del cuerpo lúteo.

Variable (Horas)	Efecto de eCG		Efecto de Tiempo		Valor de P		
	Sin eCG	Con eCG	Corto	Largo	eCG	Tiempo	eCG*Tiempo
Inicio del celo	53.30±2.06	44.40±2.01	53.36±2.06	44.10±2.01	0.004	0.002	0.97
Duración del celo	36.36±2.94	35.40±2.86	31.86±2.94	39.90±2.86	0.81	0.05	0.62
Tiempo entre retiro del dispositivo a ovulación	79.50±3.49	71.12±3.22	79.46±3.55	71.15±3.16	0.10	0.10	0.88
Tiempo entre presentación del estro a ovulación	27.60±03.39	25.81±3.13	25.41±3.45	28.00±3.06	0.70	0.58	0.76
Tiempo de formación del cuerpo lúteo	44.60±3.18	52.66±2.77	42.66±3.24	54.6±2.69	0.06	0.008	0.52

P≤0.05 muestra diferencia estadística.

En la Figura 12, se esquematiza el diámetro folicular promedio y la duración de los folículos ovulatorios por grupo experimental, ajustado al día cero como el día que se retiró la esponja intravaginal, de esta forma, se puede visualizar que los folículos de los grupos largos (TLC y TLE) emergieron de 4 a 5 días antes del retiro de la esponja a comparación de los grupos cortos (TCC y TCE), que su emergencia ocurrió en promedio poco antes del retiro de la

esponja. Sin embargo, el análisis estadístico, no arrojó diferencias ($p>0.05$), en ninguno de los efectos estudiados, en cuanto a si la emergencia del folículo ovulado se dio antes, durante o después del tratamiento con progestágenos.

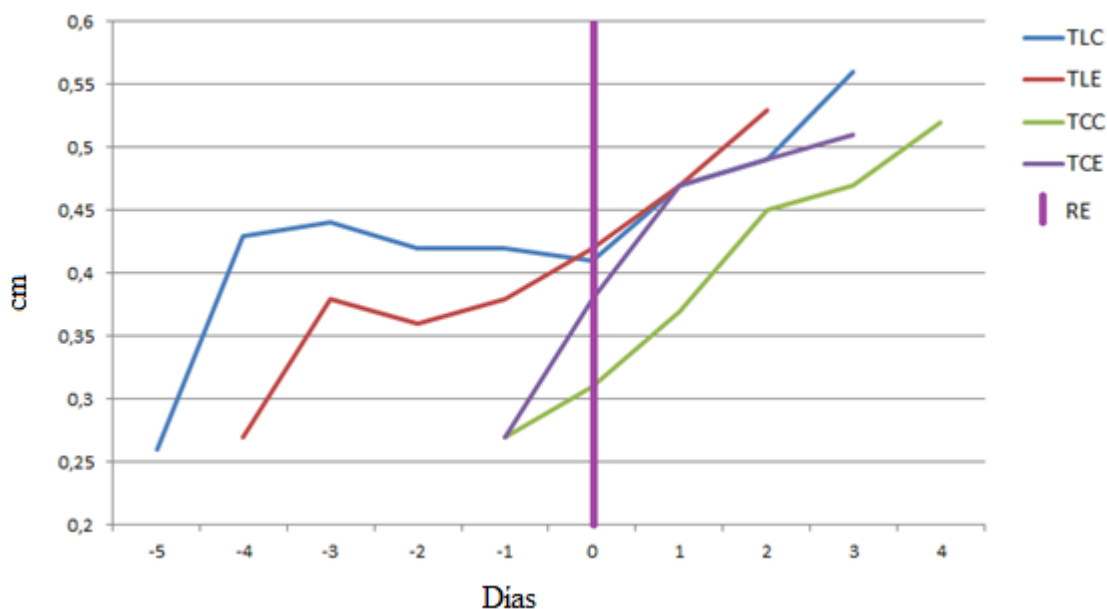


Figura 12. Diámetro promedio y duración en días de los folículos ovulatorios. El día cero (línea vertical morada), corresponde al retiro de la esponja con progestágenos (RE).

En las Figuras 13 –16, se puede observar el crecimiento y duración del folículo ovulatorio promedio por grupo experimental, así como, el inicio y la duración del celo. Estas figuras, se complementan con las figuras incluidas en el apartado de Anexos, en las que podemos observar la dinámica folicular y la respuesta al tratamiento de sincronización por individuo.

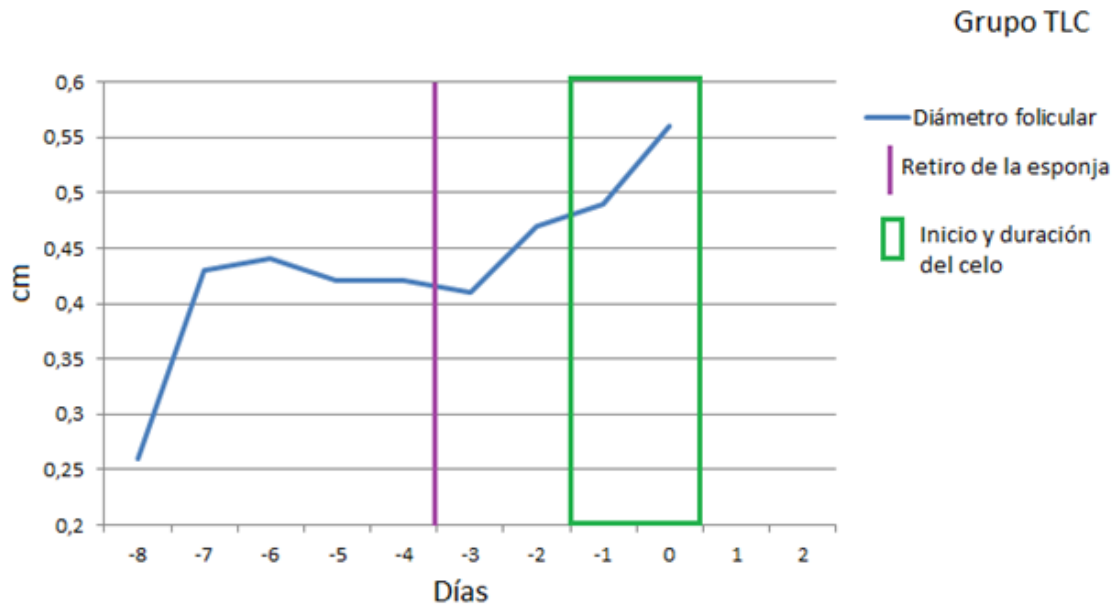


Figura 13. Diámetro folicular promedio y duración de folículos ovulatorios del grupo TLC, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.

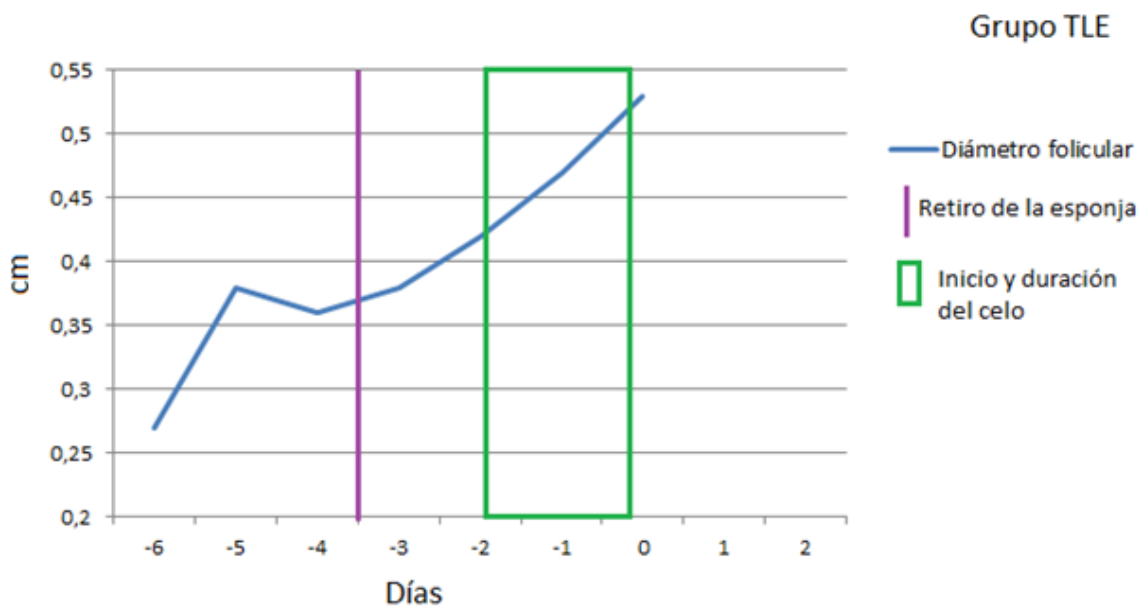


Figura 14. Diámetro folicular promedio y duración de folículos ovulatorios del grupo TLE, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.

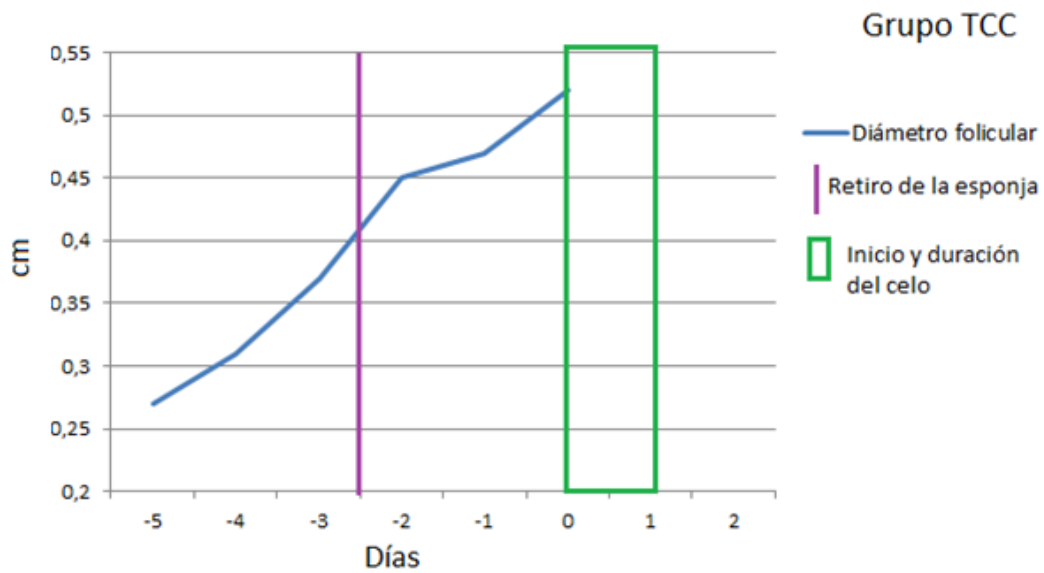


Figura 15. Diámetro folicular promedio y duración de folículos ovulatorios del grupo TCC, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.

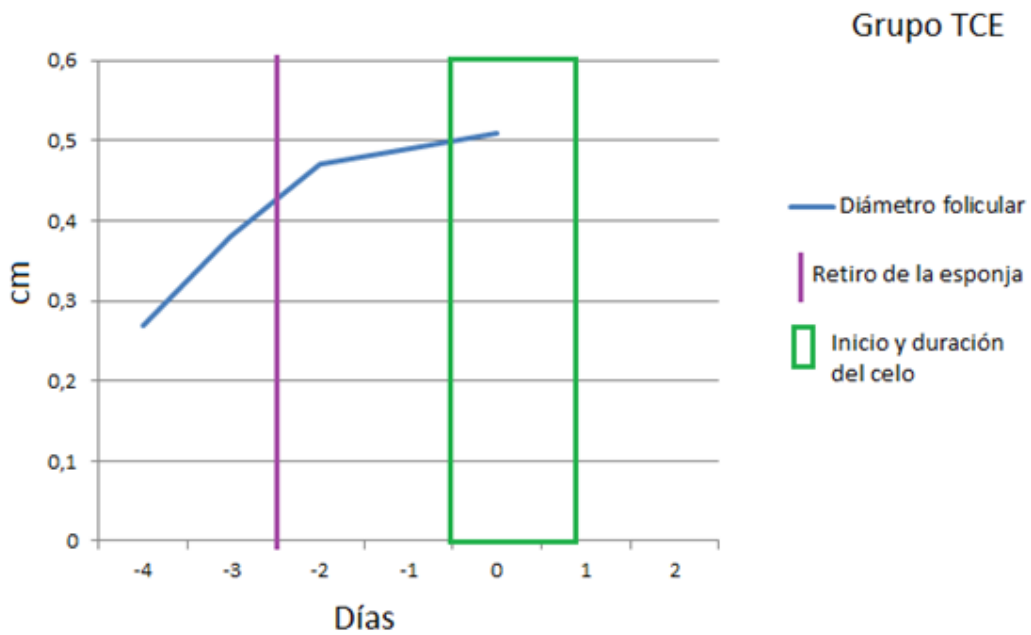


Figura 16. Diámetro folicular promedio y duración de folículos ovulatorios del grupo TCE, así como, el inicio y duración del celo, ajustado a la ovulación al día cero.

9. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se analizó estadísticamente el efecto de eCG independientemente de la duración del tratamiento, el efecto del tiempo de tratamiento sin tomar en cuenta el uso de eCG y el efecto de la interacción de tiempo y eCG. Se obtuvieron diferencias significativas, principalmente en el efecto del tiempo sobre el tratamiento y en el efecto de eCG, sin embargo, no hubo diferencias en cuanto a la interacción de estos dos efectos en ninguna de las variables estudiadas. A pesar de que la hipótesis fue rechazada, se encontraron resultados de interés.

