



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA HORMONAL DE ESTRADIOL Y PROGESTERONA,
AL ADMINISTRAR UN TRATAMIENTO DE SOBREALIMENTACIÓN ULTRACORTO,
EN UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE SINCRONIZACIÓN CORTO
CON PROGESTÁGENOS EN LA OVEJA PELIBUEY”

TESIS
que para obtener el Título de
Médica Veterinaria Zootecnista

PRESENTA
Diana Velázquez Núñez

ASESORES:
MVZ M en C Antonio Roldán Roldán
MVZ M en C Pablo Escorcía Ortiz

Ciudad Universitaria, CIUDAD DE MÉXICO, 2023





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedicatoria

A mi madre y mi padre, por creer en mis sueños y ayudarme a alcanzarlos.

A mis hermanas, por siempre brindarme su apoyo y palabras de aliento que me han hecho llegar hasta donde estoy.

A mi tía Mary, mi abuelita Yolanda y mi tío César, quienes con su cariño y ánimo me impulsaron durante esta etapa de mi vida.

A mi sobrina Camila, quien me recuerda por qué decidí estudiar esta carrera.

A mis gatos, por estar en todas las noches de desvelo conmigo; los que viven en este plano conmigo y para los que me cuidan desde lejos; los extraño.

Esto es por todos ustedes.

Los amo.

Agradecimientos

A los que verdaderamente me apoyaron.

A mis amigos: Leticia C, Cecilia M, David C, Enrique S, Erick V, Karlita O, Gonzalo G, Carlos Z y todos aquellos que siempre estuvieron conmigo para lograr este sueño.
Los amo.

A todos los que me apoyaron durante el experimental.

A Pablo Escorcia Ortiz, gracias por ser parte de mi crecimiento tanto académico como profesional.

A todas las borregas Pelibuey, especialmente a 12196.

A mi facultad y universidad.

A mi hermosa familia.

A Miró, Misa, Leeid, Micha, Mimi, Miyuki, Chiquito, Mincus...

Contenido

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
CONTENIDO	iv
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN DE LITERATURA	7
El ovino: situación en México	7
Ovino como modelo de estudio	8
Ciclo estral	8
Endocrinología del ciclo estral	10
Hipotálamo	10
Hipófisis	11
Ovario	12
Foliculogénesis	12
Formación del cuerpo lúteo	14
Esteroidogénesis	16
Tecnologías limpias y verdes	17
Sobrealimentación (flushing)	18
Insulina	19

Leptina	20
Hormona del crecimiento (GH)	21
Factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-1)	22
Glicerol	22
HIPÓTESIS	26
OBJETIVO	26
MATERIAL Y MÉTODOS	28
Toma de muestra	28
Detección del estro	29
Ensayo hormonal de progesterona y estradiol	29
Análisis estadístico	30
RESULTADOS	34
DISCUSIÓN	41
CONCLUSIÓN	46
ANEXOS	48
REFERENCIAS	57



Resumen

VELÁZQUEZ NÚÑEZ DIANA. Evaluación de la respuesta hormonal de estradiol y progesterona, al administrar un tratamiento de sobrealimentación ultracorto, en un protocolo de sincronización corto con progestágenos en la oveja Pelibuey. (Bajo la dirección de: MVZ M en C Antonio Roldán Roldán y MVZ M en C Pablo Escorcia Ortiz).

El objetivo de este trabajo fue administrar el glicerol como sustrato gluconeogénico en un protocolo corto de sincronización para evaluar las concentraciones de estradiol y progesterona. Se utilizaron dos grupos: tratamiento corto control (TCC, n=17) y tratamiento corto glicerol (TCG, n=17). A todas las ovejas se les administró un progestágeno (cronolona) por vía vaginal durante 5 días; al retiro del dispositivo se aplicó una prostaglandina (cloprostenol), además para el grupo experimental se administró glicerol PO (50 mL). Se realizaron tomas de muestras sanguíneas (cada 24 h durante la sincronización, cada 12 h entre el retiro del dispositivo y la presentación del estro y, cada 4 horas durante la receptividad sexual) por vía yugular con tubos con heparina como anticoagulante, para medir progesterona y estradiol (n=10 de cada grupo). Para evaluar la eficacia del tratamiento se utilizaron dos machos enteros provistos de mandil para el recelo, por al menos 15 minutos, cada 6 horas. Se determinó la concentración plasmática de estradiol y progesterona mediante el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés). En las variables promedio de estradiol (TCC=9.63 y TCG=6.95 ng/ml; p=0.48) y promedio de progesterona (TCC=2.18 y TCG=2.49 ng/ml; p=0.69), inicio (TCC=60.10 y TCG=61.89 hrs) y duración de celo (TCC=30.80 y 30.67 hrs) (p=0.65 y p=0.98, respectivamente), no existieron diferencias entre los grupos (p < 0.05). Concluyendo que el uso de glicerol no genera cambios entre los grupos, en las concentraciones plasmáticas de estradiol y progesterona, ni en la respuesta a la sincronización.



Introducción

EN MÉXICO EXISTEN DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE OVINOS: intensivo, semi intensivo (mixto) y extensivo (Nuncio-Ochoa *et al.*, 2001). El 90 a 95% de la ovinocultura nacional se desarrolla bajo el sistema extensivo; los ovinos se mantienen en encierro nocturno y salen a pastorear durante el día. Se basa fundamentalmente en el aprovechamiento de los pastos naturales y en algunas ocasiones son utilizadas praderas cultivadas (Romero Martínez, 2012). Con este tipo de sistema, los índices reproductivos se ven afectados por la falta de técnicas para manipular el ciclo estral, más el uso del empadre continuo, esto provoca una dispersión de nacimientos y una productividad baja, obteniendo sólo el 40% de su capacidad de producción y una prolificidad de 1.4 por oveja en un periodo de 12 meses (Espinosa-Márquez *et al.*, 2004). Por esto, el uso de biotecnologías para el control reproductivo es uno de los aspectos más importantes en cualquier sistema de producción (Rojo-Martínez y Salas-Razo, 2015).

Los ovinos Pelibuey son una de las principales razas que existen en México ya que presenta adaptabilidad a diferentes climas y regiones, lo que ha favorecido su distribución en el territorio nacional (Wildeus, 1997). Dentro de las características reproductivas presenta una alta fertilidad (80%) y una prolificidad de 1.2-1.5 (Galina *et al.*, 1996).

La inseminación artificial (IA) es una tecnología que aumenta la mejora genética, permite un mejor control de la reproducción y contribuye a la salud animal, controlando enfermedades infecciosas de transmisión sexual o venéreas (Menchaca y Rubianes, 2004). Cuando se aplica un programa de IA a un rebaño de un número mayor a 50 individuos, se requiere tiempo y mano de obra para realizar la detección del estro una o dos veces al día. Para facilitar este trabajo, se han implementado protocolos de IA a tiempo fijo (IATF) que es una alternativa con el fin de evitar la

detección de estros. Esta técnica tiene como base el uso de tratamientos hormonales que permiten cierta sincronización del estro y, por consiguiente la ovulación (se ha demostrado que la ovulación ocurre en promedio a las 60 horas después de finalizado el tratamiento) (Rubianes y Menchaca, 2003); con esto, se busca que se obtengan porcentajes de fertilidad en el rebaño igual o superiores a la monta natural (Menchaca y Rubianes, 2004; Martemucci y D'Alessandro, 2011). Estos tratamientos están enfocados al manejo del ciclo estral dentro de la época reproductiva, ya sea inhibiendo o retrasando la ovulación con progestágenos o induciendo la luteólisis con prostaglandinas sintéticas para reiniciar el ciclo estral (Wildeus, 2000; Menchaca *et al.*, 2004; Martemucci y D'Alessandro, 2011).

Los protocolos de sincronización del estro más utilizados en los programas o protocolos de IATF, consisten en tratamientos con dispositivos intravaginales de progesterona (P4) o progestágenos como acetato de fluorogestona (FGA, por sus siglas en inglés) (Evans y Maxwell, 1990; Gordon, 1997; Martemucci y D'Alessandro, 1999)

Los progestágenos forman parte de los tratamientos que se utilizan de manera tradicional, se administran durante periodos prolongados similares a la vida media del cuerpo lúteo (CL), entre 12-14 días (Corteel *et al.*, 1988). Estos tratamientos de larga duración sincronizan eficientemente el ciclo estral, pero los animales presentan una fertilidad variable como consecuencia de una administración prolongada; este hecho puede inducir que las concentraciones del progestágeno o P4 sean sublúteas al final del tratamiento, provocando persistencia folicular (Flynn *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2001). Además, se sabe que las oleadas foliculares emergen cada 5-7 días, por lo tanto, no se justifica el uso del progestágeno durante un tiempo prolongado (Menchaca *et al.*, 2004).

Como alternativa a este problema surgieron los tratamientos de corta duración con progestágenos, con una duración que va de 5 a 6 días. (Menchaca *et al.*, 2004). Con este tipo de tratamiento durante la época reproductiva, más el uso de monta natural, se ha presentado un alto porcentaje de fertilidad (87%) que es superior, en comparación con protocolos de larga duración (63%) (Viñoles *et al.*, 1999). Una

condicionante es el uso de prostaglandina (PGF2 α) al final del tratamiento, ya que la duración del tratamiento corto es menor a la vida del CL y este podría inhibir la ovulación después de retirado el dispositivo intravaginal (Beck *et al.*, 1993). Se ha demostrado que esta hormona actúa sobre el CL desde el día 3 post ovulación (Rubianes *et al.*, 2003). La eficiencia en la sincronización del estro en un protocolo de 5 días está dada por el hecho que el progestágeno impide la ovulación mientras que la PGF2 α asegura la luteólisis (Gordon, 1997; Martemucci y D'Alessandro, 1999; Wildeus, 2000).

Por otro lado, y con el fin de incrementar la tasa ovulatoria y la fertilidad, en protocolos de IATF se utilizan sustancias exógenas que promuevan el desarrollo folicular. Entre ellas, la gonadotropina coriónica equina (eCG), la que se ha utilizado en contextos experimentales y comerciales gracias a su bajo costo y que cuando se administra en especies no equinas tiene un efecto similar a la hormona folículo estimulante (FSH) (Martemucci y D'Alessandro, 2011; Murphy, 2012). Aunque es la hormona utilizada con mayor frecuencia por estas características, también presenta efectos negativos que provocan una respuesta variable sobre la tasa de fertilidad (Corteel *et al.*, 1988; Drion *et al.*, 2001; Menchaca y Rubianes, 2004). Viñoles *et al.*, (2001) asocian el uso de eCG con el desarrollo de quistes foliculares, por la vida media de la hormona que llega a ser de hasta 84 horas en el ovino (Martinuk *et al.*, 1991). También se ha descrito que se presenta una respuesta inmune tipo IgG, disminuyendo su efecto en tratamientos subsecuentes. En vista de estos efectos negativos y los resultados variables obtenidos con eCG, Menchaca (2004) propone el uso de hormonas alternativas para mejorar los resultados generales en los programas de IATF.