Al analizar la tasa ovulatoria entre grupos experimentales no se obtuvo diferencia. Sin embargo, contrario a lo esperado, en tratamientos largos con o sin eCG, se obtuvo una tasa ovulatoria de 2.10, con tendencia ($P=0.09$) a ser mayor a la tasa ovulatoria encontrada en los tratamientos cortos (1.66). Machado *et al.* (2020) también reportaron una mayor tasa ovulatoria (2.9) en tratamientos largos de 9 días con progestágenos, con una dosis de 400 UI de eCG al final del tratamiento, en comparación a tratamientos cortos de 6 días (2.0) con la misma dosis de eCG. Los autores, sugirieron que estos resultados se debieron a que las concentraciones de progesterona hacia el final del tratamiento largo disminuyen, favoreciendo el desarrollo de un mayor número de folículos debido a un menor efecto de dominancia. Sin embargo, el 60% de los individuos estudiados en la presente investigación, pertenecientes a los tratamientos largos, presentaron cuerpo lúteo funcional durante todo el tratamiento con progestágenos. Los resultados obtenidos en este estudio indican que, a mayor número de días con cuerpo lúteo, hay tendencia ($P= 0.08$) a una mayor presentación de persistencia folicular categoría tipo I. Cabe mencionar que, a la evaluación de los folículos persistentes ovulados categoría tipo I, se encontró diferencia entre tratamientos largos (0.50) y cortos (0.00), en contraste con los folículos persistentes ovulados categoría tipo II, donde los tratamientos largos (0.20) fueron estadísticamente iguales a los tratamientos cortos (0.22), por lo tanto, no hubo diferencias dadas por el efecto del tiempo de tratamiento. Por otra parte, aquellos folículos que fueron ovulados sin ser persistentes no mostraron haber tenido un efecto del tiempo del tratamiento, sino de la presencia o ausencia de eCG.

En el diámetro a la ovulación, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales. Esto coincide con lo reportado por Machado *et al.* (2020), pero difiere a lo

encontrado por Alves *et al.* (2016), quienes encontraron un mayor diámetro folicular a la ovulación en ovejas tratadas con progestágenos durante 12 días (6.2 mm) con una dosis de 300 UI de eCG, en comparación a tratamientos cortos de 6 días (5.8 mm); y Viñoles *et al.* (2001), quienes reportan que los tratamientos largos sin eCG, tuvieron un mayor diámetro a la ovulación (7 mm) que los tratamientos cortos (6 mm). Estos últimos autores asocian un diámetro folicular mayor a un tiempo mayor de desarrollo de ese folículo. En el presente trabajo, aun cuando no se encontraron diferencias en el diámetro a la ovulación, sí se encontraron diferencias en el tiempo de desarrollo del folículo ovulado entre tratamientos largos (8.12 días) y tratamientos cortos (5.35 días). Nuevamente cabe recalcar que los folículos persistentes ovulados categoría tipo I, cuyo tiempo mínimo de desarrollo es de 9 días, tuvieron mayor presencia en tratamientos largos que en cortos.

En el caso de este estudio, las concentraciones de progesterona presentes durante el tratamiento se desconocen. Si sólo hubiésemos querido tomar en cuenta la concentración de progesterona dada por las esponjas de flurogestona y no la influencia que pueda tener un cuerpo lúteo endógeno durante el tratamiento, se podría haber administrado prostaglandinas sintéticas antes de comenzar con el protocolo de sincronización, para asegurarnos que no existiese un cuerpo lúteo endógeno (Menchaca y Rubianes, 2004). Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación por la presencia de un cuerpo lúteo endógeno durante el tratamiento de sincronización nos arrojan resultados interesantes. Estos indican que, a mayor duración con cuerpo lúteo, es decir progesterona, hay una tendencia a presentar persistencia folicular tipo I y que en tratamientos largos hay mayor presencia de este tipo de persistencia folicular, en comparación con los tratamientos cortos. Entonces, surge la pregunta: ¿Cómo afecta la presencia de progesterona durante periodos largos a la presencia de persistencia folicular? La secreción de progesterona durante la fase lútea del ciclo estral cambia a lo largo de esta. Su concentración inmediatamente después de la ovulación es muy baja, comienza a aumentar durante los días 3 a 7 y permanece elevada hasta el día 12. Posteriormente disminuye de forma rápida para dar lugar al siguiente estro y ovulación (Bartlewski *et al.*, 2011). La inserción de un dispositivo intravaginal con progestágenos incrementa la concentración sérica de progesterona ($>5 \text{ ng/ml}^{-1}$) a concentraciones más altas que durante una fase lútea media normal, después de seis días de tratamiento, la concentración de esta hormona disminuye a concentraciones sublúteas (2 ng/ml^{-1}) y continúa

disminuida hasta el retiro de la esponja intravaginal (Menchaca y Rubianes, 2004). Se ha determinado que la elevación de progesterona a concentraciones similares a las de una fase lútea media a través del uso de implantes con progestágenos, al principio o al final de esta misma fase, aumenta el número de fluctuaciones en la concentración sérica de FSH (Baby y Bartlewski, 2011; Bartlewski *et al.*, 2016). Si la secreción de FSH se mantuviera durante un periodo largo en una concentración suficientemente alta como para sostener un desarrollo lento del folículo, pero no lo suficientemente alta como para inhibirse a través de la acción de inhibina o promover un desarrollo rápido del folículo a través de activina, quizás podría explicar por qué los tratamientos largos, donde la concentración de progesterona permanece elevada y donde se ha sugerido que esta hormona podría ser la responsable del patrón de secreción de FSH, además de la pulsatilidad de LH (Baby y Bartlewski, 2011; Bartlewski *et al.*, 2016), presentaron mayor incidencia de persistencia folicular tipo I. Sin embargo, con base en lo encontrado en individuos de diferentes grupos experimentales (Figuras 8-10) y lo reportado por Escorcía (2019), quien encontró un rango de presentación de persistencia folicular del 17-35% en grupos con tratamientos de progestágenos cortos y largos, se sugiere que la persistencia folicular se presenta de forma común en los ovinos, independientemente de las concentraciones de progesterona, por lo tanto, este fenómeno se debe seguir estudiando.

Diversos autores han observado que aquellas ovejas tratadas con progesterona al inicio del metaestro, mostraron una oleada folicular más que las ovejas control, resultado de un acortamiento del intervalo entre picos de FSH (Baby y Bartlewski, 2011; Bartlewski *et al.*, 2016). Sin embargo, en el presente trabajo, no se encontró diferencia significativa en el número de oleadas al aumentar la concentración de progesterona durante un periodo más largo, a diferencia de lo reportado por Baby y Bartlewski (2011). Así mismo, los resultados obtenidos en este trabajo también difieren con los reportados por Menchaca y Rubianes (2004) y Viñoles *et al.* (2001), quienes explican que las altas concentraciones de progesterona que hay durante un tratamiento corto con progestágenos, bloquean de forma efectiva la secreción de LH. Este efecto altera la dominancia del folículo de la primera oleada folicular, e induce su regresión temprana y la emergencia de la siguiente oleada folicular. En cambio, en tratamientos largos con progestágenos, la concentración de progesterona hacia el final del tratamiento es sublútea y por lo tanto el efecto de bloqueo de LH es ineficiente lo que provoca

un aumento en la frecuencia de sus pulsos. A pesar de esto, no es suficiente para provocar la ovulación, pero sí para que el folículo más grande persista y su dominancia se prolongue evitando la emergencia de nuevos folículos (Viñoles *et al.*, 1999, Menchaca y Rubianes, 2004). En el presente trabajo, no se encontró diferencia en el número de oleadas ni en la tasa de número de oleadas/tiempo desde la inserción de la esponja hasta la ovulación entre tratamientos largos y tratamientos cortos.

En cuanto a los folículos ovulados que no presentaron persistencia folicular, se observó que hubo un mayor número de estos folículos en las ovejas de los tratamientos que recibieron eCG. Esto se puede explicar por lo reportado por Matsui *et al.*, (2004), quienes determinaron que, ratas que recibieron eCG, presentaron un fuerte efecto estimulador de PAPP-A en las células de la granulosa, sugiriendo que la bioactividad parecida a FSH que tiene la eCG, es la principal responsable de esta estimulación.

Por otro lado, una de las razones que justifican la aparición de los quistes foliculares, es una disminución de la sensibilidad hipotalámica a la retroalimentación positiva al estradiol, lo que provoca la ausencia o la disminución de la cascada hormonal necesaria para el pico de LH. Esto trae como consecuencia que haya un crecimiento continuo de un folículo dominante sin que ocurra la ovulación (Wiltbank *et al.*, 2002). A diferencia de los folículos persistentes, los quistes foliculares se caracterizan por un engrosamiento de la pared, y pueden estar o no luteinizados (Wiltbank *et al.*, 2002). En la Figura 11, se muestra la dinámica folicular de un individuo del grupo TCE, el cual tuvo una ovulación y su posterior formación de CL en el ovario derecho y también presentó el desarrollo de un quiste folicular en el ovario izquierdo. Cabe mencionar, que el folículo que formó al quiste folicular no fue un folículo persistente, ya que únicamente tuvo 5 días de desarrollo, antes de mostrar engrosamiento de su pared y 10 días después, esta estructura se visualizaba en el ultrasonido como un CL. La luteinización de quistes foliculares, ha sido reportada sin el uso previo de protocolos de sincronización (Bartlewski *et al.*, 1999b). Viñoles *et al.* (2001), reportaron la presencia de quistes foliculares en tratamientos cortos con progestágenos más la administración de eCG y lo asociaron a la presencia de un CL endógeno al momento de la aplicación de eCG, sin embargo, la oveja en estudio no presentó CL durante el tratamiento con progestágenos.

Respecto a la variable de inicio del celo, los tratamientos largos (44.10 horas) y los tratamientos que obtuvieron administración de eCG (44.40 horas), mostraron un adelanto en la conducta estral, en comparación a los grupos cortos (53.36 horas) y que no recibieron eCG (53.30 horas). Estos resultados coinciden con lo encontrado por varios autores (Quintero *et al.*, 2011; Cox *et al.*, 2012; Gardón *et al.*, 2015; Alves *et al.*, 2016; Martínez *et al.*, 2019). La reducción del intervalo del estro en ovejas tratadas con eCG, concuerda con que los folículos aumentan su producción de estradiol y desencadenan el comportamiento estral, por lo tanto, es esperado que un aumento temprano del estradiol esté seguido por un inicio más temprano del estro (Barret *et al.*, 2004). Alves *et al.*, (2016) reportaron que el intervalo de inicio del celo en tratamientos largos fue menor (32.5 horas) respecto a los tratamientos cortos (46.0 horas), lo que coincide con lo obtenido en el presente estudio. Estos autores asocian que, en los tratamientos cortos la alta concentración de progesterona inhibe de forma adecuada los pulsos de LH y por lo tanto aumenta el recambio folicular. Esto conlleva a un menor diámetro folicular al momento del retiro de la esponja y mayor tiempo para desarrollarse y producir suficiente E2 para determinar el comportamiento estral dado por el folículo ovulatorio; sin embargo, como se comentó anteriormente, en el presente trabajo no hubo diferencias en el diámetro ovulatorio entre tratamientos cortos y largos, ni tampoco se observaron diferencias en las variables número de oleadas foliculares o tasa de número de oleadas/tiempo desde la inserción de la esponja hasta la ovulación, que nos indiquen un mayor recambio folicular en tratamientos cortos que en largos.

En cuanto a la duración del celo los resultados obtenidos muestran que, los tratamientos largos tuvieron mayor duración (39.90 horas), en comparación con los tratamientos cortos (31.86 horas). Estos resultados difieren con lo reportado por algunos autores (Alves *et al.*, 2015; Machado *et al.*, 2020) pero coincide con lo reportado por Lertchunhakiat *et al.* (2012), quienes encontraron que los tratamientos cortos tenían menor duración del estro (24 horas) en comparación a los tratamientos largos (34 horas). Sin embargo, en el presente trabajo los tratamientos largos y cortos se encuentra dentro del rango común de duración del estro en ovejas, el cual va de 18 hasta 48 horas (Senger, 2005).

Las variables medidas en respuesta a la sincronización del estro (inicio del celo, duración del celo, tiempo desde retiro del dispositivo a ovulación y tiempo desde inicio del celo a la

ovulación) son de gran importancia, ya que se han reportado como fuentes de falla reproductiva después de tratamientos de sincronización (Deligiannis *et al.*, 2005). Se espera que el estro comience alrededor de 30 horas después del retiro del dispositivo y la ovulación aproximadamente a las 60 horas, por esta razón se realiza la técnica de inseminación artificial a tiempo fijo a las 55-56 horas (Rubianes *et al.*, 2003; Menchaca y Rubianes 2004; Martemucci y D'Alessandro, 2011). La tasa de preñez está íntimamente relacionada con la sincronización de la ovulación en las hembras tratadas, por lo que es importante que no existan retrasos en la ovulación, para no ver afectada la fertilidad (Menchaca y Rubianes, 2004). Aunque existen diferencias en el inicio del celo y en su duración, las variables de tiempo a la ovulación desde el retiro del dispositivo y desde el inicio de la conducta estral no son diferentes entre grupos. Sin embargo, se observa un retraso en la ovulación respecto a lo reportado por Martemucci y D'Alessandro (2011), quienes encontraron que la ovulación ocurrió 63.3 ± 4.1 horas después del retiro del dispositivo intravaginal y la aplicación de prostaglandinas sintéticas. En el presente trabajo, la ovulación se presentó en tratamientos largos a las 71.15 ± 3.16 horas y en cortos a las 79.46 ± 3.55 horas. Alves *et al.*, (2016) reportaron un periodo de 70.4 ± 10 horas desde el retiro del dispositivo hasta la ovulación en tratamientos cortos de 6 días y de 63.5 ± 12 horas en tratamientos largos de 12 días. Debido a la alta variabilidad que obtuvieron los autores antes mencionados, sugirieron que la IA debe realizarse después de la detección del celo y que los tratamientos largos son más adecuados para programas de IA debido a que tienen menor coeficiente de variación en cuanto a la variable tiempo desde retiro del dispositivo intravaginal a la ovulación. Sin embargo, en el presente trabajo no existe tanta dispersión en los datos obtenidos. La respuesta a la sincronización del estro se puede observar en las Figuras 13-16 y Figuras 17-20 de Anexos.