Respecto a esta propuesta, se han estudiado alternativas para promover el desarrollo folicular utilizando una *sobrealimentación* conocida comúnmente como *flushing*. Esta técnica se basa en un aumento en la alimentación que incrementa la tasa de ovulación y la prolificidad. (Muñoz-Gutierrez *et al.*, 2004; Viñoles *et al.*, 2005; Gutierrez *et al.*, 2011). Se han reconocido tres efectos de la nutrición con el uso de sobrealimentación en la tasa de ovulación: 1) efecto estático, 2) efecto

dinámico y 3) efecto agudo (Scaramuzzi *et al.*, 2006; Somchit *et al.*, 2007). Para el uso de “sobrealimentación” ultracorta o inmediata, se utiliza glicerol o propilenglicol como sustratos altamente gluconeogénicos (Gutierrez *et al.*, 2011), convirtiéndose dentro del rumen en ácido propiónico y reduciendo el ácido butírico (Ferraro *et al.*, 2016). Con esto, un protocolo de sincronización de corta duración más la IATF en combinación al uso de glicerol como sobrealimentación ultracorta se convierte en una alternativa como biotecnología reproductiva orientada a mejorar la respuesta ovárica en la oveja Pelibuey; ya que el uso de herramientas limpias, verdes y éticas significa realizar prácticas que minimicen o eviten por completo tratamientos químicos y hormonales en el manejo de animales, incrementando la productividad de estos (Martin *et al.*, 2004). Mediante la adquisición de conocimiento preciso del momento de la ovulación, podemos proporcionar suplementos nutricionales, si estos periodos nutricionales se centran con respecto a la composición y duración, pueden ser rentables, con el beneficio de evitar tratamientos hormonales exógenos.

Revisión de Literatura

El ovino: situación en México

México cuenta con un inventario nacional de 8,725,882 ovinos; los estados con mayor producción son el Estado de México e Hidalgo (SAGARPA, 2020); representando el 14.6% y el 12% de producción nacional respectivamente (*Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera | Gobierno | Gob.Mx, n.d.*).

La producción ovina ha ido en aumento continuo a través de los años, se distinguen las razas de ovinos con cobertura de lana y cobertura de pelo; estas últimas ocupan un 25% del inventario de ganado ovino nacional (Cuellar Ordaz *et al.*, 2012) y se ha visto un crecimiento aproximado del 10% en producción en pie como en producción de canales entre los años 2010 y 2016 (FIG 1) (*Resumen Nacional, n.d.*). El principal producto son corderos para abasto y pie de cría, para su consumo en carne, resaltando el platillo “barbacoa” como consumo preferente de la población mexicana (*Ovinos | Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal, n.d.*). El precio de la carne alcanzó 31.92 pesos por kg, con un peso vivo promedio final de 39 kg (*Resumen Nacional, n.d.*).

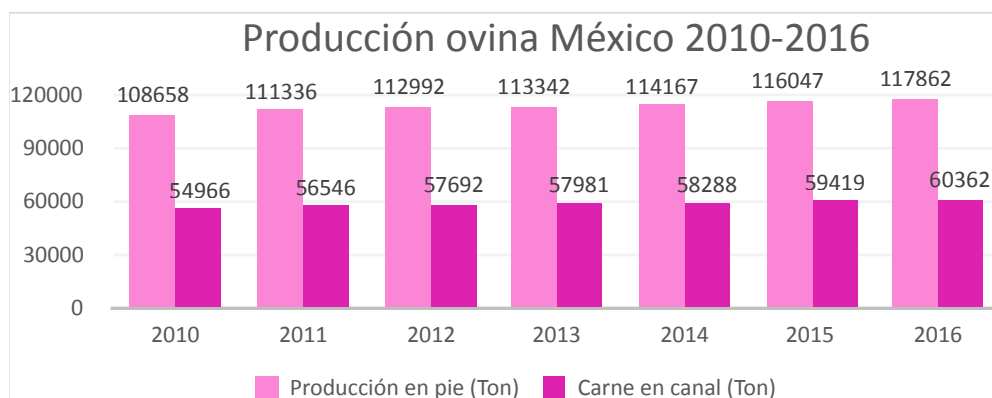


FIG 1. Producción ovina en México (SIAP, 2019).

Ovino como modelo de estudio

El ovino Pelibuey es una de las razas más utilizadas en México ya que presenta una adaptabilidad a diferentes climas y regiones, esto favorece su distribución en la mayoría del territorio nacional, principalmente en regiones tropicales, subtropicales e incluso áridas (Wildeus, 1997). El peso adulto en los machos es de aproximadamente 50 kg y en las hembras de entre 30 y 40 kg; el color que presentan puede ser sólido o moteado, siendo el café y blanco los más comunes, puede o no haber presencia de fibra de lana. Esta raza no presenta cuernos.-(Berruecos *et al.*, 1975).

En el aspecto reproductivo, las hembras de esta raza alcanzan la pubertad entre los 230 y 239 días de edad, alcanzando un peso entre 25 y 29 kg (Roldán-Roldán *et al.*, 2016). Se ha descrito que la oveja Pelibuey presente una estacionalidad reproductiva menor a aquellas ovejas que se originaron en latitudes mayores a 35°, incluso se han detectado individuos de la misma raza que muestran actividad reproductiva continua (Arroyo *et al.*, 2007).

Actualmente, la oveja Pelibuey es una de las razas más utilizadas por los investigadores para estudiar características productivas en condiciones de pastoreo y estabulación, gracias a su capacidad reproductiva a lo largo del año, así como su resistencia a parásitos gastroentéricos (Aguilar-Martínez *et al.*, 2017).

Ciclo estral

El ciclo estral comprende una serie de eventos ováricos, endocrinos y conductuales recurrentes o cíclicos que tienen la finalidad que ocurra la ovulación, el apareamiento y la gestación (Gordon, 2004; Galina y Valencia, 2008).

Los ovinos son clasificados como reproductores estacionales de días cortos (poliéstricos estacionales) debido a que su época reproductiva se inicia al final del verano y principios del otoño, cuando las horas luz disminuyen, y continúa hasta el

comienzo de la primavera (Gordon, 2004; Ledezma y Gallegos-Sánchez, 2006). Existen otros factores de variación de la época sexual como la edad, la raza, el clima, la alimentación, la lactancia y el estrés (Romero y Gallegos Sánchez, 2014). Durante la época reproductiva, la oveja presenta ciclos de 16 a 17 días y, de acuerdo con las características endocrinas y conductuales que manifiestan los animales el ciclo estral puede ser dividido en: proestro, estro, metaestro y diestro; pero comúnmente el ciclo estral se divide en dos fases: la fase folicular y la fase lútea, la transición entre estas fases es marcada por la ovulación (Gordon, 2004; Bartlewski *et al.*, 2011). La fase folicular dura entre 2 a 3 días y se caracteriza por la presentación del comportamiento sexual de estro y por el crecimiento y desarrollo acelerado de los folículos del ovario; la fase lútea tiene una duración de 14 a 15 días y se caracteriza por la secreción de P4 por parte del CL (Gordon, 2004; Caballero-Chacón y Villa-Godoy, 2010). El proestro inicia con la regresión del CL del ciclo anterior y la disminución de las concentraciones de P4, paralelamente ocurre un incremento en la producción de estradiol (E2) e inhibina secretados por los folículos en desarrollo, el final de esta etapa coincide con el inicio de la receptividad sexual, en el ovino tiene una duración aproximada de 2 días. El estro es la etapa donde la hembra muestra signos de receptividad sexual, los folículos en desarrollo alcanzan la madurez y se encuentran las máximas concentraciones de E2; así mismo, se da la ovulación de manera espontánea, esta etapa tiene una duración promedio de 36 horas (entre 24 hasta 48 horas). El metaestro inicia cuando ha terminado la receptividad sexual y concluye cuando hay un CL totalmente funcional, corresponde al periodo transitorio entre la predominancia estrogénica y el incremento en las concentraciones de P4, durante esta etapa el ovario contiene al cuerpo hemorrágico (CH) que se transforma en CL, esta etapa tiene una duración de 2 días. Finalmente, el diestro es la etapa más larga del ciclo, dura alrededor de 12 días, abarca desde que el CL es una estructura plenamente funcional, hasta que ocurre su destrucción (luteólisis) (Caballero-Chacón y Villa-Godoy, 2010).

Como se mencionó previamente, en especies estacionales se limita una época reproductiva de modo tal que los partos ocurran en la mejor época del año por la

presencia de abundante alimento que es aprovechada por la madre y la cría; el anestro se considera como un periodo de inactividad reproductiva, a lo largo de esta etapa no hay cambios conductuales, ni morfológicos característicos en las hembras (Caballero-Chacón y Villa-Godoy, 2010).

Endocrinología del ciclo estral

El sistema endocrino y el sistema nervioso funcionan para iniciar, coordinar o regular las funciones del sistema reproductor. Las hormonas reproductivas se derivan primordialmente de éstos sistemas: hipotálamo, hipófisis, gónadas (ovarios), el útero y la placenta (Hafez y Hafez, 2002). Regulados principalmente a través del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, estos eventos reproductivos se controlan mediante la liberación de la hormona foliculoestimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) -bajo el control de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)- (Norris y Carr, 2013).

Hipotálamo

Ubicado en la región del tercer ventrículo, que se extiende desde el quiasma óptico hasta los cuerpos mamilares (Hafez y Hafez, 2002); recibe información de todos los órganos de los sentidos y regula funciones vitales como hambre, sed, sueño; y entre estas funciones se encuentra la reproducción (Rangel y Hernández, 2018). La GnRH es un decapeptido producido en el hipotálamo por las neuronas ubicadas en el área preóptica y ventromedial y, es secretado a través del sistema porta hipofisiario hacia la hipófisis donde se encuentran los receptores para GnRH (Bentov y Werner, 2013; Rangel y Hernández, 2018). Durante el desarrollo perinatal el sistema neurosecretor de GnRH sufre una serie de cambios que se traducen en patrones diferentes de secreción de la misma hormona: uno es en forma intermitente, conocido también

como centro tónico y, el encargado de emitir pulsos masivos conocido como centro cíclico (Caballero-Chacón y Villa-Godoy, 2010).

Como último detalle, en el hipotálamo existen neuronas que producen kisspeptina, el cual es un neuropéptido capaz de estimular a las neuronas productoras de GnRH, cada pulso de kisspeptina es seguido por un pulso de secreción de GnRH, las neuronas kisspeptinérgicas presentan receptores para P4, estrógenos, melatonina, leptina, feromonas, entre otras sustancias (Rangel y Hernández, 2018).

Hipófisis

Se localiza en la silla turca, una depresión en la base del cerebro. La glándula se divide en tres partes anatómicas: lóbulo anterior (adenohipófisis), intermedio y posterior (neurohipófisis) (Hafez y Hafez, 2002; Caballero-Chacón y Villa-Godoy, 2010). Se han identificado cinco tipos de células secretoras en la adenohipófisis: somatotropos: hormona del crecimiento; lactotropos (mamotropas): prolactina; corticotropos: hormona adrenocorticotrópica; tiotropos: hormona estimulante de la tiroides, por último se encuentran los gonadotropos éstos sintetizan y liberan hormonas estimulante de los folículos y luteinizante (Barret *et al.*, 2012). Debido al efecto promovido por la GnRH, en la hipófisis se lleva a cabo la biosíntesis y secreción de las gonadotropinas LH y FSH (Bentov y Werner, 2013). Estas hormonas son glicoproteínas, las cuales tienen influencia estimulando el desarrollo folicular. La FSH es la encargada del reclutamiento y desarrollo folicular, a diferencia de la LH que es dependiente de GnRH, la FSH tiene un patrón de secreción constitutivo (Senger, 2003). La LH tiene la función de provocar la ovulación y estimular la formación del CL para producir P4 (Senger, 2003). Cada pulso de GnRH estimula un pulso de LH; la frecuencia de pulsos durante la fase folicular va en aumento provocando el pico preovulatorio de LH, mientras que la frecuencia más baja se encuentra durante la fase lútea del ciclo estral (Gordon,

2004). Una vez ocurrido el pico preovulatorio, la ovulación se presenta 23 a 24 horas después (Cumming *et al.*, 1973).

Ovario

Los ovarios de los mamíferos tienen dos funciones importantes, la producción cíclica de ovocitos fértiles y la producción de esteroides que mantienen la reproducción y otras funciones fisiológicas.

Foliculogénesis

La ovogénesis es el proceso por el cual las células germinales de la hembra forman ovocitos, este se lleva a cabo dentro de los folículos ováricos, los cuales también sufren un desarrollo y diferenciación llamado *foliculogénesis* (Rangel y Hernández, 2018).

El proceso que conduce a la formación de folículos tiene lugar durante la vida fetal, en las ovejas comienza poco después de la diferenciación sexual - 35 días después de la concepción- (Scaramuzzi *et al.*, 2011); la proliferación de las células germinales ováricas ocurre a través de la mitosis y después por meiosis, deteniéndose en la etapa de diploteno de la profase I (Gordon, 2004; Bartlewski *et al.*, 2011; Rangel y Hernández, 2018). Durante la primera profase meiótica el ADN se replica completamente (4N) y luego el ovocito entra en una fase de detención nuclear. Los ovocitos permanecen detenidos hasta que se reanuda el desarrollo en la pubertad, bajo la influencia del pico preovulatorio de LH eliminándose con esto los inhibidores meióticos. (Senger, 2003). En esta etapa al folículo se le denomina “primordial” y se encuentra rodeado de una capa de células escamosas planas. Una cordera contiene entre 40,000 a 300,000 folículos primordiales antes del nacimiento (Bartlewski *et al.*, 2001). Los folículos continúan su desarrollo por la activación de factores paracrinos (factores de crecimiento: BMP15 y GDF9) (Scaramuzzi *et al.*, 2011), hasta convertirse en folículos “primarios”, compuestos por una sola capa de células

cuboides de la granulosa que rodean al ovocito; cuando aumenta a 2 o 3 el número de capas de células de la misma naturaleza y, el ovocito es rodeado por la zona pelúcida, se le llama folículo “secundario”. Las células de la “teca” comenzarán a diferenciarse, mientras que las de la granulosa se acomodarán a la periferia, formando una cavidad que se llenará de líquido, permitiendo la formación del folículo “antral” (también llamado terciario o maduro); durante esta etapa los folículos serán responsivos a las hormonas gonadotrópicas. Finalmente estos folículos pasarán a la etapa “preovulatoria” en la cual la meiosis continua hasta la metafase II (Bartlewski *et al.*, 2001). Posterior a la ovulación (meiosis I) y después de la fertilización, una pequeña porción del citoplasma de los ovocitos es eliminada por exocitosis, la cual contiene la mitad del material genético femenino, a estos residuos se les conoce como cuerpo polares (Senger, 2003).

Conforme el folículo se va desarrollando, las células de la granulosa presentan receptores para FSH; a partir de la etapa pre-antral serán responsivas a las gonadotropinas (FSH) y, cuando estén en etapa antral-larga, tendrán receptores las células de la granulosa y serán responsivas a LH (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Se sabe que durante el ciclo estral generalmente hay 3 o 4 oleadas foliculares a las cuales les precede un incremento en las concentraciones de FSH, de igual forma la aparición de estas oleadas se asocia con el incremento transitorio de E2 y, en la fase final de crecimiento de estos folículos, coincide con las concentraciones séricas máximas de E2 que permiten la formación del pico preovulatorio de LH y por consecuencia, la ovulación (Bartlewski *et al.*, 2001), ver cuadro 1.

	Raza de la borrega	
	Finish Landrace	Scottish Blackface
Max. concentraciones (pg/ mL)	3.9 ± 0.5 (10)	3.4 ± 0.5 (9)
Max. concentraciones durante fase lútea (pg/ mL)	2.7 ± 0.3 (22)	3.0 ± 0.8 (7)
Min. concentraciones durante fase lútea (pg/ mL)	0.9 ± 0.1 (28)	0.8 ± 0.2 (7)

Cuadro 1. Concentraciones de estradiol-17 β (media \pm s.e.m.), de muestras diarias (no. de animales entre paréntesis), durante el ciclo estral en dos razas de borregas.

Adaptado de Scaramuzzi y Land, 1978.

Formación del cuerpo lúteo

Una vez que se da el desarrollo folicular y ocurre la ovulación, el remanente del folículo se transforma en un CL, el cual produce principalmente P4, hormona esencial para la gestación, la embriogénesis y la inmunomodulación en mamíferos (Hughes, 2012; Micks *et al.*, 2015). Los CL se pueden detectar en ovinos a partir del día 3 post ovulación por vía ultrasonográfica y por la medición de concentraciones plasmáticas de progesterona ≥ 1 ng/ mL (Bartlewski *et al.*, 1999). Las concentraciones sublúteas están relacionadas con retraso del desarrollo embrionario y con falla en la implantación (Mann y Lamming, 1999), además puede ser causa de baja fertilidad (Roth *et al.*, 2000).

Así mismo se sabe que el CL se encuentra protegido contra la acción de la prostaglandina durante tres días después de la ovulación, gracias a la acción de 15-hidroxi prostaglandina deshidrogenasa (PGDH) en el CL, previniendo la acción de

PGF2 α ya que se puede sintetizar en distintos tejidos. Esto hace que la administración de prostaglandina sea eficiente al final de un tratamiento con una duración de cinco a seis días, promoviendo la luteólisis y después desencadenando el evento de la ovulación.

La hormona LH es esencial para el crecimiento inicial y la diferenciación celular; se distinguen principalmente dos tipos de células: las células luteales pequeñas (derivan de las células de la teca) y células lúteas grandes (derivan de las células de la granulosa) (Bartlewski *et al.*, 2011). Las concentraciones máximas circulantes de P4 se dan alrededor del día 8. Solo hay un incremento marginal en las concentraciones de P4 cuando hay dos cuerpos lúteos, por lo tanto, la detección de doble ovulación por medio de la concentración de este esteroide no es posible (Gordon, 2004). La PGF2 α es secretada por las glándulas endometriales uterinas es el factor luteolítico en los rumiantes (Bartlewski *et al.*, 2011). A partir del día 12-13 del ciclo comienza una serie de pulsos de PGF2 α , los cuales aumentan en frecuencia para alcanzar un pico en el día 14 del ciclo (Gordon, 2004). Hacia el final de la fase lútea, el E2 folicular aumenta la secreción de la PGF2 α y promueve la formación de receptores endometriales para la oxitocina (OTR). La falta de OTR impide los pulsos luteolíticos de PGF2 α inducidos por oxitocina (Ruiz-González *et al.*, 2012), por lo tanto, juega un papel importante en el mecanismo que controla la secreción de PGF2 α en las ovejas (Bartlewski *et al.*, 2011)

La luteólisis inducida por PGF2 α parece tener tres mecanismos de acción: 1) autoinducción de la síntesis de PGF2 α por el CL; 2) reducción de la esteroidogénesis; y 3) reducción del flujo sanguíneo al CL (Hansen *et al.*, 2016). Se cree que el CL de las ovejas contiene receptores de PGF2 α de alta y baja afinidad; la activación de los receptores de alta afinidad libera selectivamente oxitocina sin ningún efecto sobre la secreción de P4, mientras que la activación del receptor de baja afinidad aumenta la secreción de oxitocina lútea y disminuye la secreción de P4 lútea. Se cree que la liberación inicial de PG ocurre en respuesta a concentraciones aumentadas de P4 (durante 7-10 días) y la liberación posterior se asocia con la disminución de la P4

y el aumento de las concentraciones de E2 (Flint y Sheldrick, 1983). Davis *et al.* (2010) demostraron que la progesterona inhibe la señalización de la oxitocina y de la PGF2 α en las células lúteas grandes y chicas.

Hasta la fecha, se han propuesto numerosos mecanismos y mediadores locales de la regresión lútea, incluidos los efectos directos de PG en las células lúteas y los efectos indirectos mediados por EDN1, óxido nítrico, TNF y enzimas degradantes de la matriz. Sin embargo, ninguno de los mecanismos anteriores explica satisfactoriamente los diferentes aspectos de la refractariedad de CL temprana a PG o los efectos luteolíticos de PG (Mondal *et al.*, 2011)

Esteroidogénesis

Los esteroides gonadales, son secretados como resultado de la acción de las hormonas gonadotrópicas en células de los ovarios y testículos. La esteroidogénesis en el ovario se lleva a cabo a través de un complejo enzimático dividido en dos grupos, primero las reguladas por el gen CYP para producir las enzimas como citocromo P450s que tienen un efecto unilateral o irreversible y, otro grupo que presentan un mecanismo reversible o bilateral son las hidroxisteroides deshidrogenasas (HSDs). Aunque estas enzimas son típicamente bidireccionales *in vitro*, fisiológicamente tienden a funcionar en una sola dirección *in vivo*, con la dirección determinada por los cofactores intracelulares disponibles. Estos procesos se llevan a cabo en las células de la granulosa y la teca, en general, se inician en las células de la granulosa bajo la influencia de LH, la cual estimula la expresión de P450scs; la pregnenolona y P4 de las células de la granulosa, a través de difusión, llegan a las células de la teca donde son convertidas en androstenediona por P450c17 y 3 β HSD2. Pequeñas cantidades de esta androstenediona son secretadas o convertidas a testosterona, pero la mayoría de androstenediona regresa a las células de la granulosa donde es convertida en estrona y luego en E2 por la P450aro y 17 β HSD1, bajo la influencia de FSH (Bremer y Miller, 2014), ver figura 2.

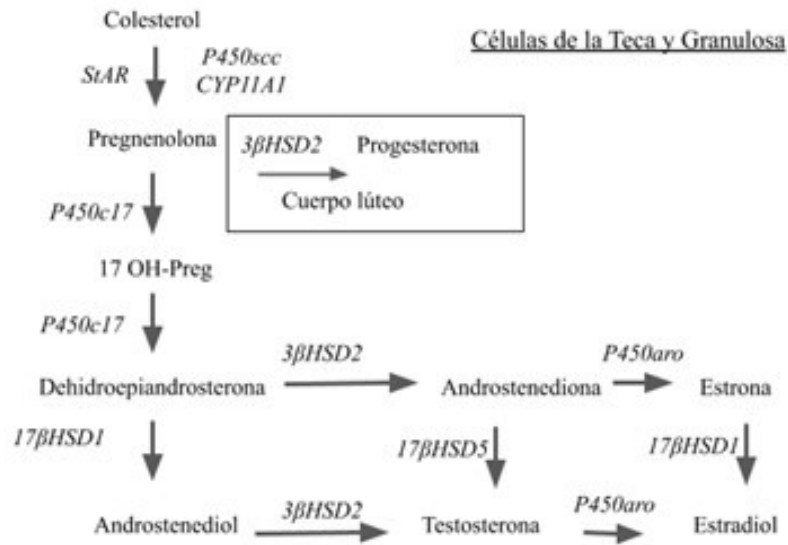


FIG. 2. Esteroidogénesis en el folículo ovárico. Adaptado de Bremer y Miller (2014)

Tecnologías limpias y verdes

En respuesta a los cambios en la sociedad y por lo tanto en el mercado, las industrias animales necesitan hacerse “limpias, verdes y éticas” (LVE), para ser limpias se necesita minimizar el uso de drogas, químicos y hormonas exógenas; para ser verdes se debe minimizar su impacto en el medio ambiente y, para ser éticas se necesitan evitar las prácticas que comprometen el bienestar animal.