Por otra parte, la formación del cuerpo lúteo se lleva a cabo después de la ovulación, es producto de la luteinización de las células de la granulosa y las células de la teca, las cuales sufren una dramática transformación a células lúteas. Este proceso se lleva a cabo bajo el estímulo de la LH (Senger, 2005; Bartlewski *et al.*, 2011). Se ha observado en dosis superovulatorias de eCG una elevada producción de progesterona por parte de los folículos y una activación temprana de los ovocitos (Moor *et al.*, 1985; Driancourt y Fry, 1992; Hamed *et al.*, 2020). Por otra parte, Barret *et al.* (2004), no encontraron diferencias en el tiempo desde la ovulación hasta la formación del cuerpo lúteo entre grupos con eCG a una

dosis de 500 UI (3.4 ± 0.3 días) y grupos control (3.6 ± 0.4 días). En el presente trabajo, la dosis utilizada de eCG al final del tratamiento fue de 200 UI y únicamente hubo una tendencia ($P=0.06$) en los tratamientos que recibieron eCG a tardar más tiempo (52.66 horas) en formar el CL, en comparación a los tratamientos que no recibieron eCG (44.60 horas).

En cuanto al tiempo de formación del CL por efecto del tiempo de tratamiento, se obtuvieron resultados significativos, en los que los tratamientos largos tardaron más tiempo (54.6 horas) en formar el CL en comparación con los cortos (42.6 horas), esto difiere a lo encontrado por Escorcía (2019), quien obtuvo que los tratamientos cortos tardaron más tiempo en formar el CL (47.29 horas) en comparación con los tratamientos largos (40.37 horas).

10. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de este trabajo se concluye que, en tratamientos largos de sincronización con progestágenos más prostaglandinas hay mayor tasa ovulatoria y mayor presencia de persistencia folicular, específicamente de persistencia folicular categoría tipo I en comparación con tratamientos cortos. No hay diferencias en el número de oleadas foliculares entre tratamientos cortos y largos, que indique una diferencia en el recambio folicular entre estos tratamientos. Adicionalmente, la gonadotropina coriónica equina a una dosis de 200 UI, no muestra respuesta significativa en el aumento de la tasa ovulatoria, pero sí tiene influencia sobre el inicio del estro al adelantarlo, así como una tendencia a tardar más tiempo en formar el cuerpo lúteo que en aquellos tratamientos donde no se administró eCG.

11. LITERATURA CITADA

- Abecia JA, Forcada F, González-Bulnes A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science* 130: 173-179.
- Ali A. (2007). Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminants Reserch* 72: 33-37.
- Alves Texeira T, Ferreira de Fonseca J, Gonçalves de Souza- Fabjan JM, Rezende Carvalheira L, Mourma Fernandes DA, Zandonadi Brandao F. (2016). Efficiency of different hormonal treatments for estrus synchronization in tropical Santa Inês sheep. *Tropical animal health and production* 48: 545-551.
- Armstrong DT, Evans G. (1983). Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology* 19: 31-42.
- Baby T, Bartlewski PM. (2011). Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reproduction, Fertility and Development* 23: 303-310.
- Baillet A, Mandon-Pepin B, Cabau C, Poumerol E, Pailhoux E, Cotinot C. (2008). Identification of transcripts involved in meiosis and follicle formation during ovine ovary development. *BMC Genomics* 9:436.
- Barret DMW, Bartlewski PM, Batista-Arteaga M, Symington A, Rawlings NC. (2004). Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology* 61: 311-327.
- Bartlewski PM, Beard AP, Chandolia K, Honamarooz A, Rawlings NC. (1999a). Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility* 115: 111-124.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. (1999b). An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52: 115- 130.

- Bartlewski PM, Baby T, Giffin JL. (2011). Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science* 124: 259-268.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. (1999). An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52: 115-130
- Bartlewski PM, Sohal J, Paravinja V, Baby T, Oliveira MEF, Murawski M, Schwarz T, Zieba DA, Keisler DH. (2016). Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep?. *Domestic Animal Endocrinology* 1-9.
- Bister JL, Noel B, Perrad B, Mandiki SNM, Mbayahaga, Paquay R. (1999). Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology* 17: 315-328.
- Cahill LP, MaulCon P. (1981). A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 61: 201-6
- Campbell BK. (2009). The endocrine and local control of ovarian follicle development in the ewe. *Animal Reproduction* 6: 159-171.
- Campbell B, Dobson H, Scaramuzzi R. (1998). Ovarian function in ewes made hypogonadal with GnRH antagonist and stimulated with FSH in the presence or absence of low amplitude LH pulses. *Journal of Endocrinology* 156: 213-222.
- Campbell BK, Dobson H, Baird DT, Scaramuzzi RJ. (1999). Examination of the relative role of FSH and LH in the mechanism of ovulatory follicle selection in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 117: 355-367.
- Campbell BK, Souza C, Gong J, Webb R, Kendall N, Marsters P, Robinson G, Mitchell A, Telfer EE, Baird DT. (2003). Domestic ruminants as models for the elucidation of the mechanisms controlling ovarian follicle development in humans. *Reproduction Supplement* 61: 429- 443.
- Cox JF, Allende R, Lara E, Leiva A, Díaz T, Dorado J, Saravia F. (2012). Follicular Dynamics, Interval to Ovulation and Fertility after AI in Short-Term Progesterone and PGF2 α Oestrous Synchronization Protocol in Sheep. *Reproduction in Domestic Animals* 47: 946-951.
- De Tassigny XA, Colledge WH. (2010). The Role of Kisspeptin Signaling in Reproduction. *Physiology* 25: 207-217.

- Deligiannis C, Valasi I, Rekkas CA, Goulas P, Theodosiaudou E, Lainas T, Amiridis GS. (2005). Synchronization of Ovulation and Fixed Time Intrauterine Insemination in Ewes. *Reproduction Domestic Animals* 40: 6-10.
- Driancourt M, Fry R. (1992). Effect of superovulation with pFSH and PMSG on growth and maturation of the ovulatory follicles in sheep. *Animal Reproduction Science* 27: 279-292.
- Einer-Jensen N, Hunter RHF. (2005). Counter-current transfer in reproductive biology. *Reproduction* 129: 9–18.
- Eppig JJ. (2001). Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 122: 829-838.
- Escorcía P. Comparación y dinámica folicular de dos protocolos de sincronización con acetato de fluorogestona y glicerol en ovejas Pelibuey. (Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal). Ciudad de México (Mex). Universidad Nacional Autónoma de México; 2019.
- Farin, CE, Sawyer HR, Niswender GD. (1989). Analysis of cell types in the corpus luteum of the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 37:181–187.
- Fortune JE. (2003). The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of prenatral follicles. *Animal Reproduction Science* 78: 135-163.
- Fukui Y, Ishikawa D, Ishida N, Okada M, Itagaki R, Ogiso T. (1999). Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four different Intravaginal devices during the breeding season. *Journal of Reproduction and Development* 45: 337.343.
- Gardón JC, Escribano B, Astiz S, Ruiz S. (2015). Synchronization protocols in Spanish Merino sheep: reduction in time to estrus by the addition of eCG to a progesterone-based estrus synchronization protocol. *Annals of Animal Science* Vol. 15 No. 2: 409-418.
- Gilchrist RB, Thompson JG. (2007). Oocyte maturation: emerging concepts and technologies to improve developmental potential *in vitro*. *Theriogenology* 67: 6–15.
- Goodman RL, Karsh FJ. (1980). Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinology* 107: 1286-1290.

- Gonzalez-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Santiago-Moreno J, Dominguez V, Lopez-Sebastian A, Cocero M.J. (2003). Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatments in ewes. *Theriogenology* 60:281–287.
- Guigon CJ, Magre S. (2006). Contribution of germ cells to the differentiation and maturation of the ovary: insights from models of germ cells depletion. *Biology of Reproduction* 74: 450-458.
- Hamed N, Khan MIUR, Ahmad W, Abbas M, Murtaza A, Shahzad M y Ahmad N. (2020). Follicular dynamics, estrous response and pregnancy rate following GnRH and progesterone priming with and without eCG during non-breeding season in anestrus Beetal goats. *Small Ruminants Research* 182:73-77-
- Hay M F, Moor R M. (1975). Functional and structural relationships in the Graafian follicle
- population of the sheep ovary. *Journal of Reproduction and Fertility* 45: 583-93.
- Hillier S. (2001). Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology* 179: 39-46.
- Hosseinipannah SM, Anvarian M, Mousavinia M, Alimardan M, Hamzei S, Mansouri Zengir SB. (2014). Effects of progesterone in synchronization of estrus and fertility in Shal ewes in non-productive season. *European Journal of Experimental Biology* 4(1): 83-86.
- Jiang JY, Macchiarelli G, Tsang BK, Sato E. (2003). Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. *Reproduction* 125: 211-223.
- Kanda S. (2019). Evolution of the regulatory mechanisms for the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in vertebrates-hypothesis from a comparative view. *General and Comparative Endocrinology* 284: 113075
- Kezele P, Nilsson EE, Skinner MK. (2005). Keratinocyte growth factor acts as a mesenchymal factor that promotes ovarian primordial to primary follicle transition. *Biology of Reproduction* 73: 967–973.
- Kikuchi N, Andoh K, Abe Y, Yamada K, Mizunuma H, Ibuki Y. (2001). Inhibitory action of leptin on early follicular growth differs in immature and adult female mice. *Biology of Reproduction* 65: 66–71.

- Knight PG, Glister C. (2003). Local roles of TGF-beta superfamily members in the control of ovarian follicle development. *Animal Reproduction Science* 78:165-183.
- Knight PG, Glister C. (2006). TGFβ superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction review* 132: 191-206.
- Legan SJ, Karsch FJ. (1979). Neuroendocrine regulation of the Estrous Cycle and Seasonal Breeding in the Ewe. *Biology of Reproduction* 20: 74.85.
- Lertchunhakiat K, Navanukraw C, Thammasiri J, Jaikan W, Swannakorn A, Moonmanee T, Redmer DA. (2012). Evaluation of Protocols Based on Synthetic Progesterone and Gonadotropin on Estrus and Ovulatory Response in Thai-Native Goats. *Journal of Animal Veterinary Advances* 11 (18): 3385-3389.
- Machado Figuera L, Gomes Alves N, Gonçalves Souza- Fabjan JM, Franco Oliveira ME, Ribeiro Lima R, Nunes Souza G, Ferreira Fonseca J. (2020). Preovulatory follicular dynamics, ovulatory response and embryo yield in Lacaune ewes subjected to synchronous estrus induction protocols and non-surgical embryo recovery. *Theriogenology* 145: 238-246.
- Maeda KI, Ohkura S, Uenoyama Y, Wakabayashi Y, Oka Y, Tsukamura H, Okamura H. (2010). Neurobiological mechanisms underlying GnRH pulse generation by the hypothalamus. *Brain Reserch* 1364: 103-115.
- Mann GE, Payne JH, Lamming GE. (2001). Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F2 secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. *Domestic Animal Endocrinology* 21: 127–141.
- Martemucci G, D`Alessandro AG. (2011). Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2α, GnRH, eCG treatments of natural service or IA fixed-timed. *Animal Reproduction Science*-123: 32-39.
- Martínez V. Efecto del tratamiento con una solución glucogénica oral sobre la tasa de ovulación en ovejas Pelibuey. (Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal). Ciudad de México (México). Universidad Nacional Autónoma de México; 2004.
- Martinez-Ros P, Rios-Abellan A, Gonzalez Bulnes A. (2019). Influence of Progesterone-Treatment Length and eCG Administration on appearance of Estrous Behavior, Ovulatory Success and Fertility in Sheep. *Animals* 9,9.

- Matsui M, Sonntag B, Hwang S, Byerly T, Hourvitz A, Adashi E, Shimasaki S, Erickson G. (2004). Pregnancy-Associated Plasma Protein-A production in Rat Granulosa Cells: Stimulation by Follicle-Stimulating Hormone and Inhibition by the Oocyte-Derived Bone Morphogenetic Protein-15. *Endocrinology* 145(8): 3686-3695.
- Mazerbourg S, Bondy CA, Zhou J, Monget P. (2003). The insulinlike growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? A comparative species study. *Reproduction in Domestic Animals* 38:247–258.
- McNatty KP, Gibb M, Dobson C, Ball K, Caster J, Heath D, Thurley DC. (1982). Preovulatory follicular development in sheep treated with YMSG and/or prostaglandin. *Journal of Reproduction and Fertility* 65: 111-123.
- McNatty KP, Heath DA, Lundy T, Fidler AE, Quirke L, O'Connell A, Smith P, Groome NP, Tisdall DJ. (1999). Control of early ovarian follicular development. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement* 54:3-16.
- McNatty K, Fidler A, Juengel J, Quirke L, Smith P, Heath D, Lundy T, O'Connell A, Tisdall D. (2000). Growth and paracrine factors regulating follicular formation and cellular function. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163:11-20
- McNatty KP, Smith P, Moore LG, Reader K, Lun S, Hanrahan JP, Groome NP, Latinen M, Ritvos O, Juengel JL. (2005). Oocyte expressed genes affecting ovulation rate. *Molecular and Cellular Endocrinology* 234: 57–66
- McNatty KP, Reader K, Smith P, Heath DA, Juengel JL. (2007). Control of ovarian follicular development to the gonadotrophin-dependent phase: a 2006 perspective. *Society of Reproduction and Fertility Supplement* 64: 55-68.
- McNelly AS, Picton HM, Campbell BK, Baird DT. (1991). Gonadotropic control of follicular growth in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 43: 177- 186.
- McNeilly A, Crow W, Brooks J, Evans G. (1992). Luteinizing-hormone pulses, follicle- stimulating-hormone and control of follicle selection in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement* 45: 5-19.