La productividad y la rentabilidad de la industria dependen del rendimiento reproductivo (Martin, 2009), para esto se puede maximizar la tasa de ovulación. En pequeños rumiantes el límite superior de prolificidad se determina genéticamente y puede mejorarse mediante selección, pero la expresión de ese potencial genético está influenciado por la nutrición previa al empadre (Viñoles *et al.*, 2005; Scaramuzzi y Martin, 2008; Viñoles *et al.*, 2009). Se han utilizado diversos sustratos altamente energéticos y proteicos para que tengan un efecto positivo en la

foliculogénesis tales como: grano de maíz (Guo *et al.*, 2019), harina de soya (Viñoles *et al.*, 2005), grano de lupino (Somchit *et al.*, 2007; Viñoles *et al.*, 2014), leguminosas (*Lotus corniculatus*) (Viñoles *et al.*, 2009) e incluso glicerol (Gutierrez *et al.*, 2011; Ferraro *et al.*, 2016).

Sobrealimentación (flushing)

Actualmente se sabe que la alimentación juega un papel importante en el desarrollo folicular. Los alimentos son sustancias que, tras ser ingeridas por los animales, pueden ser digeridas, absorbidas y utilizadas (Edwards y Morgan, 1999); por otro lado, la nutrición engloba los fenómenos interrelacionados mediante los cuales un organismo vivo asimila alimento y lo utiliza para crecer, reparar y mantener tejidos. Un nutriente es cualquier elemento o compuesto químico de la dieta que sostiene distintos procesos como: la reproducción, el crecimiento, la lactancia o el mantenimiento de los procesos vitales. Las 6 clases de nutrientes que existen son: agua, proteínas y aminoácidos, carbohidratos, lípidos, vitaminas y elementos inorgánicos (Church *et al.*, 2002).

A nivel hipotalámico, se está registrando la energía que proporcionan las grasas, los carbohidratos y los aminoácidos (Church *et al.*, 2002). Dependiendo de las condiciones, se puede provocar hipoglucemia y un balance energético negativo inhibiendo así la pulsatilidad de LH en ovinos (Scaramuzzi *et al.*, 2011), como resultado se disminuyen las ovulaciones, por otro lado se ha descrito que un incremento en la energía de la dieta alimenticia en las ovejas previo al empadre tiene un efecto positivo en la tasa de ovulación, esta práctica se le conoce con el nombre de sobrealimentación (Scaramuzzi *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2019).

Se han reconocido tres efectos de la nutrición con el uso de sobrealimentación sobre la tasa de ovulación: 1) efecto estático, 2) efecto dinámico y 3) efecto agudo (Somchit *et al.*, 2007; Gutierrez *et al.*, 2011). El efecto “agudo” se observa en ausencia de un cambio detectable en el peso corporal, el efecto “dinámico” se asocia

con individuos que presentan una ganancia de peso corporal y de reservas energéticas, en ambos efectos hay un aumento en la tasa de ovulación y, el efecto “estático” que se asocia con individuos que presentan por mucho tiempo, y de manera constante, sus reservas energéticas (peso) (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

Para tener los distintos efectos de este tratamiento, existen distintos protocolos con variación en la duración en las que se ofrece la sobrealimentación, estos van desde los 4 días hasta los dos meses (Viñoles, 2003; R. J. Scaramuzzi *et al.*, 2006). Además de estos protocolos en la sobrealimentación se propone una variante que de ultracorta duración. Esta se basa en la sobrealimentación del animal al momento del retiro del dispositivo intravaginal con un sustrato altamente energético como lo es el glicerol (Gutierrez *et al.*, 2011; Escorcia Ortiz, 2016).

Se ha propuesto que estos tratamientos de suplementación tienen efectos sobre la foliculogénesis y está mediado a través de los mediadores donde encontramos a: leptina, glucosa, insulina, hormona del crecimiento (GH), las somatomedinas como el factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (IGF-1) y las proteínas de unión al factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 1 (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Insulina

La insulina es una hormona pancreática que regula las concentraciones de glucosa circulante, así como de lípidos y tiene una estrecha relación a nivel de sistema nervioso central para controlar la ingesta de comida y el mantenimiento del peso corporal a largo plazo. La mayoría de sus efectos son anabólicos pero las acciones centrales de la insulina son catabólicas; estos efectos centrales están mediados a través del núcleo arcuato del hipotálamo (donde se da la modulación en la ingesta de alimentos).

La insulina es sintetizada por las células- β de los islotes de Langerhans en la parte endócrina del páncreas. El rol primario de la insulina es controlar las concentraciones de glucosa: posterior al consumo de alimentos, es internalizado de la circulación por difusión facilitada a las células. Gracias a la liberación de insulina los transportadores

(GLUT-2 en hígado y GLUT-4 en músculo y adipocitos) estimulan la entrada de la glucosa a la célula con la consecuente glicólisis dentro de las células, incrementando la relación ATP:ADP. La vida media de la insulina es de 2 a 3 minutos y su principal acción es en el hígado, tejido adiposo y músculo esquelético, aunque los receptores para insulina (IR) se encuentren en muchos tejidos incluyendo a SNC. La unión de la insulina con su receptor inicia la fosforilación que desencadena dos cascadas de señalización: la vía del fosfatidilinositol 3-OH cinasa (PI3K) y la vía de proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) (Bentov y Werner, 2013).

La insulina tiene efectos específicos sobre la función de las células de la granulosa y de la teca, el transportador GLUT tipo 4 está presente en las células de la granulosa y teca de los folículos de las ovejas; la implicación es que los cambios en la captación de la glucosa mediada por insulina, dentro del ovario, modulan la función folicular (Somchit *et al.*, 2007). De igual forma se han identificado en el folículo, el sustrato de proteínas del receptor de insulina y las quinasas Akt/PI3K (fosfatidilinositol 3 kinasa), ERK (quinasa regulada extracelularmente) y la fosfatasa PTEN (tensina) las cuales son mediadores de maduración y proliferación. La vía de la PI3K es estimulada fisiológicamente como consecuencia de la activación de receptores de membrana tirosina kinasa, los cuales autofosforilan y fosforilan el sustrato del receptor de insulina (IRS) (Pinzon *et al.* 2009). Así mismo, se ha descrito que en las células de la teca, células de la granulosa y ovocitos y, en el ovario, el AMPK puede regular las influencias metabólicas sobre la foliculogénesis y la maduración de los ovocitos (Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Leptina

La leptina es un polipéptido secretado principalmente por el tejido adiposo blanco. El receptor de leptina Ob-R tiene diferentes isoformas resultando de la alternancia del gen que la codifica (gen *db*), sólo la isoforma larga (Ob-Rb) puede activar los transductores de las vías de transcripción (STAT); mientras que Ob-Rb

y Ob-Ra (isoforma corta) pueden transducir señales a través del sustrato de receptor a insulina (ISR) y MAPK. La leptina no sólo regula la ingesta de alimentos y el gasto energético, también participa en la regulación del eje hipotalámico-hipofisiario, la angiogénesis, el sistema inmunológico y la respuesta inflamatoria, la proliferación y apoptosis celular y la absorción de nutrientes (Bentov y Werner, 2013).

En rumiantes, la leptina y su ARNm se han detectado en las células de la teca y el ovocito. Sus acciones han sido estudiadas *in vitro* y los datos sugieren que la leptina inhibe la producción de E2 por las células de la granulosa y por el folículo *in vivo* (Scaramuzzi *et al.*, 2011). El aumento de la ingesta de alimentos estimula la secreción GnRH y LH, y aumenta de forma concomitante la leptina circulante. El eje neuroendocrino reproductivo puede detectar un aumento agudo en el estado nutricional; por el contrario una caída en leptina circulante en respuesta al ayuno en ovejas se asocia con una disminución en la frecuencia del pulso de LH, lo que indica que el eje neuroendocrino reproductivo también puede detectar disminuciones agudas en el estado nutricional, quizás mediadas por leptina (Adam *et al.*, 2003).

Hormona del crecimiento (GH)

El eje somatotrópico está integrado por el hipotálamo, la adenohipófisis, el hígado y el estómago; las principales hormonas reguladoras son la somatotropina u hormona del crecimiento (GH) y el factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-1 o somatomedina C).

La GH es sintetizada, almacenada en gránulos secretorios y liberada de manera pulsátil por los somatotropos. Es un polipéptido de una sola cadena de 191 aminoácidos y, por su naturaleza, es especie específica. Los principales reguladores de origen hipotalámico son la hormona liberadora de somatotropina (GHRH) y la somatostatina (SS) y, a nivel estomacal, la ghrelina (Caballero-Chacón y Villa-Godoy, 2010).

Algunas funciones de la hormona son diabetógenas porque incrementan la producción de glucosa en el hígado y generan un efecto antiinsulínico en los músculos; también es cetogénica e incrementa las concentraciones circulantes de ácidos grasos libres y al aumentar dichas concentraciones, se obtiene una fuente fácil de energía para los tejidos durante la hipoglucemia, ayuno y estímulos estresantes. Hay que mencionar que en sí misma, la GH no estimula directamente las células β del páncreas, pero intensifica la propiedad de la glándula para reaccionar a estímulos insulinogénicos, como la arginina y la glucosa, esto constituye un mecanismo adicional por el cual la hormona activa el crecimiento, porque la insulina posee un efecto anabólico proteico (Barret *et al.*, 2012).

Factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-1)

Las principales somatomedinas circulantes son el factor de crecimiento IGF-I y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo II (IGF-II) (Barret *et al.*, 2012). El IGF-1 es un factor pleiotrópico de crecimiento con múltiples roles en varios aspectos de crecimiento y diferenciación de tipo normal o patológico; su acción es mediada por el receptor de IGF-1 (IGF1R) y su efecto es modulado por la familia de las proteínas de unión (IGFBPs) (Bentov y Werner, 2013). El receptor de IGF-I es muy semejante al de la insulina y es probable que utilice vías similares o idénticas de señales intracelulares. Las acciones directas del IGF-I por su actividad similar a la insulina tiene actividad anti lipolítica, síntesis de proteínas y crecimiento epifisario (Barret *et al.*, 2012).

Glicerol

De forma natural el glicerol se encuentra en las hojas de los vegetales, éste es fermentados en el rumen produciendo principalmente ácido propiónico. La celulosa formada por cadenas lineales de glucosa es hidrolizada por una enzima extracelular

producida por las bacterias celulolíticas, glucosidasa beta 1-4, que cataliza la formación de cadenas lineales de anhidroglucosa, polisacáridos glucogénicos y por último celobiosa. La celobiosa es convertida en glucosa o en glucosa-1-P por acción de un mecanismo fosforolítico. La fermentación de la glucosa o sus fosfatos hasta llegar a la formación de compuestos con 3 carbonos se realiza a través de la vía glicolítica de Embden-Meyerhoff (Zavaleta, 1976).