- Menchaca A, Rubianes E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 203-413.
- Moakhar HK, Kohram H, Shahneh AZ, Saberifar T. (2012). Ovarian response and pregnancy rate following different doses of eCG treatment in Chall ewes. *Small Ruminant Reserch* 102: 63-67.
- Moradi Kor N, Ziaei N, Esfandiar Pour E. (2011). Comparison of Reporductive Perfomance in Reini Goats following different Estrous Synchronization Methods and Subsequent ECG Treatment During the Natural Breeding Season. *Global Veterinaria* 7(6): 618-624.
- Moor M, Osborn J, Crosby I. (1985). Gonadotrophin-induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *Journals of Reproduction and Fertility* 74: 167-172.
- Murphy MG, Enright W J, Crowe MA, McConnell K, Spicer LJ, Boland MP, Roche JF. (1991). Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *Journal of Reprouction and Fertility* 92: 333–338.
- National Reserch Council of The National Academies. Nutrient Requierements of Small Ruminants:Sheep, Goat, Cervids and New World Camelids. Washington DC, (USA): The National Academies Press; 2006.
- Nilsson EE, Kezele P, Skinner MK. (2002). Leukemia inhibitory factor (LIF) promotes the primordial to primary follicle transition in rat ovaries. *Molecular and Cellular Endocrinology* 188: 65–73.
- Nilsson EE, Skinner MK. (2004). Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. *Molecular and Cellular Endocrinology* 214: 19–25.
- Niswender GD, Juengal JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological. Reviews* 80: 1–29.
- Ortega H, Palomar M, Acosta J, Salvetti N, Dallard B, Lorente J, Barbeito C, Gimeno E. (2008). Insulin-like growth factor I in sera, ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous or induced cystic ovarian disease. *Research in Veterinary Science* 84(2008) 419- 427.

- Ortega H, Marelli BE, Rey F, Amweg AN, Díaz P, Stangaferro ML, Salvetti NR. (2015). Molecular aspects of bovine cystic ovarian disease pathogenesis. *Reproduction* 149: 251-264.
- Otsuka F, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S. (2001). Bone morphogenetic protein-15 inhibits follicle-stimulating hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. *Journal of Biological Chemistry* 276:11387–11392.
- Picton HM. (2001). Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology* 55(6):1193-210.
- Plant TM. (2019). The neurobiological mechanism underlying hypothalamic GnRH pulse generation: the role of kisspeptin neurons in the arcuate nucleus. *F1000 Reserch*. Publicado en línea DOI: 10.12688/f1000reserch.18356.2
- Quintero- Elisea JA, Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, González-Reyna A, Lucero-Magaña FA, Soto-Navarro SA, Avendaño-Reyes L. (2011). The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. *Tropical Animals Health and Production* 8: 1567-73.
- Rawlings NC, Cook SJ. (1993). LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Animal Reproduction Science* 30: 289-299.
- Rawlings NC, Cook SJ. (1993). LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Animal Reproduction Science* 30: 289-299.
- Roche JF. (1996). Control and regulation of folliculogenesis: a symposium in perspective. *Reviews of Reproduction* 1: 19–27.
- Rodríguez F, Gareis N, Hein G, Salvetti N, Amweg A, Huber E, Stassi A, Ortega H, Rey F. (2017). Role of Components of the Insulin-like Growth Factor System in the Early Stages of Ovarian Follicular Persistence in Cattle. *Journal of Comparative Pathology* 157: 201-214.
- Rojo-Martínez J, Salas-Razo G. (2015). The use of Melengestrol Acetate as a strategy to improve production efficiency of Sheep in Rural Areas in Mexico. *Journal of Agricultural Science and Technology* 5: 210-213.
- Rosa HJD, Bryant MJ. (2003). Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminants Research* 48: 155-171.

- Roy F, Maurel MC, Combes B, Vaiman D, Cribiu ED, Lantier I, Pobel T, Delétang F, Combarnous Y, Guillou F. (1999). The Negative Effect of repeated Equine Chorionic Gonadotropin Treatment on subsequent fertility in Alpine Goats is due to a Humoral Immune response involving the Major Histocompatibility Complex. *Biology of Reproduction* 60: 805-813.
- Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. (2003). Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 α . *Animal Reproduction Science*. 78: 47- 55.
- Sahaerra A, Valencia J, Balcazar A, Mejía O, Cerbon JL, Caballero V, Zarco L. (1998). Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: Effect of hCG on GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology* 50: 1039-1052.
- Salas-Razo G, Rojo-Martínez J, Garcidueñas-Piña R, Flores-Padilla J, Perea-Peña M, Espinoza-Villavicencio J. (2013). Effect of prolonged treatment with Melengestrol Acetate (MGA) on the persistence or non-persistence of ovarian Follicles in Ewes. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* Vol.3(4).
- SAS Institute. User's Guide. (2014) (8 de octubre de 2018) USA. North Carolina. Recuperado de: <http://support.sas.com/rnd/app/doc.html>
- Sawyer HR, Smith P, Heath DA, Juengel JL, Wakefield SJ, McNatty KP. (2002). Formation of Ovarian Follicles During Fetal Development in Sheep. *Biology of Reproduction* 66:1134-1150.
- Scaramuzzi R, Adams NR, Baird DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GB, McNatty KP, McNeilly, Tsonis CG. (1993). A Model for Follicle Selection and the determination of Ovulation Rate in the Ewe. *Reproduction, Fertility and Development* 5:459-78.
- Scaramuzzi R, Baird D, Campbell B, Driancourt M, Dupont J, Fortune J, Gilchrist R, Martin G, McNatty K, McNelly A, Monger P, Monniaux D, Viñoles C, Webb R. (2011). Regulation of folliculogenesis and determination of ovulation rate in ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 23: 444-467.
- Senger PL. Pathways to Pregnancy and Parturition. Segunda Edición. Washington D.C (USA): Current Conceptions Inc; 2005.

- Sheldrick EL, Flint APF. (1985). Endocrine control of uterine oxytocin receptors in the ewe. *J. Endocrinol.* 106: 249–258.
- Ungerfeld R, Rubianes E. (1999). Effectiveness of short-term progesterone priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science* 68:349-353.
- Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. (1999). The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351- 1361.
- Viñoles C, Forsberg M, Banchero G, Rubianes E. (2001). Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cycle ewes. *Theriogenology* 55(4): 993-1004.
- Webb R, Campbell BK, Garverick HA, Gong JG, Gutierrez CG, Armstrong DG. (1999). Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *Journal of Reproduction and Fertility* Supplement 54: 33-48.
- Webb R, Campbell B. (2007). Development of the dominant follicle: mechanisms of selection and maintenance of oocyte quality. *Society of Reproduction and Fertility Supplement* 64:141-164.
- Wildeus S. (2000). Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal of Animal Science* 77: 1-14.
- Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21-52.

12. ANEXOS

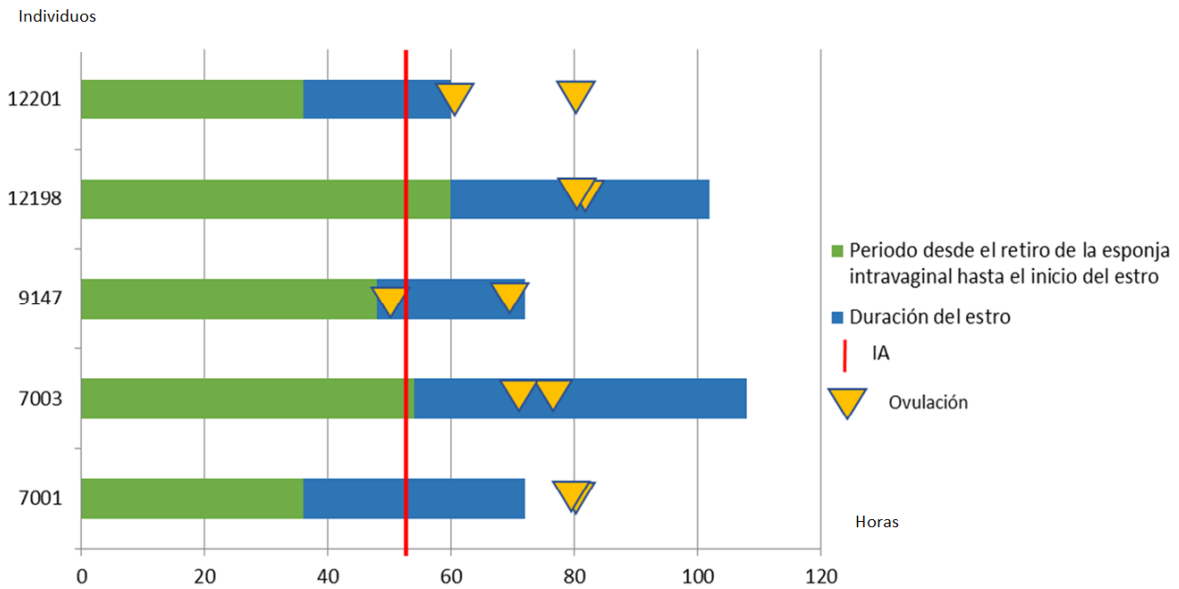


Figura 17. Comportamiento por individuo del grupo TLC, incluyendo periodo desde el retiro de la esponja intravaginal hasta el inicio del estro (verde), duración del estro (azul), ovulación (amarillo) y tiempo de IA (línea roja).

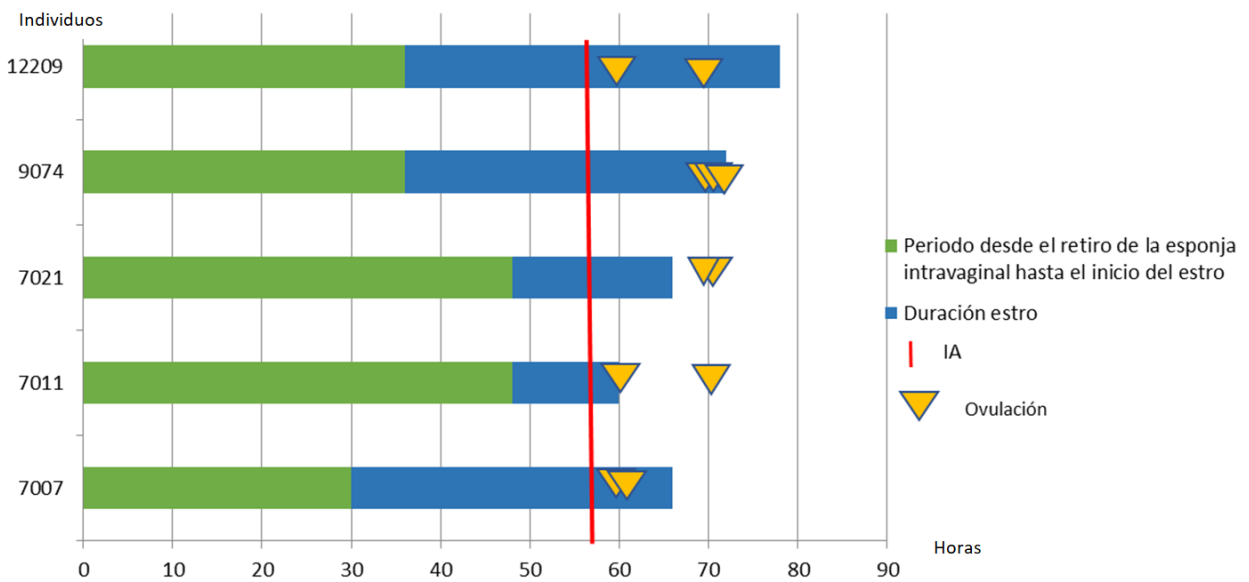


Figura 18. Comportamiento por individuo del grupo TLE, incluyendo el periodo desde el retiro de la esponja intravaginal hasta el inicio del estro (verde), duración del estro (azul), ovulación (amarillo) y tiempo de IA (línea roja).

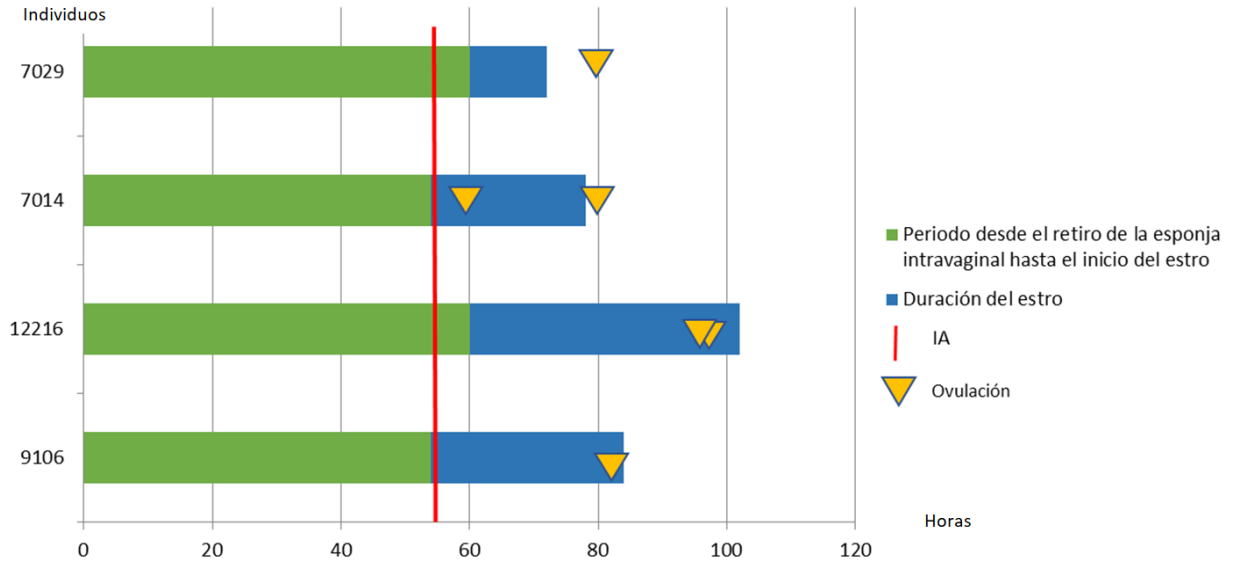


Figura 19. Comportamiento por individuo del grupo TCC, incluyendo periodo desde retido del dispositivo hasta el inicio del estro (verde), duración del estro (azul), ovulación (amarillo) y tiempo de IA (línea roja).

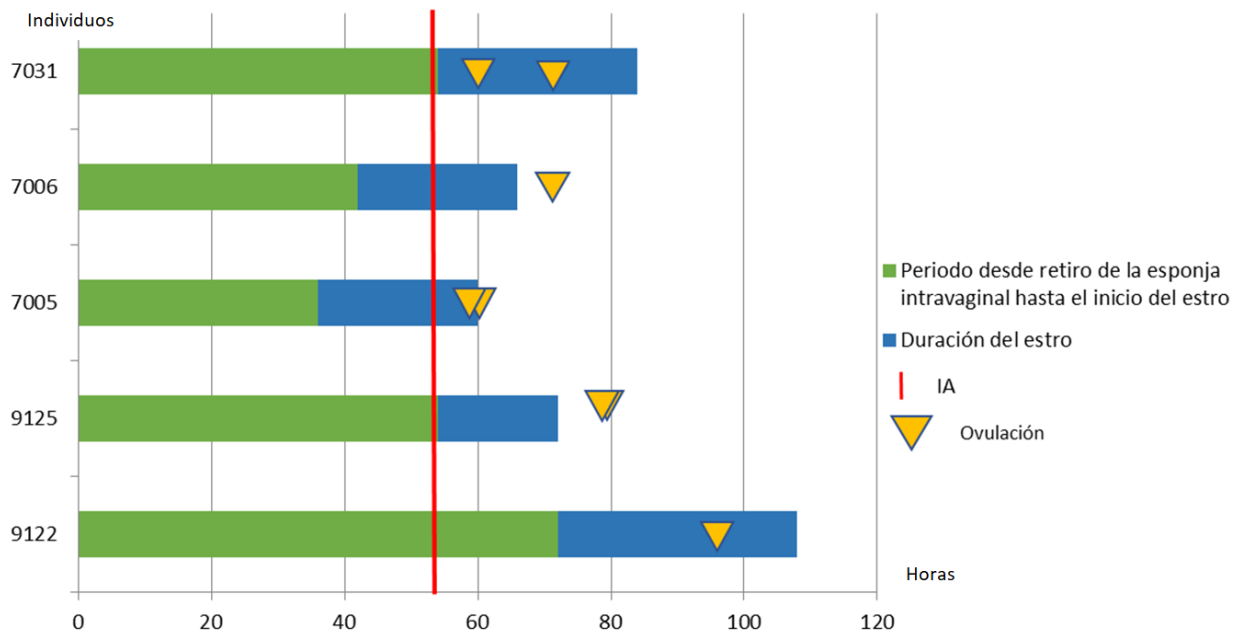


Figura 20. Comportamiento por individuo del grupo TCE, incluyendo el periodo desde el retiro de la esponja intravaginal hasta el inicio del estro (verde), duración del estro (azul), ovulación (amarillo) y tiempo de IA (línea roja).

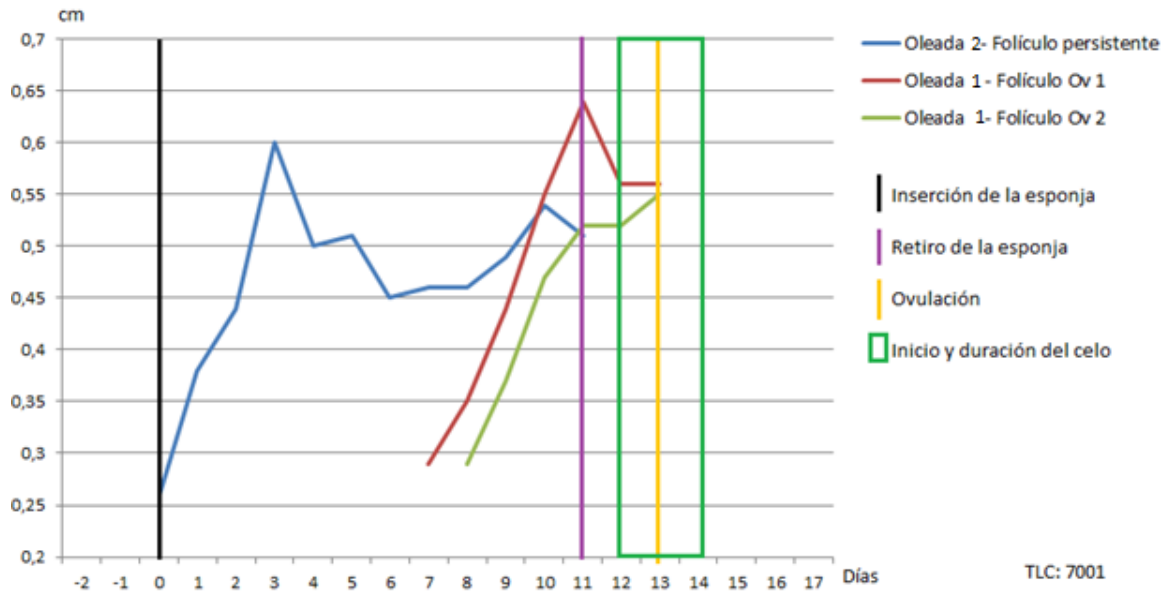


Figura 21. Dinámica folicular de la oveja 7001. Crecimiento y duración de un folículo persistente perteneciente a la oleada 2 en ovario derecho (OD) (línea azul) y crecimiento y duración de dos folículos ovulatorios de OD y ovario izquierdo (OI) (líneas roja y verde) pertenecientes a la misma oleada folicular (oleada 1), de la oveja 7001 del grupo TLC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

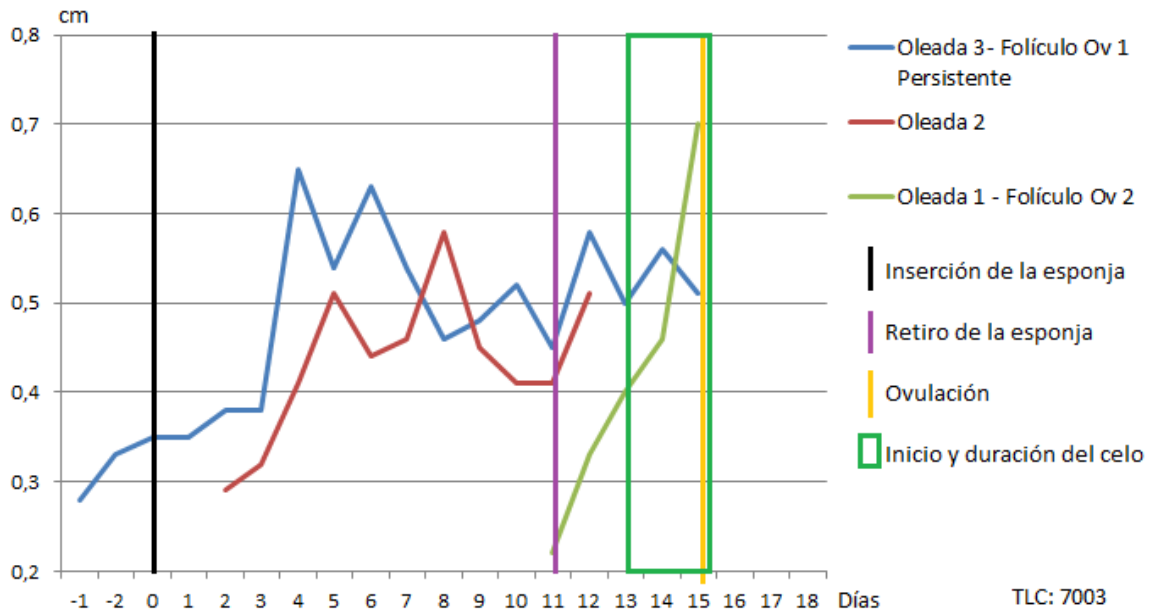


Figura 22. Dinámica folicular de la oveja 7003. Crecimiento y duración de un folículo persistente ovulatorio perteneciente a la oleada 3 (OI) (línea azul) y crecimiento y duración de un folículo no ovulatorio perteneciente a la oleada folicular 2 (OD) (línea roja) y un tercer folículo perteneciente a la oleada 1, el cual también fue ovulatorio (OD) (línea verde), de la oveja 7003 del grupo TLC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

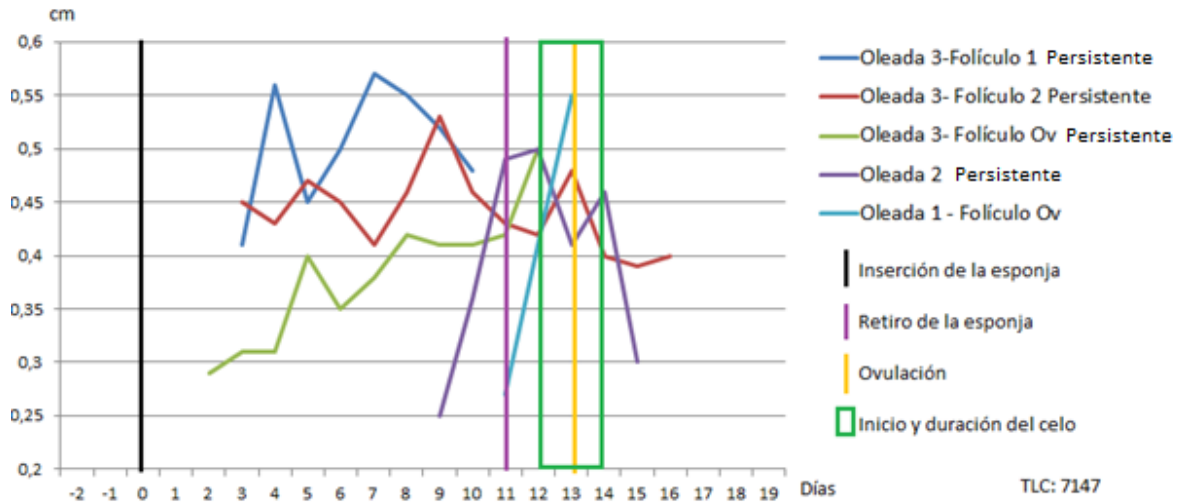


Figura 23. Dinámica folicular de la oveja 7147. Crecimiento y duración de 3 folículos perteneciente a la oleada 3, de los cuales dos fueron persistentes (línea roja en OD y línea azul (OI), y otro persistente y ovulatorio (línea verde en OI), en la oleada 2, también hubo crecimiento de un folículo persistente no ovulatorio en el OD, y por último en la oleada 1 hubo emergencia después del retiro de la esponja de un folículo ovulatorio en el OD (línea azul claro) y duración de un folículo no ovulatorio perteneciente a la oleada folicular 2 (OD) (líneas roja) y un tercer folículo perteneciente a la oleada 1, el cual también fue ovulatorio (OD) (línea verde), de la oveja 7147 del grupo TLC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

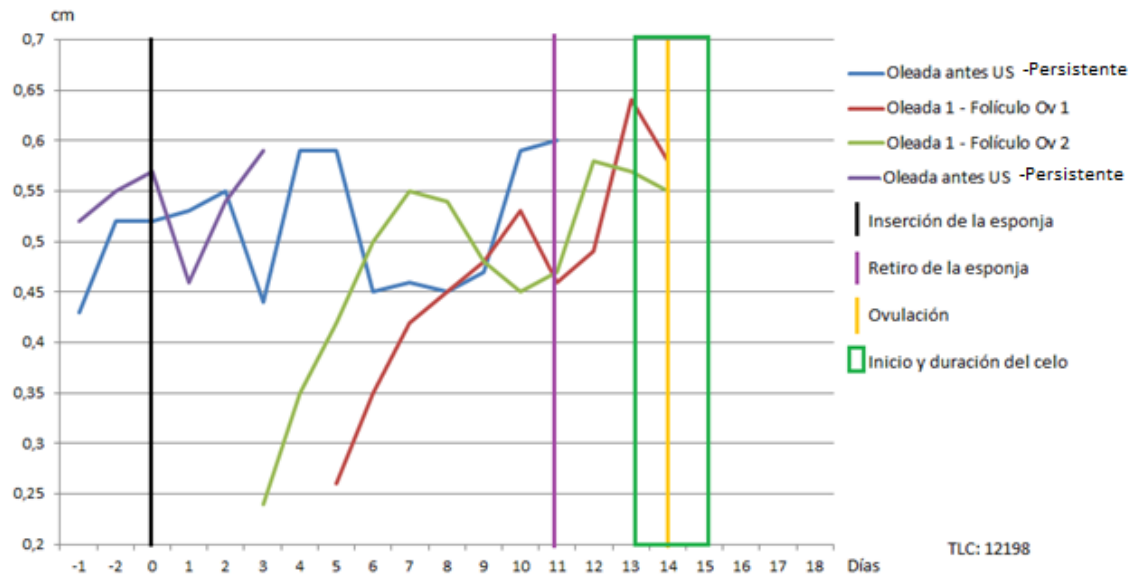


Figura 24. Dinámica folicular de la oveja 12198. En la oleada antes del seguimiento ultrasonográfico, se observan dos folículos persistentes no ovulatorios (línea azul en el OI y línea morada OD). En la oleada 1, se desarrollaron dos folículos ovulatorios (línea roja OI y línea verde OD), de la oveja 12198 del grupo TLC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