Otra forma de obtener glicerol es a través de la industria del biodiesel, éste se produce a partir de la hidrólisis de los ácidos grasos. La composición química y la pureza del glicerol determinan su valor nutricional (Kholif, 2019). En el rumen, el glicerol se fermenta para producir ácidos grasos volátiles (AGV), en su mayoría ácido propiónico y ácido butírico (Rémond *et al.*, 1993), que disminuyen el pH ruminal y provocan efectos negativos en la síntesis de proteínas microbianas ruminales, y en la actividad de degradación enzimática de la celulosa de *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*. El ácido propiónico es producido en el rumen a partir del ácido pirúvico o láctico siguiendo dos vías diferentes: 1) fermentación propiónica: partiendo de 1,5 moles de glucosa, y posteriormente ácido pirúvico, se obtienen 2 moles de ácido propiónico por efecto de la bacteria *Propionobacterium spp.*; 2) ruta metabólica del acrilato para la producción de propiónico a partir de ácido láctico en *Clostridium propionicum* y *Peptostreptococcus elsdenii*. En el hígado el ácido propiónico es el único que interviene en gluconeogénesis. (Zalduegui, 1975).

En un estudio previo Gutierrez *et al.*, (2011) sincronizaron ovinos con un protocolo con esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos y, al retiro, se aplicó una dosis de prostaglandinas y al mismo tiempo se administraron diferentes volúmenes de glicerol a ovinos. Gutierrez *et al.* describe que 50 mL de glicerina - como tratamiento de sobrealimentación ultra corto - (por vía oral) son suficientes para promover una mayor incidencia de partos dobles; ver figura 3.

Tabla 4. Tipo de ovulación y tasa de ovulación en ovejas Pelibuey tras sobrealimentación ultracorta con administración oral de 50, 100, 200 o 300 mL de una solución glucogénica (glicerol: agua; 90:10 v/v) en el momento de la sincronización del estro con PGF2 α .

Grupos	Tipo de ovulación (%)				Tasa de ovulación
	Simple	Doble	Triple	Cuádruple	
Control ^a	38.60	54.39	7.02	0	1.68 \pm 0.05
50 mL ^b	10.71	78.57	10.71	0	2.00 \pm 0.08
100 mL ^b	3.85	76.92	3.85	15.38	2.30 \pm 0.15
200 mL ^b	14.29	60.71	14.29	10.71	2.21 \pm 0.15
300 mL ^b	17.24	65.52	13.79	3.45	2.03 \pm 0.12

^{a,b}Different superscripts within a column differ ($P < 0.0001$).

FIG. 3. Adaptado de Gutierrez *et al.*, 2011.

Las influencias nutricionales a corto plazo están mediadas principalmente por glucosa-insulina mientras que el efecto del peso corporal y sus reservas grasas están modulados por la leptina e IGF-I. Por lo tanto, el aumento de la foliculogénesis resultante de la nutrición a corto plazo puede ser el resultado de cambios sutiles en la retroalimentación negativa o el resultado de la acción folicular directa de la insulina o de la glucosa. El efecto de la insulina también puede estar mediado por la leptina. El efecto de la nutrición a corto plazo en el sistema IGF es todavía incierto (Scaramuzzi *et al.*, 2011).



Hipótesis

El uso de sobrealimentación ultracorta en un tratamiento de sincronización corto incrementa las concentraciones plasmáticas de estradiol y progesterona; e incrementa la duración del celo en el grupo experimental, promoviendo una mayor incidencia en ovulaciones dobles.

Objetivo

- A. Determinar y comparar las concentraciones plasmáticas de estradiol y progesterona en un tratamiento de sincronización de corta duración con y sin el uso de sobrealimentación ultracorta con glicerol.
- B. Determinar las diferencias entre grupos en la manifestación y duración del estro.



Material y métodos

Se utilizaron 36 ovinos de la raza Pelibuey durante la época reproductiva, 34 hembras y dos machos, de 4 a 7 años de edad; con condición corporal entre 2.5 y 3.5 (la escala es de 1 a 5 grados, 1 para un animal emaciado y 5 para un animal obeso) de acuerdo al método descrito por Russel *et al.* (1969), además de un estado físico clínicamente sano y reproductivamente sanos. Se mantuvieron en de un sistema de producción intensivo con alimentación a base de avena, ensilado de maíz y concentrado, incluyendo agua y sales minerales *ad libitum*, cubriendo sus necesidades nutricionales.

Las hembras se dividieron de manera aleatoria en 2 grupos, grupo 1: “Tratamiento corto control (TCC, n=17)” y grupo 2: “Tratamiento corto con glicerina (TCG, n=17)”. En ambos grupos (TCC y TCG) el tratamiento de sincronización fue de corta duración que consistió en la aplicación de un dispositivo intravaginal con progestágeno sintético (20 mg de cronolona micronizada) durante 5 días, más 125 microgramos de prostaglandina sintética (Celosil® cloprostenol, 250 microgramos/ mL del laboratorio Zoetis) por vía IM al final del tratamiento (Viñoles *et al.*, 1999; Martemucci y D’Alessandro, 2011). Al grupo TCG también se le administró al final del tratamiento 50 mL de glicerina diluida en agua por vía oral (9:1) (Gutierrez *et al.*, 2011).

Toma de muestra

En 10 individuos de cada grupo experimental, desde cinco días antes y hasta el retiro del dispositivo intravaginal, cada 24 horas, se les tomó una muestra de 3 mL de sangre por punción de la vena yugular izquierda, en un tubo vacutainer con heparina como anticoagulante. Con el fin de evitar hacer punciones en repetidas ocasiones, después del retiro del dispositivo intravaginal se insertó un catéter central de

poliuretano de 30 cm de largo y del número 16 (Subclavicat®) en la vena yugular derecha con la ayuda de un trocar del número 14; esto se aplicó bajo anestesia local (1 mL de lidocaína al 2% vía SC) (Flood *et al.*, 1989; Mirmahmoudi *et al.*, 2011) fijándose con dos puntos de sutura en “X” y posteriormente se colocó una tela malla del número 3 en el cuello, para protegerlo del movimiento. La toma de muestras (3 mL) se realizó cada 12 horas y una vez presentado el estro, se obtuvo cada 4 horas hasta que concluyó el mismo. Finalmente, se tomó una muestra cada 12 horas durante 3 días después de haber concluido el estro, para cubrir el periodo de formación del CL (Bartlewski, *et al.*, 1999) (Ver anexo 1). Cada vez que se tomó una muestra con ayuda del catéter, se administró 1 mL de SSF con heparina (50 UI/ mL; Rangel, 2006) al principio y al final de la toma para evitar la formación de coágulos que pudieran obstruir el catéter. Finalizando el muestreo se retiró el dispositivo. Cada muestra se procesó dentro de los primeros 15 minutos post colección para obtener el plasma sanguíneo, se centrifugó cada muestra a 3,500 rpm durante 10 minutos, después se tomó el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se depositó en microtubos con su identificación correspondiente. Los microtubos se mantuvieron en congelación (-20 °C) hasta su análisis en el laboratorio.

Detección del estro

Para determinar el inicio del estro después del retiro del dispositivo y la duración de esta etapa, se utilizaron 2 machos enteros provistos de un mandil para evitar la cópula. Se ingresaron durante 15 minutos al corral, cada 6 horas, iniciando 22 horas después del retiro del dispositivo y hasta la finalización del estro (Wildeus, 2000).

Ensayo hormonal de progesterona y estradiol

El estudio hormonal se llevó a cabo por el ensayo inmunodiagnóstico ELISA. Todas las soluciones y reactivos utilizados se describen en la parte de anexos (Ver anexo7).

En el caso de progesterona se utilizó el Kit de inmunoensayo enzimático DRG Progesterona ELISA® para diagnóstico *in vitro*, con una sensibilidad de 0,045 ng/ml de acuerdo a las instrucciones del fabricante (DRG International, Inc.).

Para E2, primero se sensibilizó la placa Maxisorp® utilizando el anticuerpo contra E2 (POLYCLONAL R4972 anti-estradiol 17b, 54.38 mg/mL) en una concentración de 2 µg/mL diluido en buffer de carbonatos, se cubrió la placa con una película de plástico adherible, más una de aluminio y se incubó durante 18 horas a 4°C. Se realizaron 4 lavados por placa, agregando en cada lavado 200 µl de solución de lavado 1x a cada pozo y finalizando con un secado. Posteriormente se bloquearon las uniones inespecíficas de la placa agregando a los pozos 100 µl de albúmina (BSA) al 1% diluida en buffer de fosfatos y se incubó durante 2 horas a 30°C; se lavó la placa con 200 µl de solución de lavado 1x en cada pozo, haciendo 4 repeticiones y finalizando con el secado. Se traspasaron 50 µl/pozo de la placa reservorio a la placa de ensayo Maxisorp® (Thermo Scientific™, no. de catálogo 442404), incubando durante 10 minutos a temperatura ambiente, durante este periodo se preparó el conjugado (Estradiol:HRP) con una dilución de 1/10,000 en buffer de fosfatos, una vez concluido el tiempo se agregaron 50 µl por pozo y se dejó incubando durante 2 horas a 30 °C. Se realizaron 4 lavados por placa, agregando 200 µl de solución de lavado 1x a cada pozo y finalizando con un secado. El sustrato se preparó utilizando 12.5 mL de solución de citratos, 125 µl de TMB/DMSO (Merck®, no. de catálogo S5814-100ML/ Thermo Scientific™, no. de catálogo 10127403) –previamente preparado- y 2.5 µl de peróxido de hidrógeno al 30%, de este producto se agregaron 100 µl a cada pozo y se dejó incubando por 30 minutos a 25°C. Al término, se detuvo la reacción enzimática agregando a cada pozo 50 µl de ácido sulfúrico (Ácido sulfúrico Meyer® (no. de catálogo HDS 0285, $\delta = 1.98$ g y peso molecular de 98.08 g/mol [H₂SO₄]). La lectura de la placa se realizó a 450 nm en el lector de ELISA.

Los resultados obtenidos de las lecturas de las placas ELISA se interpolaron en el programa AssayZap® (Biosoft®) versión 3.0 para calcular las concentraciones hormonales.