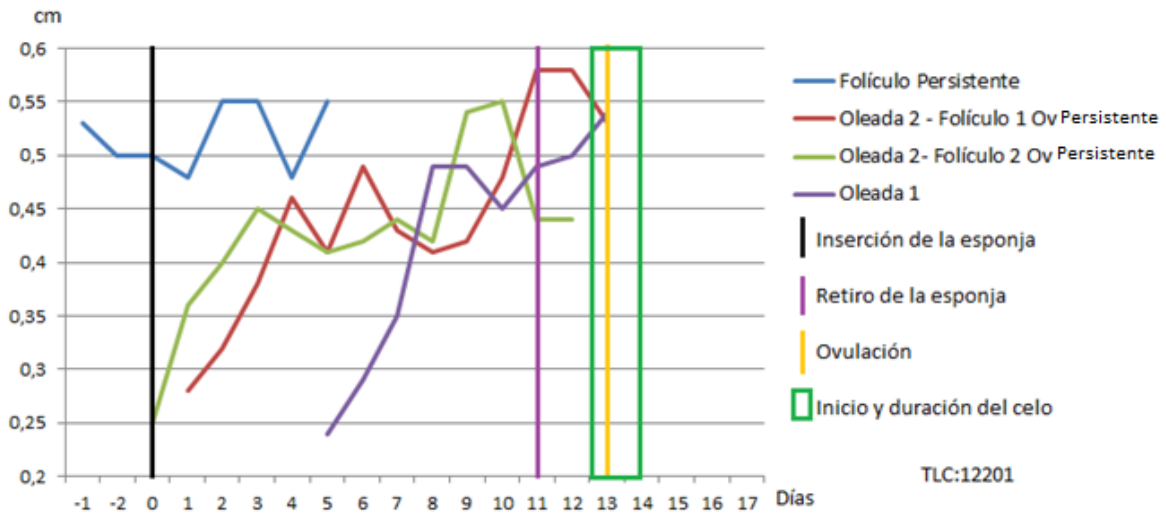


Figura 25. Dinámica folicular de la oveja 12201. En la oleada antes del seguimiento ultrasonográfico, se observan un folículo persistente no ovulatorios (línea azul en el OI), en la segunda oleada folicular, se desarrollaron dos folículos ovulatorios persistentes (línea roja en OI y línea verde en OD), por último, en la oleada 1 hubo desarrollo de un folículo no ovulatorio en el OI, de la oveja 12201 del grupo TLC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

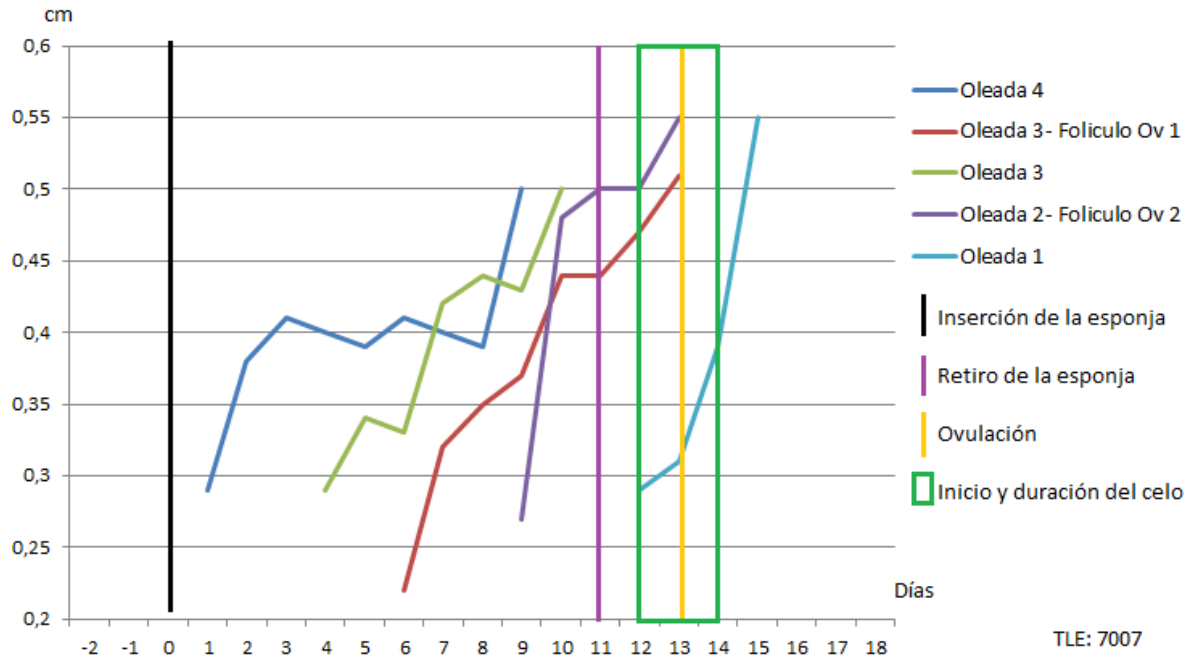


Figura 26. Dinámica de la oveja 7007. Se observa una cuarta oleada folicular, con desarrollo de un folículo (líneas azul oscuro en OD), posteriormente se observa la tercera oleada en la cual, hubo desarrollo de un folículo ovulatorio (línea roja del OD) y uno con desarrollo normal (línea verde en OI), en color morado se observa el desarrollo de un folículo ovulatorio perteneciente a la oleada 2 (OI) y por último en color azul claro, un folículo perteneciente a una primera oleada folicular, la cual, su desarrollo permanece hasta después de la ovulación (OD), de la oveja 7007 del grupo TLE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

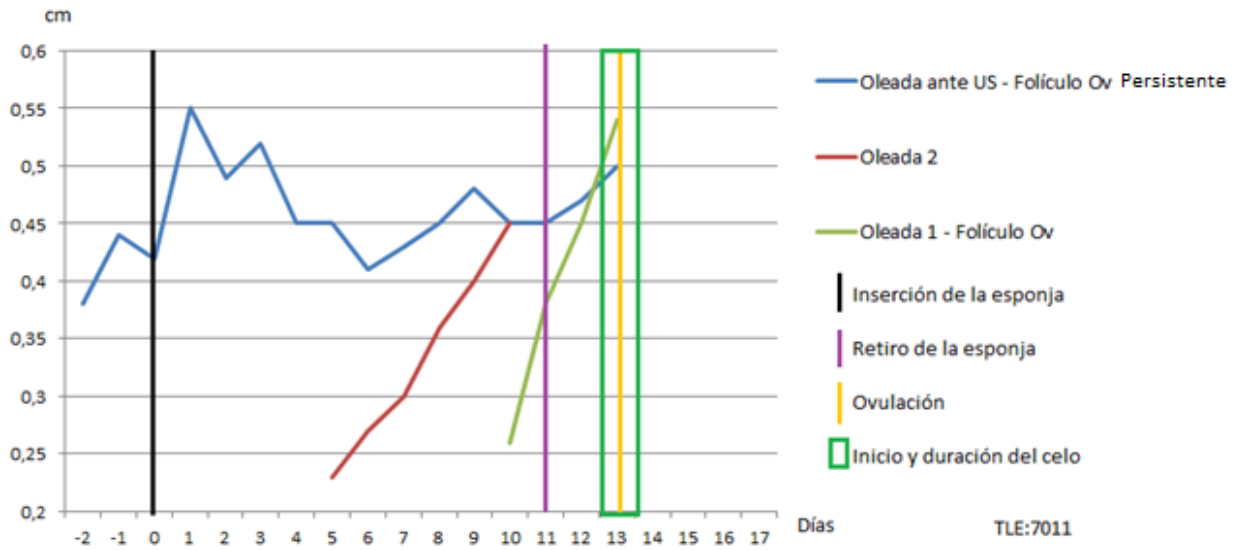


Figura 27. Dinámica folicular de la oveja 7011. Se observa en la oleada que emergió antes de realizar el seguimiento ultrasonográfico, la presencia de un folículo persistente el cual es ovulatorio (línea azul en OD), posteriormente se observa una segunda oleada (línea roja en OD) y por último la oleada 1 con un folículo ovulatorio (línea verde en OI), de la oveja 7011 del grupo TLE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

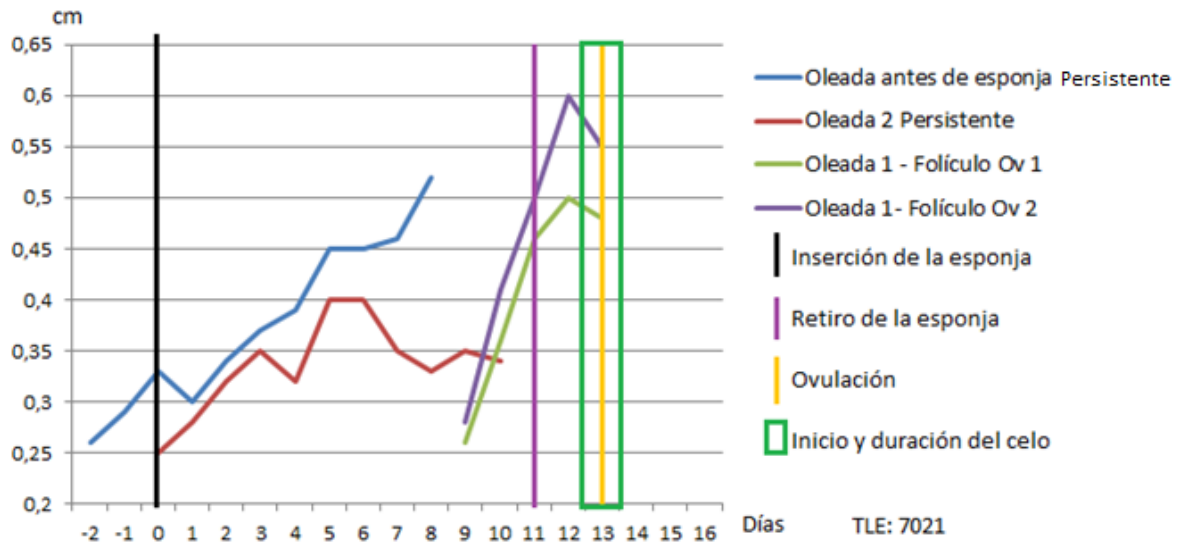


Figura 28. Dinámica folicular de la oveja 7021. Se observa en la oleada que emergió antes de realizar el seguimiento ultrasonográfico, la presencia de un folículo persistente no ovulatorio (línea azul en OI), posteriormente se observa en una segunda oleada, otro folículo persistente (línea roja en OI) y por último la oleada 1 con dos folículos ovulatorios (línea verde en OD y línea morada OI), de la oveja 7021 del grupo TLE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

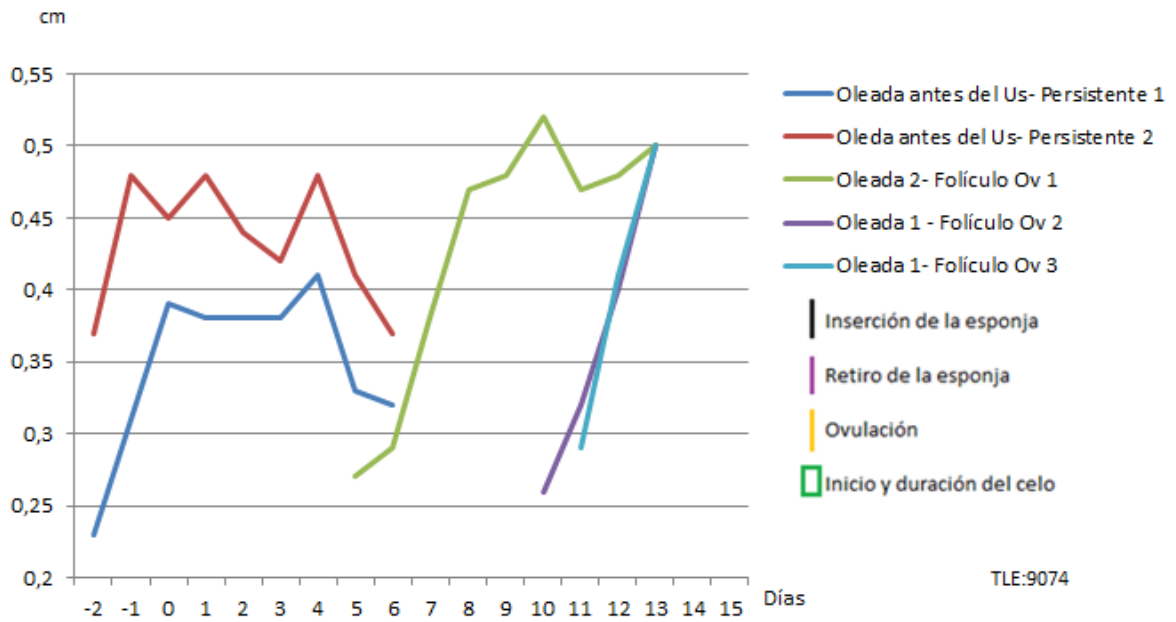


Figura 29. Dinámica folicular de la oveja 9074. Se observa en la oleada que emergió antes de realizar el seguimiento ultrasonográfico, la presencia de dos folículos persistentes no ovulatorios (línea azul en OI y línea roja OD), posteriormente se observa una segunda oleada folicular con un folículo ovulatorio (línea verde en OD) y por último la oleada 1 con dos folículos ovulatorios (línea azul claro y línea morada, ambos del OD), de la oveja 9074 del grupo TLE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

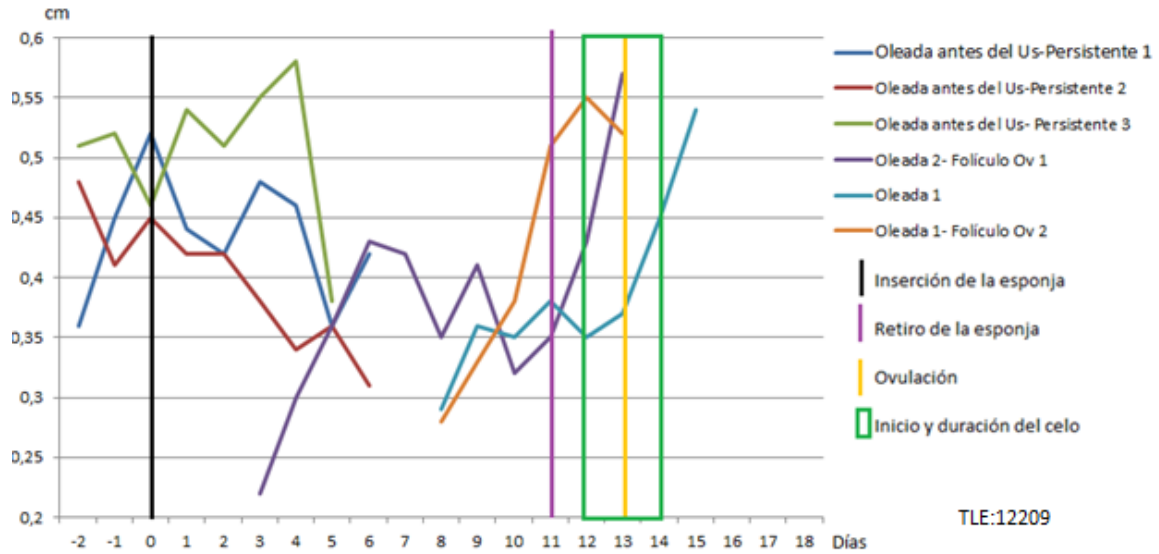


Figura 30. Dinámica folicular de la oveja 12209. Se observa en la oleada que emergió antes de realizar el seguimiento ultrasonográfico, la presencia de tres folículos persistentes no ovulatorios (línea azul, línea roja y línea verde, todos en OI), posteriormente se observa una segunda oleada folicular con un folículo ovulatorio (línea morada en OD) y por último la oleada 1 con dos folículos, uno de ellos ovultorio (línea naranja en OI) y el otro (línea azul claro en OD) no ovulatorio, de la oveja 12209 del grupo TLE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

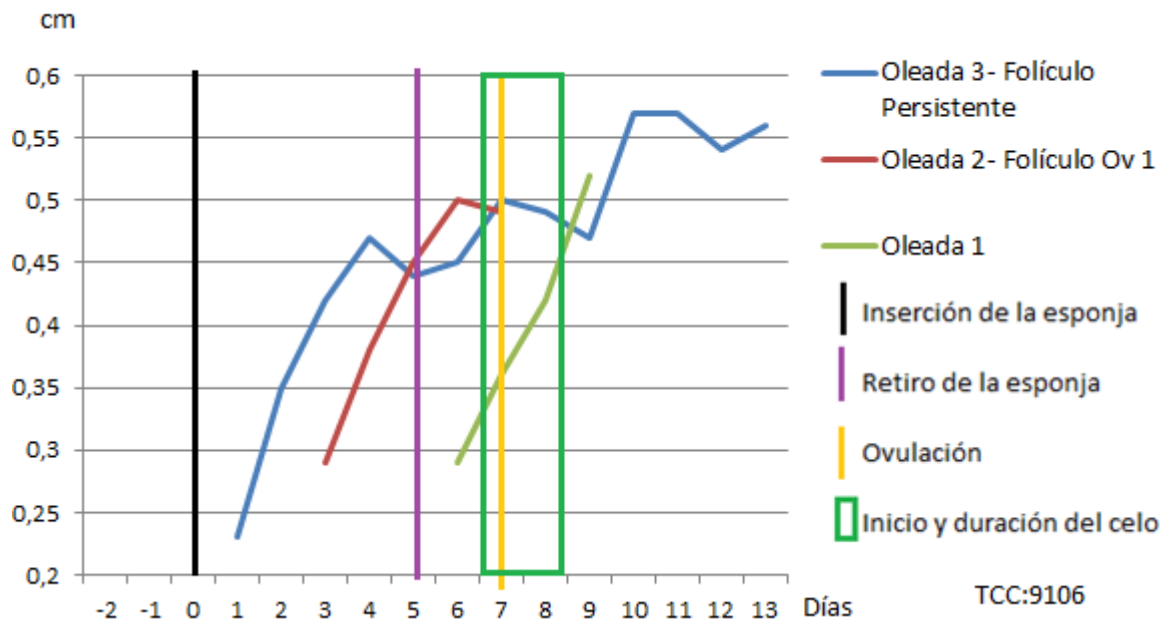


Figura 31. Dinámica folicular de la oveja 9106. En color azul oscuro, se observa el crecimiento de un folículo persistente del OD, perteneciente a la tercera oleada folicular. Posteriormente en color rojo, observamos el crecimiento de un folículo ovulatorio (OI) de la segunda oleada folicular, y por último la primera oleada folicular con el crecimiento de un folículo normal, de la oveja 9106 del grupo TCC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

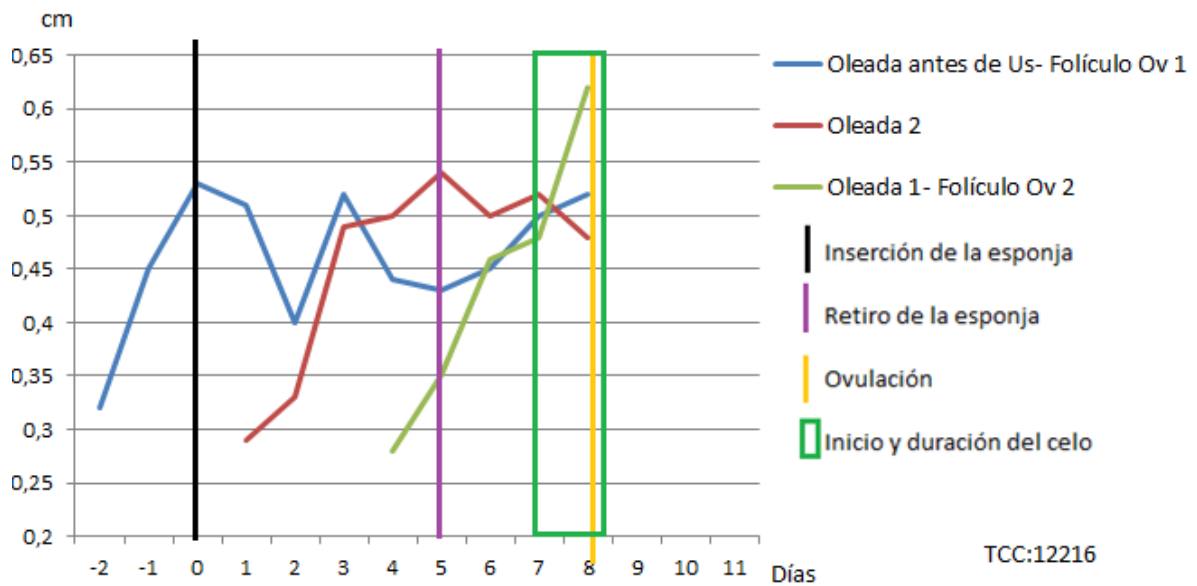


Figura 32. Dinámica folicular de la oveja 12216. En color azul oscuro, se observa el crecimiento de un folículo persistente ovulatorio del OI, perteneciente a la oleada folicular que emergió antes del seguimiento ultrasonográfico. Posteriormente en color rojo, observamos el crecimiento de un folículo no ovulatorio (OI) de la segunda oleada folicular, y por último, la primera oleada folicular con el crecimiento de un folículo ovulatorio del OD (línea verde), de la oveja 12216 del grupo TCC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

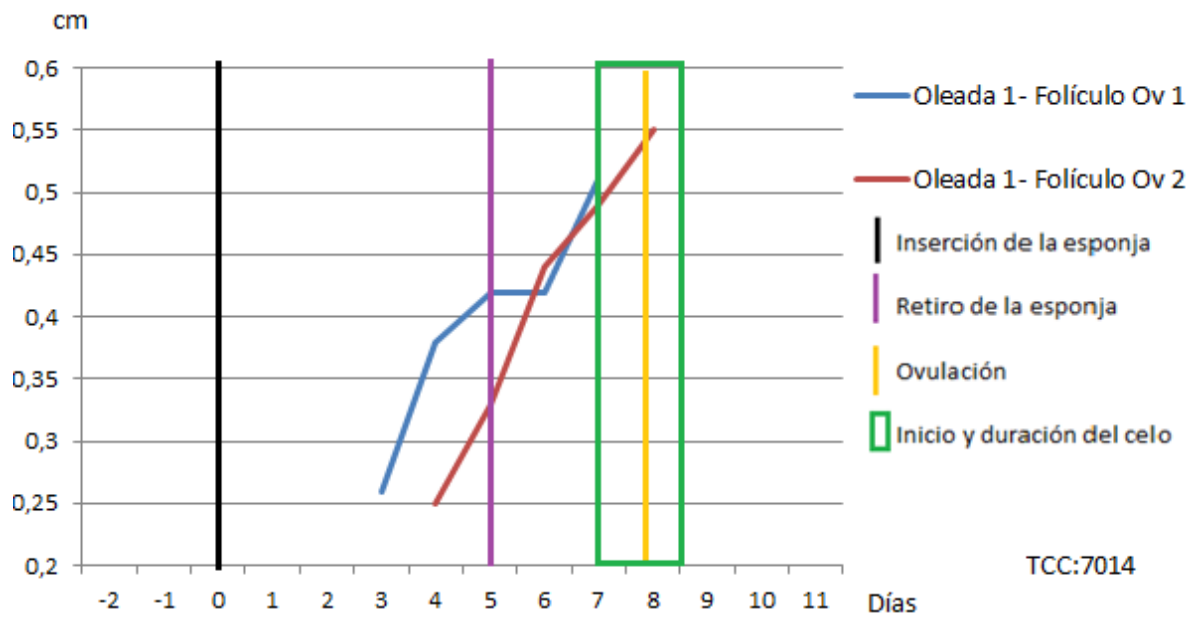


Figura 33. Dinámica folicular de la oveja 7014. Se observa una única oleada folicular, con el crecimiento de dos folículos ovulatorios (línea azul en OI y línea roja en OD), de la oveja 7014 del grupo TCC. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

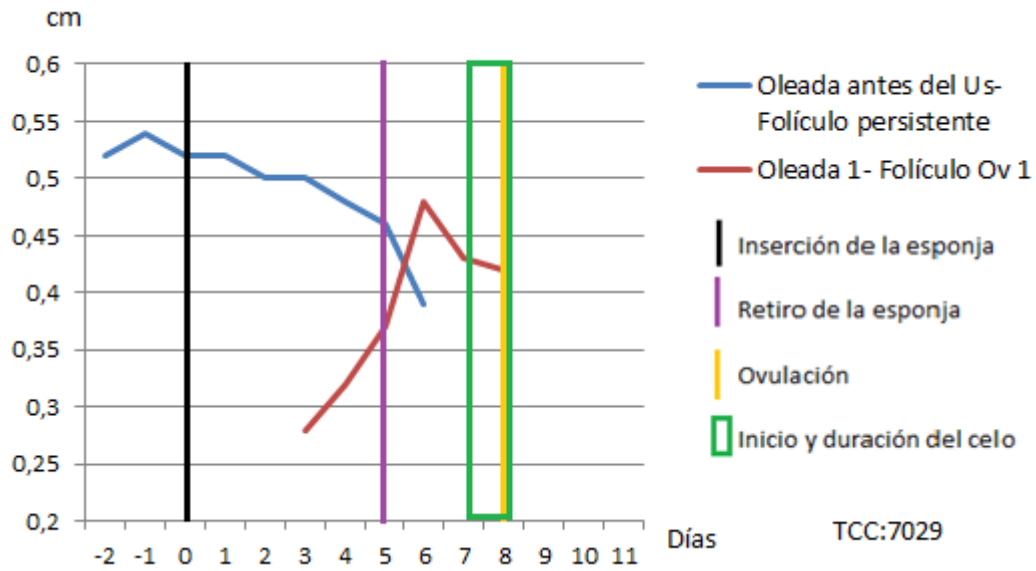


Figura 34. Dinámica folicular de la oveja 7029. Se observa en color azul un folículo persistente que emergió antes del seguimiento ultrasonográfico en el OI, en color rojo se observa un folículo ovulatorio del OD, perteneciente a la primera y única oleada folicular durante el tratamiento. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