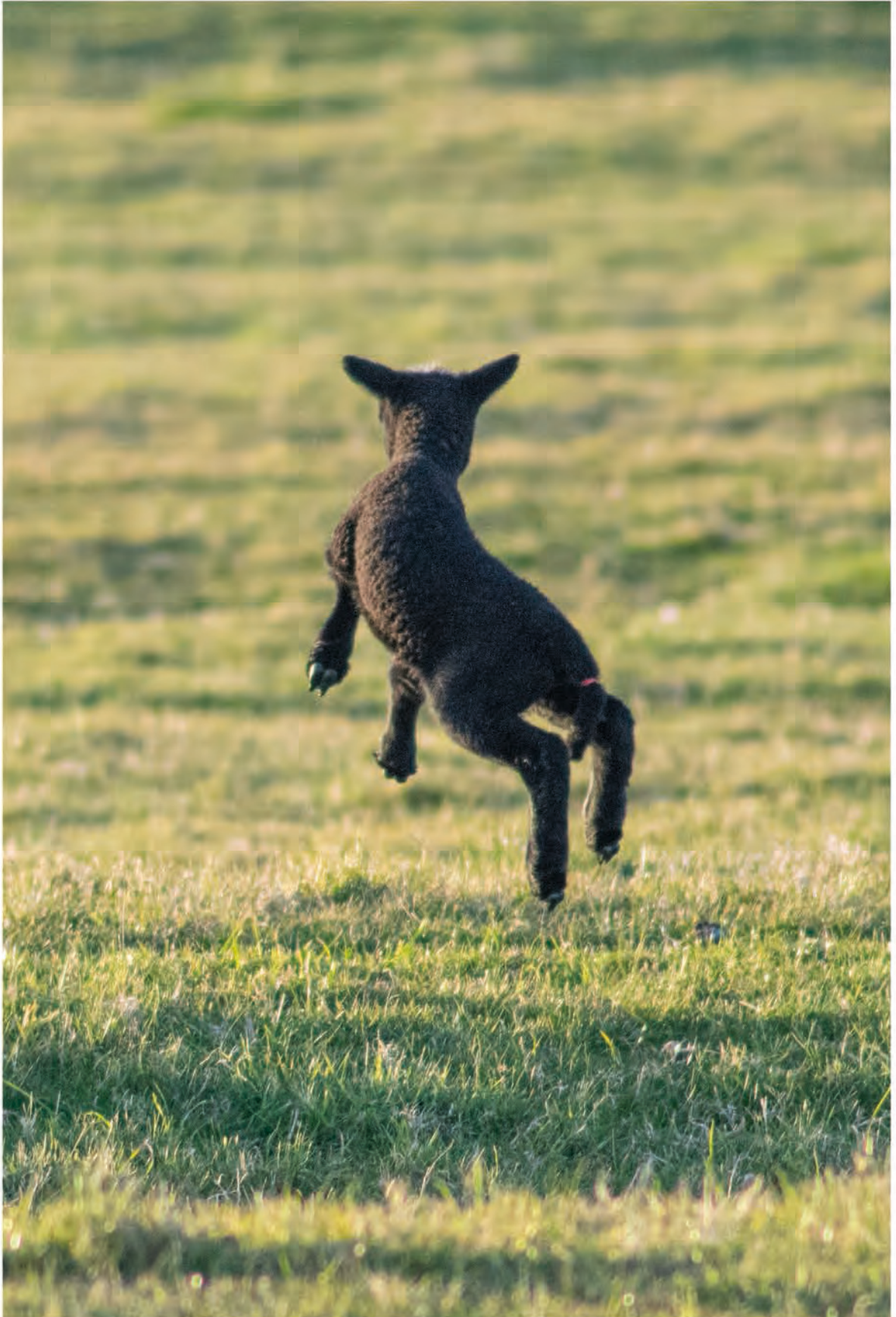
Análisis estadístico

Las variables que se midieron son:

- A. Promedio de P4 (PP): el promedio y desviación estándar ($\bar{X} \pm s$) de cada grupo en cuanto a las concentraciones plasmáticas de P4 a nivel sistémico durante todo el periodo de muestreo de sangre, medido en ng/mL.
- B. Promedio de E2 (PE): $\bar{X} \pm s$. de las concentraciones plasmáticas de E2 a nivel sistémico por grupo durante todo el periodo de muestreo de sangre, medido en ng/mL.
- C. Picos sobre el promedio total de E2 (PTE): para hacer el conteo de esta variable, primero se obtuvo el promedio de E2 de cada grupo, utilizando esta medida como estándar, se contó cuántas ocasiones las concentraciones de cada oveja rebasaron el promedio del grupo.
- D. Picos sobre el promedio individual de E2 (PEI): para esta variable, primero se obtuvo el promedio individual de E2, con esto se describió cada aumento por encima de su promedio como un pico.
- E. Tiempo entre el inicio del Estro al Pico máximo de Estradiol (IE-PicoE2): se comparó el tiempo promedio de la concentración máxima de estrógenos de todas las ovejas por grupo, en cada toma de muestra de sangre (cada 24 y 4 horas), ajustando la hora cero como el inicio de celo, comparando los picos de estradiol para ver la relación de concentración máxima de estradiol y su cercanía con la presentación del estro.
- F. Concentraciones de P4 antes de la glicerina (PAG): $\bar{X} \pm s$ de las concentraciones de P4 previo a la administración de glicerina por vía oral.
- G. Progesterona post glicerina (PPG): $\bar{X} \pm s$ de las concentraciones plasmáticas de progesterona después de haber administrado por vía oral la glicerina en los animales.

- H. Horas de duración del celo (HC): la duración promedio del celo, en horas, de cada grupo experimental.
- I. Tiempo de retiro de dispositivo a inicio de celo (TRIE): son las horas que transcurren desde el retiro del progestágeno y hasta el inicio de la receptividad sexual.
- J. Fin del estro a la formación del CL en horas (FEC): El tiempo transcurrido en horas del fin del estro y hasta la formación del cuerpo lúteo, determinado por las concentraciones de progesterona ≥ 1 ng/ml.
- K. Número de muestras tomadas durante el celo (NMC): el promedio total de muestras que fueron obtenidas cada 4 horas durante el periodo de receptividad sexual.
- L. Número de muestras totales (NMT): el promedio total de muestras que fueron obtenidas durante todo el experimental.

Primero se realizó el promedio por grupos experimentales de todas las variables a medir, luego se aplicó la prueba (Shapiro-Wilks) para saber si los datos presentaban una distribución normal, posteriormente se aplicó la prueba Fligner-killeen y la prueba de Levene para saber si había homocedasticidad. Por último, todos los datos se evaluaron y se compararon entre grupos con el procedimiento de *prueba t-Student* con el programa RStudio. (2021).



Resultados

En los cuadros 2, 3 y 4 se puede observar el promedio de las diferentes variables que se midieron, globalmente y entre ambos grupos (TCC, TCG) no existen diferencias estadísticamente significativas relevantes.

Dos individuos del grupo TCG no presentaron signos de receptividad sexual por lo que una de ellas se incluyó en el análisis hormonal hasta antes del estro y la otra no fue incluida.

Cuadro 2. Resultados de las concentraciones de las hormonas esteroideas estradiol y progesterona, en total y para cada grupo. Donde PP (promedio de progesterona), PE (promedio de estradiol), PTE (picos sobre el promedio total de estradiol), PEI (picos sobre el promedio individual de estradiol), IE-PicoE2 (tiempo entre el inicio del estro al pico máximo de estradiol), PAG (concentraciones de progesterona antes de la glicerina) y PPG (progesterona post glicerina):

<i>Variable</i> (<i>promedio ± ee</i>)	<i>TCC</i>	<i>TCG</i>	<i>Total</i>	<i>t (p < 0.05)</i>
<i>PP (ng/ml)</i>	2.18 ±0.39	2.49 ±0.50	2.24 ± 0.31	0.69
<i>PE (ng/ml)</i>	9.63 ±3.05	6.95 ±2.23	8.40 ± 1.96	0.48
<i>PTE</i>	5.80 ±1.87	3.40 ±1.51	4.57 ± 1.26	0.33
<i>PEI</i>	5.70 ±0.77	6.80 ±0.44	6.21 ± 0.47	0.23

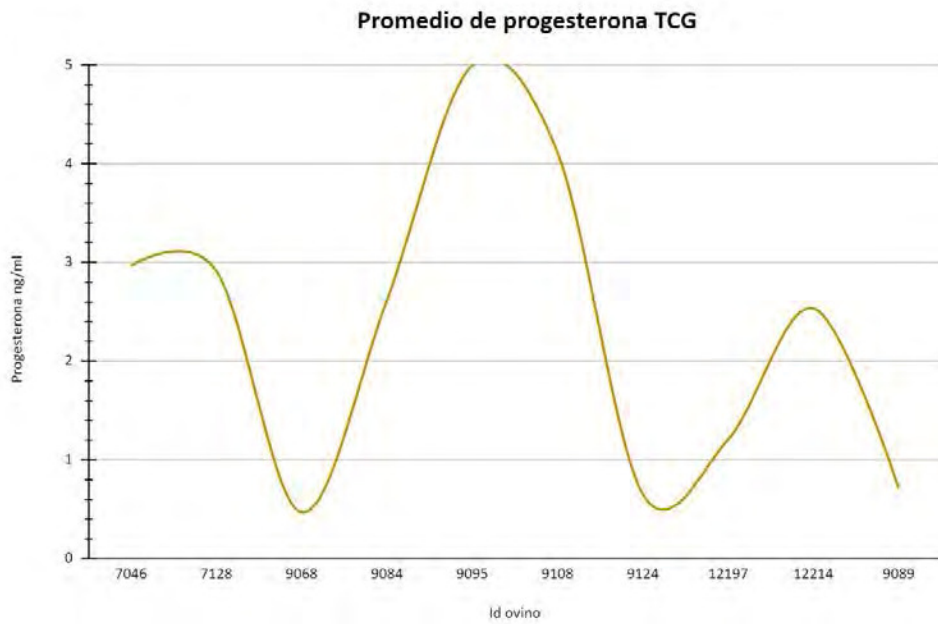
<i>IE-PicoE2 (h)</i>	8.80 ±2.44	11.11 ±3.51	9.89 ±2.06	0.59
<i>PAG (ng/ml)</i>	3.78 ± 0.82	4.28 ± 0.99	4.02 ± 0.62	0.70
<i>PPG (ng/ml)</i>	0.92 ± 0.11	0.75 ± 0.08	0.84 ± 0.07	0.28

En la figura 4 y 5 se observa en la gráfica de los promedios de estradiol y progesterona del grupo TCC (Tratamiento Corto Control) y TCG (Tratamiento Corto Glicerina).





FIG 4. Promedios de estradiol por individuo de cada grupo (TCC: Tratamiento Corto Control y TCG: Tratamiento Corto Glicerina).



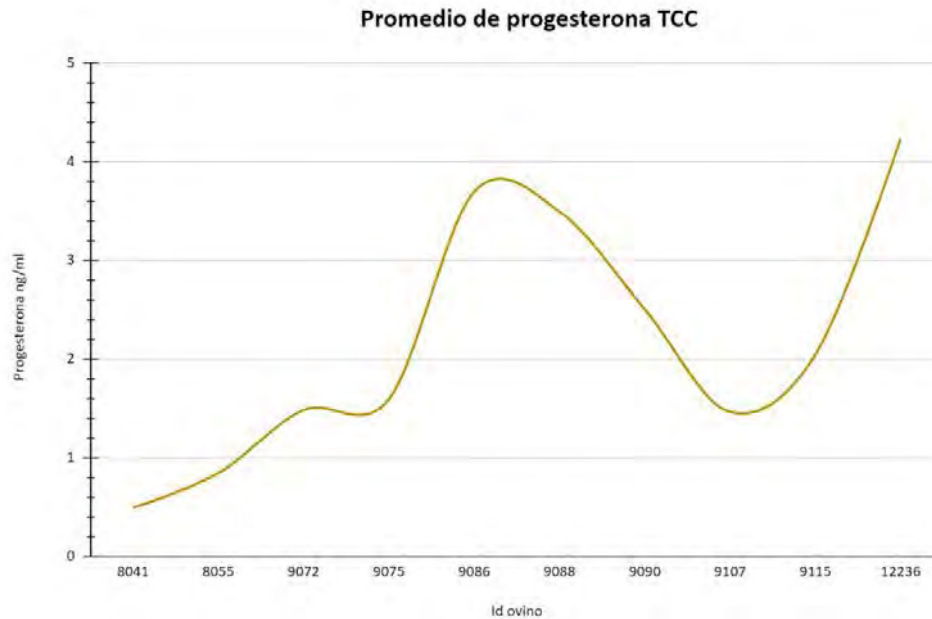


FIG 5. Promedios de progesterona por individuo de cada grupo (TCC: Tratamiento Corto Control y TCG: Tratamiento Corto Glicerina).