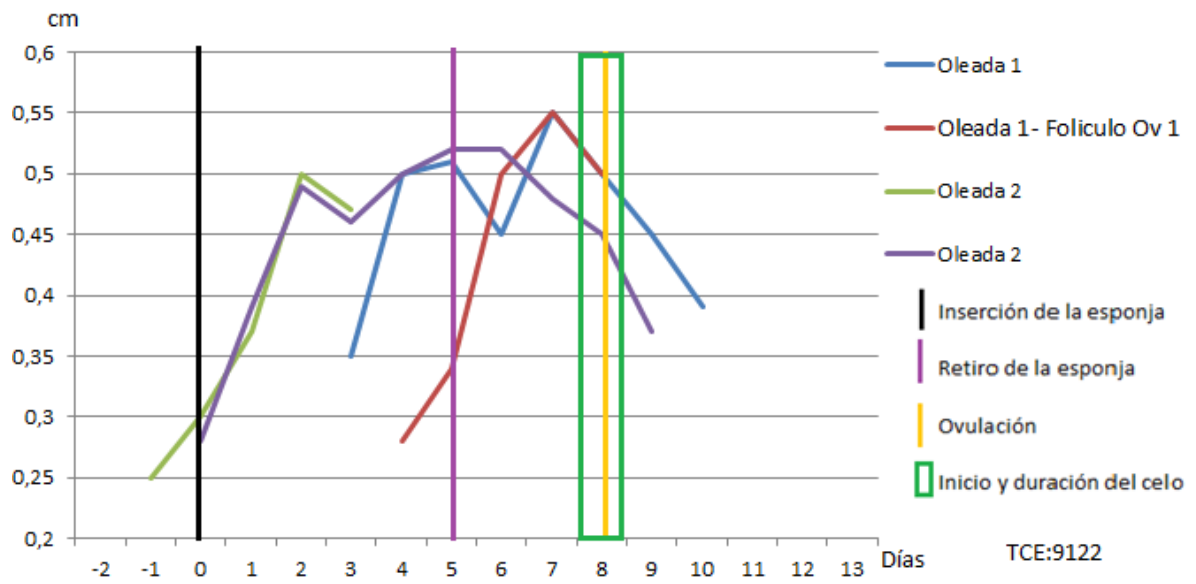


Figura 35. Dinámica folicular de la oveja 9122. Se observa una segunda oleada folicular, con dos folículos dominantes (línea verde en OI y línea morada en OD), también se visualiza una primera oleada folicular con un folículo no ovulatorio en OI (línea azul) y uno ovulatorio en OD (línea roja). La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

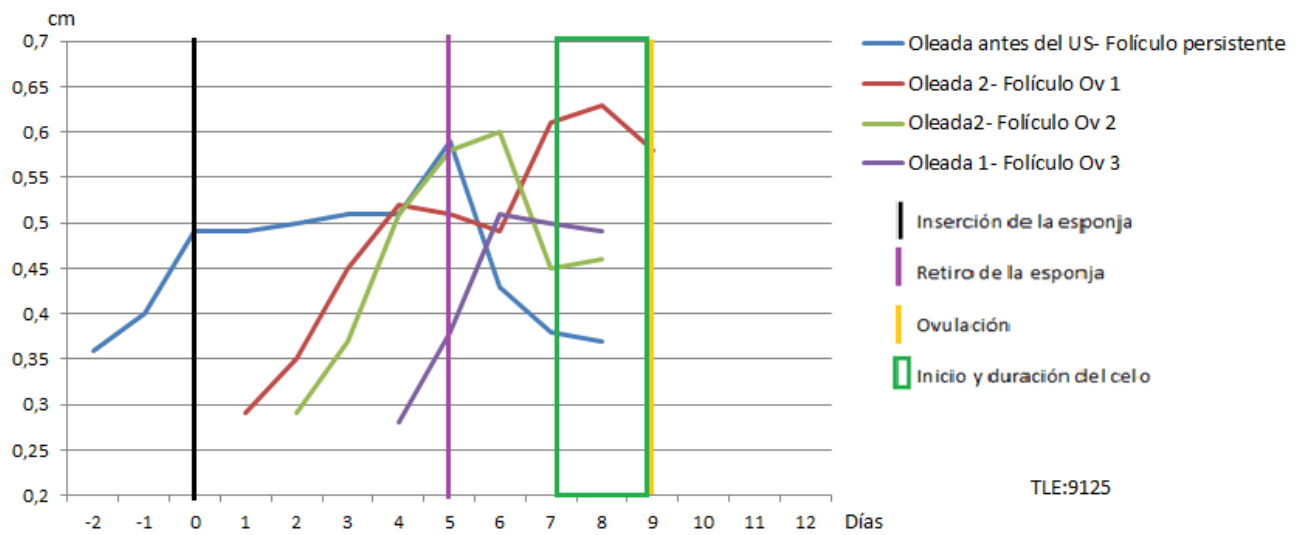


Figura 36. Dinámica folicular de la oveja 9125. Se observa la presencia de un folículo persistente, que emergió en el OI antes del seguimiento ultrasonográfico (línea azul), en color rojo (OI) y verde (OD), se observan dos folículos ovulatorios pertenecientes a la segunda oleada folicular, y por último en color morado (OD), un tercer folículo ovulatorio perteneciente a la primera oleada folicular, en la oveja 9125 del grupo TCE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

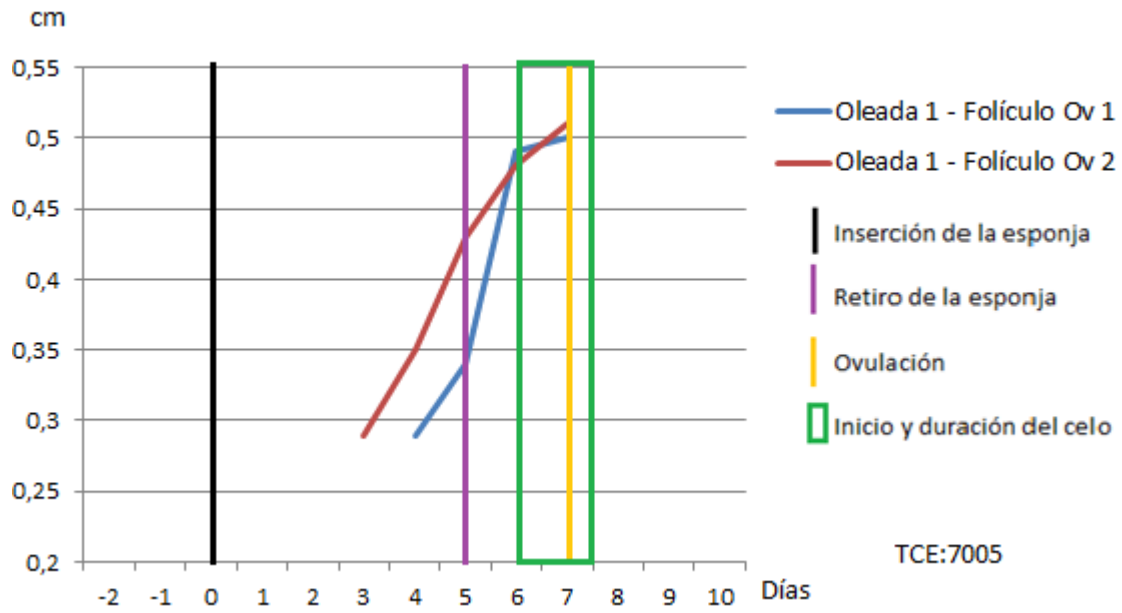


Figura 37. Dinámica folicular de la oveja 7005. Se observa una única oleada folicular, en la que emergieron dos folículos ovulatorios (línea roja en OD, y línea azul en OI), en la oveja 7005 de grupo TCE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

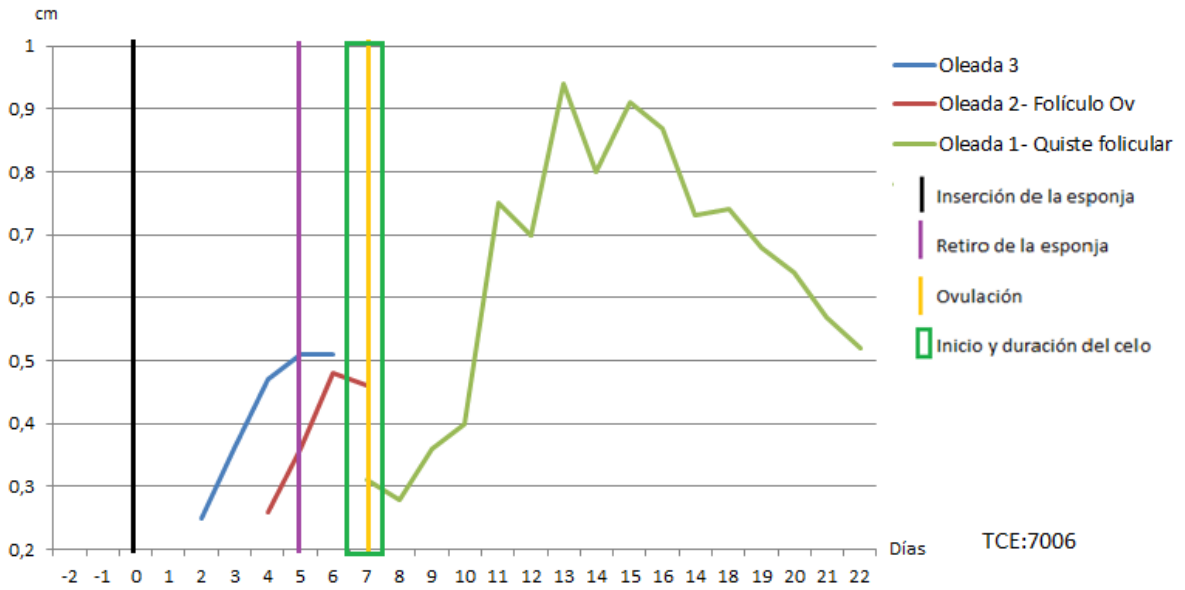


Figura 38. Dinámica folicular de la oveja 7006. Se observan tres oleadas foliculares. La tercera oleada, tuvo el desarrollo y posterior atresia de un folículo (línea azul en OI). En la segunda oleada folicular, se desarrolló un folículo ovulatorio (línea roja en OD) y en la primera oleada folicular, hubo desarrollo de un folículo anovulatorio que se convirtió en quiste folicular (línea verde en el OI), en la oveja 7006 de grupo TCE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.

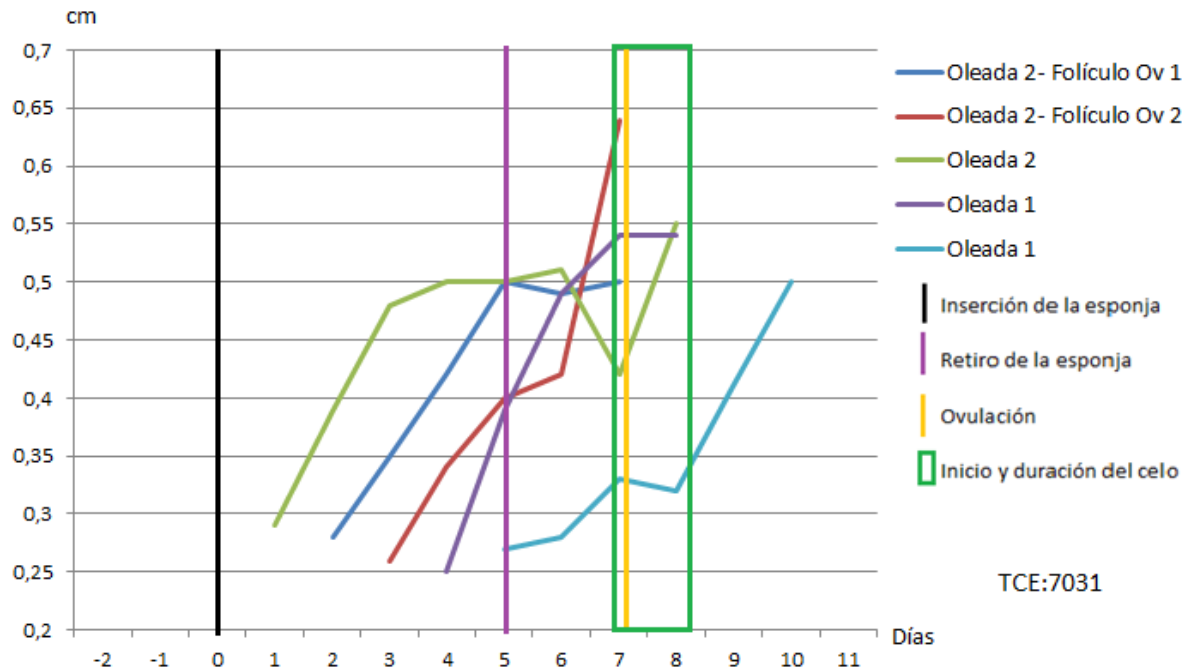


Figura 39. Dinámica folicular de la oveja 7031. Se observa que en la segunda oleada folicular hubo crecimiento de tres folículos, dos de ellos ovulatorios (línea azul oscuro en OI y línea roja en OD), y uno no ovulatorio (línea verde en OD). En la primera oleada, hubo dos folículos no ovulatorios (línea azul claro y línea morada, ambos en OI), de la oveja 7031 del grupo TCE. La línea negra corresponde a la inserción de la esponja, la línea morada a su retiro y la amarilla al momento de la ovulación. También se observa con un recuadro verde el inicio y duración del celo.