En anexos se describen individualmente las concentraciones de progesterona y estradiol en ANEXO 2, 3, 4 y 5. En el ANEXO 6 se describe la variable IE-PicoE2.

Cuadro 3. Resultados de los tiempos del tratamiento de sincronización en total y para cada grupo. Donde HC (horas de duración del celo), TRIE (tiempo de retiro de dispositivo a inicio de celo) y FEC (fin del estro a la formación del cuerpo lúteo en horas).

<i>Variable</i> (promedio ± ee)	<i>TCC</i>	<i>TCG</i>	<i>Total</i>	<i>p</i>
<i>HC (h)</i>	30.80 ±3.73	30.67 ±4.30	30.74 ± 2.75	0.98

<i>TRIE (h)</i>	60.10	61.89	60.95	0.65
	±1.36	±3.90	± 1.93	
<i>FEC (h)</i>	38.40	52	44.84	0.09
	±5.30	±5.65	± 4.08	

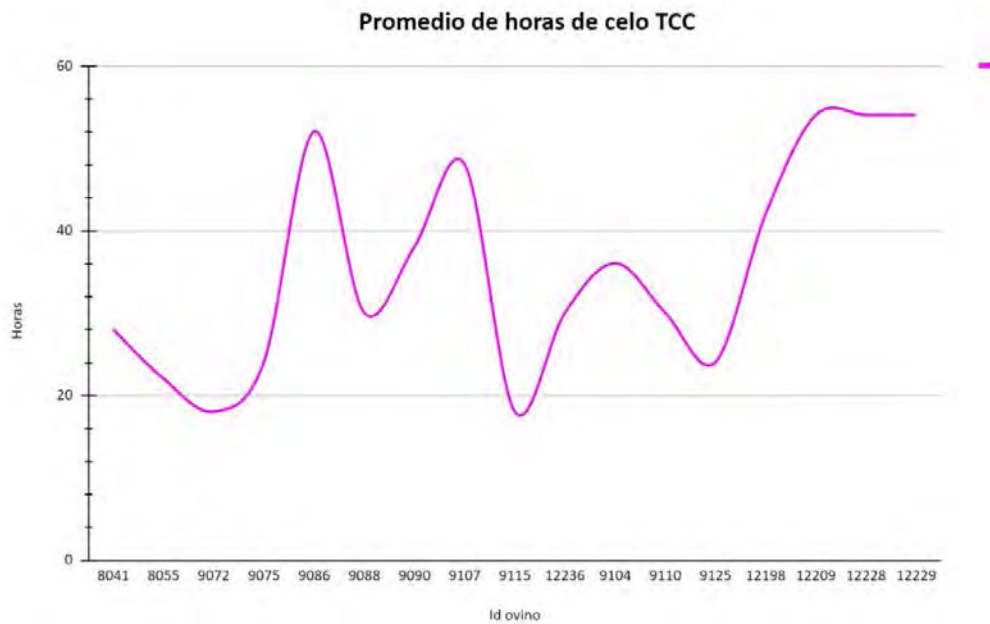


FIG 6. Promedio de horas de celo por individuo del grupo TCC (Tratamiento Corto Control).

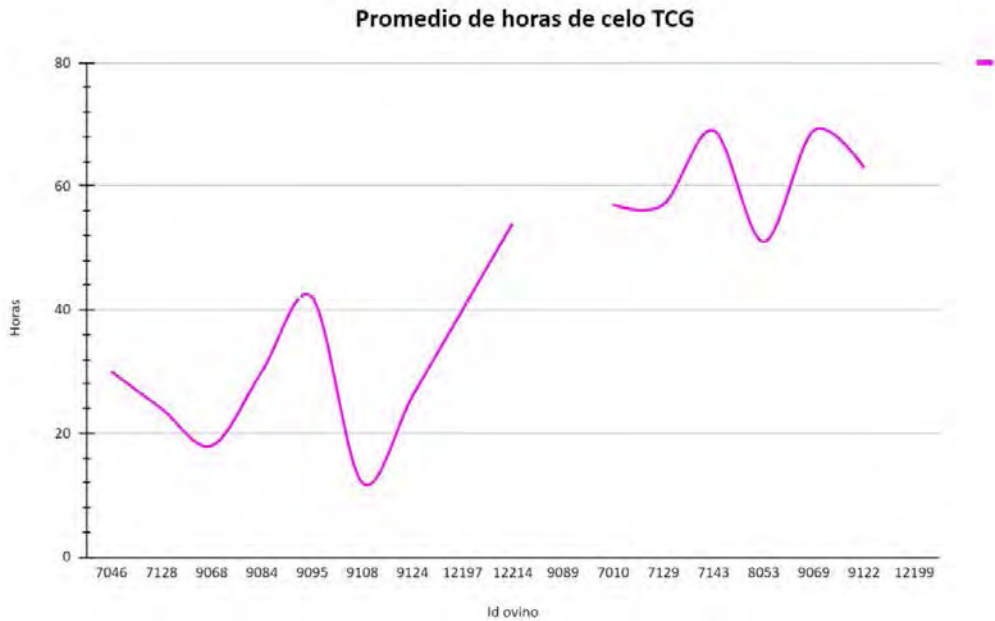


FIG 7. Promedio de horas de celo por individuo del grupo TCG (Tratamiento Corto Glicerina). Los ovinos no representados en la gráfica son aquellos que no presentaron celo durante el experimental.

Cuadro 4. Número de muestras colectadas a lo largo del experimento en total y para cada grupo. Donde NMC (número de muestras tomadas durante el celo) y NMT (número de muestras totales)

<i>Variable</i> (<i>promedio ± ee</i>)	<i>TCC</i>	<i>TCG</i>	<i>Total</i>	<i>p</i>
<i>NMC</i>	8.20 ±0.89	8.77 ±1.07	8.47 ± 0.67	0.68
<i>NMT</i>	24.20 ±0.89	24.50 ±1.12	24.58 ± 0.69	0.83



Discusión

El presente trabajo se diseñó con el fin de comprobar si al administrar 50 mL de glicerina por vía oral, las concentraciones sistémicas de E2 y P4 aumentan, de tal forma que esto se traduzca en un mayor número de folículos ovulatorios. Los resultados muestran que no hubo diferencia estadística entre el grupo control (TCC) y el grupo experimental (TCG), por lo que al administrar glicerina vía oral no existe una diferencia en las concentraciones de hormonas esteroideas a nivel sistémico.

Es importante aclarar que un efecto agudo –tratamiento de sobrealimentación - puede venir de distintos protocolos de sobrealimentación, el primero es el de corta duración, con un periodo promedio de 6 días (4 a 8 días) (Somchit *et al.*, 2007) y el tratamiento ultracorto que se refiere a la administración de una sola dosis de un sustrato gluconeogénico al momento del retiro del progestágeno o la administración de la prostaglandina (Gutiérrez *et al.*, 2011). Resultados obtenidos por Gutiérrez *et al.* (2011), describen que, con un tratamiento de suplementación ultracorto con glicerol (50 ml de solución glucogénica [glicerol:agua, 9:1] después de una sincronización del ciclo estral con FGA + PGF2 α), se presenta una reducción en el ARNm de p450 aromatasas; esto infiere una disminución en las concentraciones de E2 a las 12 horas después de la suplementación y se asocia con un aumento de la tasa ovulatoria, permitiendo que se llegue a codominancia folicular; sin embargo, bajo un protocolo de sincronización de corta duración con y sin suplementación ultracorta, no se encontró alguna diferencia en las concentraciones de E2.

Así mismo, se han estudiado con mayor amplitud los efectos de los diferentes sustratos nutricionales en la sobrealimentación de corta duración, describiendo que pueden tener un efecto negativo cuando se ofrecen a la hembra desde 4 días previos y hasta que se lleve a cabo la ovulación; esto hace difícil estandarizar en qué tiempos se debe ofrecer ya que no todas las hembras presentan su estro y llevan a cabo la

ovulación al mismo tiempo; por esta razón es importante seguir describiendo los efectos de un tratamiento de ultracorta duración, ya que comparado al de corta duración se administra solo una vez y en el momento en el que se abre la ventana de reclutamiento, promoviendo un mayor número de folículo en desarrollo bajo codominancia y aumentando la tasa ovulatoria (Viñoles, 2003).

Distintos autores, como Somchit *et al.* (2007), quienes realizaron una sobrealimentación de corta duración (8 días) con el grano de lupino, determinaron las concentraciones sistémicas de E2 sin obtener diferencias estadísticas entre grupos; mientras que la presencia de P4 únicamente confirmó la correcta luteinización de los folículos durante el ciclo estral. Así mismo, Viñoles *et al.* (2005), durante 6 días hicieron una sobrealimentación corta utilizando maíz y soya, describieron una situación semejante en donde no hubo diferencia con el grupo que recibió la dieta de mantenimiento, en las concentraciones de E2 y P4. Derivado de estos resultados, los autores mencionados, infieren que el efecto agudo de un tratamiento de corta duración sobre la nutrición no está activado o regulado por la vía esteroidogénica, sino que probablemente es a través de la captación directa de la glucosa por el folículo; situación que pudo haberse manifestado en este experimento pero donde tampoco se establecieron diferencias entre los grupos en la esteroidogénesis.

Se realizaron diferentes comparaciones en las concentraciones de E2, en tiempo concentración y relación individual o grupal con el fin de describir el comportamiento esteroidogénico de la dinámica folicular. Como cada individuo es diferente y puede variar el umbral de E2 para la ovulación. Por lo tanto, se decidió hacer promedios individuales y con base esta medida se describió de manera más específica los picos de E2 por encima de este promedio individual. Esto es importante porque diversos autores en ganado bovino (Sirois y Fortune, 1990; Stock y Fortune, 1993), relacionan el aumento de estrógenos con una oleada folicular en desarrollo; sin embargo, Viñoles (2001) no logró concretar esta afirmación en ovinos. En relación a esto, en el presente trabajo, sí se lograron describir cambios individuales hormonalmente, lo cual podría

estar relacionado con el desarrollo de una oleada folicular como se descrito en ganado bovino.

Respecto a las concentraciones de P4 antes de la administración de glicerol, Swelum *et al.* (2015) realizaron comparaciones en las concentraciones de diferentes hormonas con el uso de CIDR y de esponja impregnada con FGA como tratamiento de sincronización; en el caso de CIDR hubo disminución significativa de P4 pero nunca llegó por debajo de 1 ng/mL, contrario al FGA que tuvo variaciones por debajo de 1 ng/mL durante todo el tratamiento, situación que no se manifestó en el presente trabajo con el uso de cronolona, aun cuando en un estudio (O'Connell *et al.*, 2013) se reporta que hay variaciones marcadas de P4 durante todo el ciclo estral (entre el día 2 y 9). Faltaría evaluar las diferencias al comparar las concentraciones de P4 y E2 con el uso de CIDR (progesterona natural) y esponjas impregnadas con FGA (progestágeno sintético) en un protocolo corto más el uso de una sobrealimentación ultracorta con glicerol, para evaluar cambios.

Con respecto a la formación del CL Somchit *et al.* (2007) confirmaron la correcta luteinización de los folículos durante el ciclo estral midiendo las concentraciones de P4. A esto, se ha descrito que en ovejas con bajas concentraciones de P4 (<1 ng/ml) al inicio de la fase lútea se retrasa el desarrollo embrionario (blastómeros) (Mcclure *et al.*, 1991; Mann y Lamming, 1999;). Asociado a esto, O'Connell *et al.* (2013) observaron que durante las gestaciones tempranas, en el caso de las ovejas que presentaron mayores concentraciones de P4, post celo, tuvieron mejor establecimiento embrionario. Aunque no haya habido diferencia estadística de las concentraciones de esta hormona durante el experimental, es importante resaltar su importancia y el hecho que todas hayan alcanzado concentraciones mayores a 1 ng/mL indica una buena formación del CL.

Finalmente, se analizó la diferencia en tiempos de duración e inicio del celo, en los cuales no hubo diferencia estadística entre los tiempos de inicio de celo y duración de este, en tratamientos cortos con el uso de glicerol. Sin embargo, Martemucci y D'Alessandro (2011) y Escorcía (2019) indican que con el uso de protocolos de

sincronización cortos con FGA -en comparación de tratamientos largos- el inicio de celo se retrasa. En los trabajos mencionados se describe que un tratamiento corto con y sin el uso de glicerol, el celo inicia aproximadamente a las 57.2 h y 59.8 h, respectivamente, similares a los encontrados en el presente trabajo (60.95 h). En comparación a un tratamiento de larga duración que inicia aproximadamente entre las 30.3 y 49.85 h; puede ser un factor importante al momento de tener un programa de IATF, ya que por consiguiente se retrasa la ovulación y sería necesario ajustar los tiempos para la IATF lo que remarca la importancia de la detección de celos en el uso de este tipo de protocolos de sincronización.



Conclusión

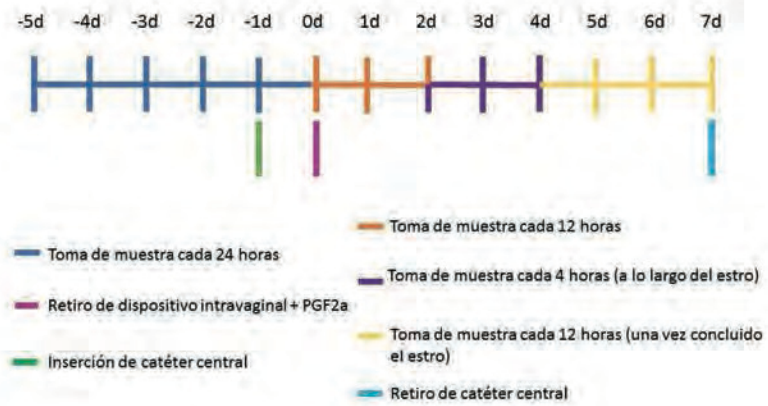
Se concluye que no existe diferencia en las concentraciones hormonales sistémicas de progesterona y estradiol en las ovejas, al utilizar glicerol por vía oral como suplementación ultracorta en tratamientos de corta duración con progestágenos (FGA).

El uso de glicerol mantiene constante la producción de progesterona después del retiro del dispositivo.

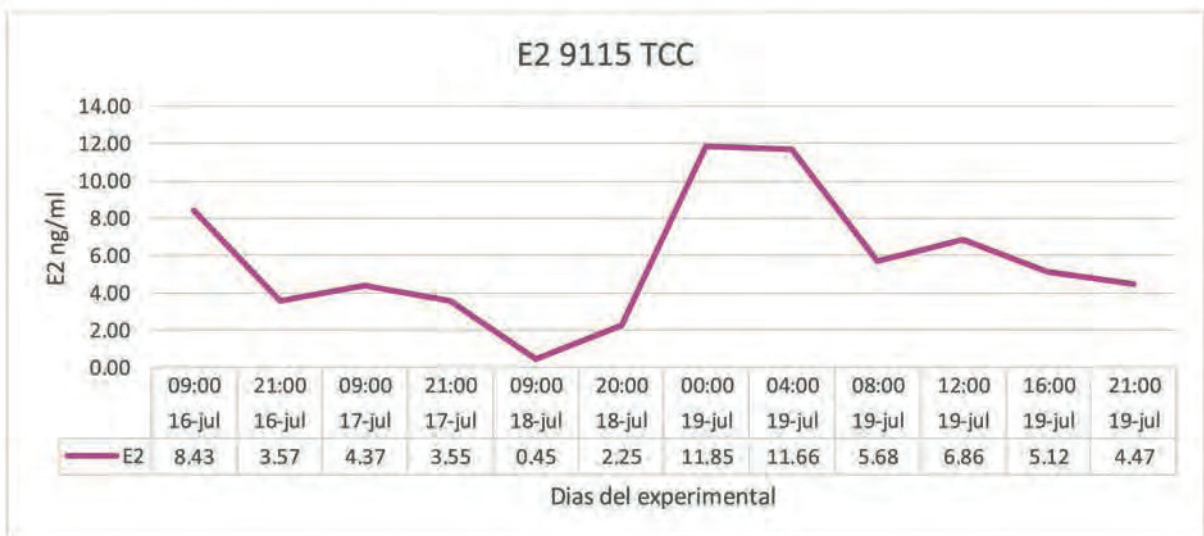
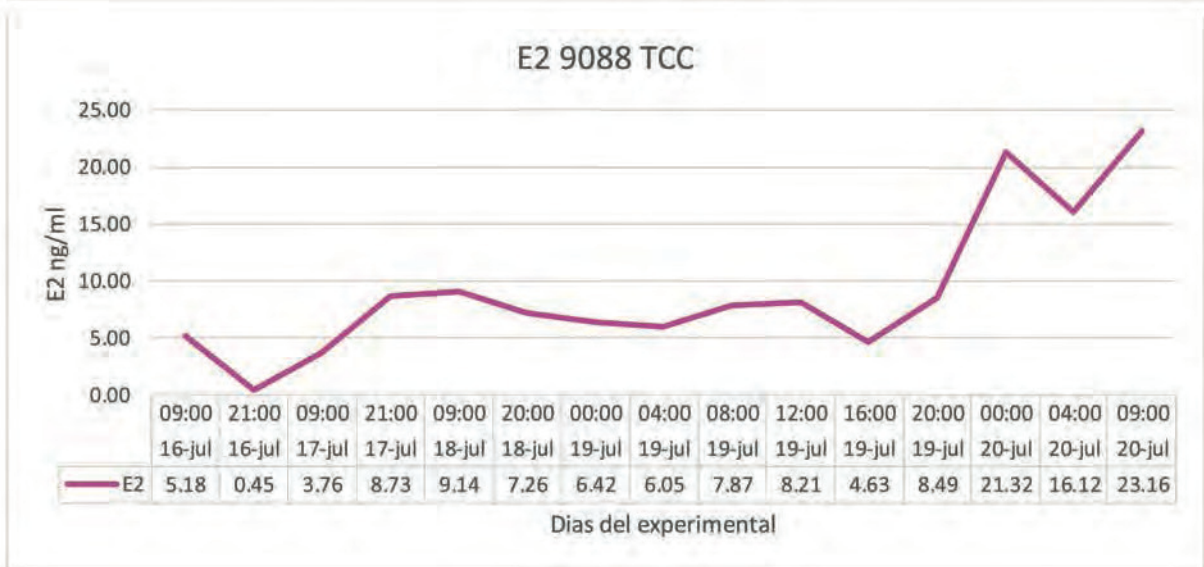
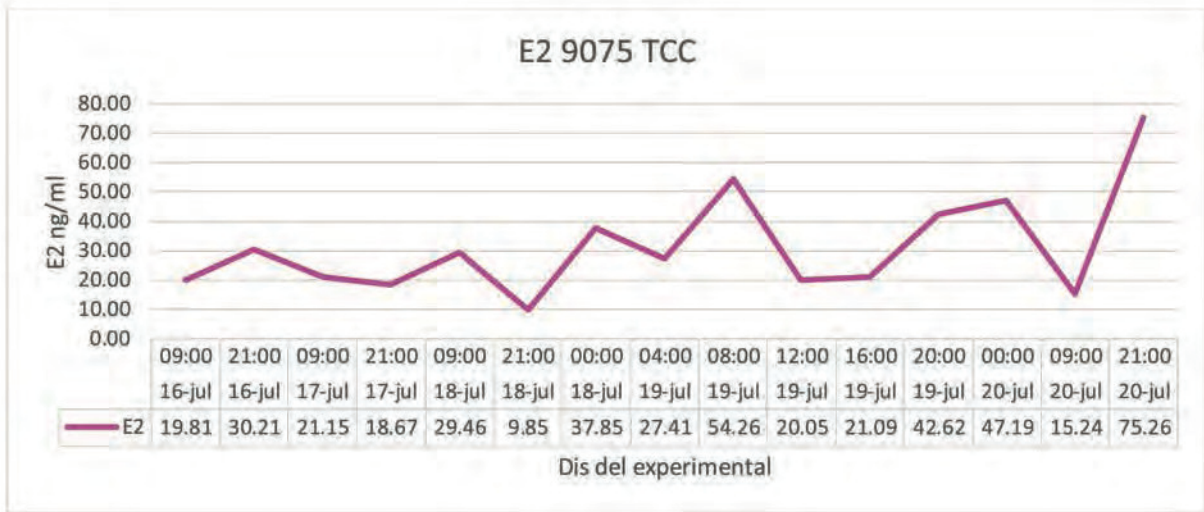
En el inicio y duración del estro tampoco se encontraron diferencias significativas entre grupos.



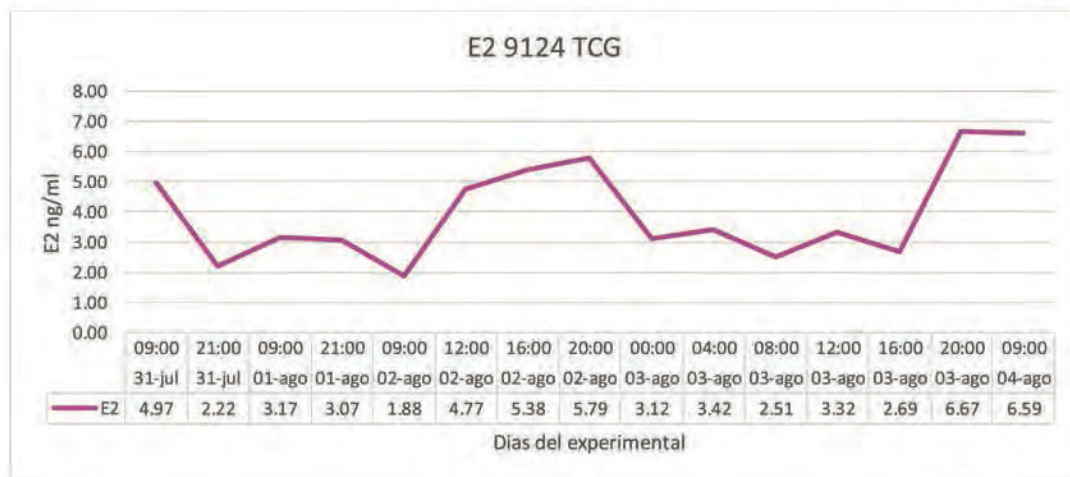
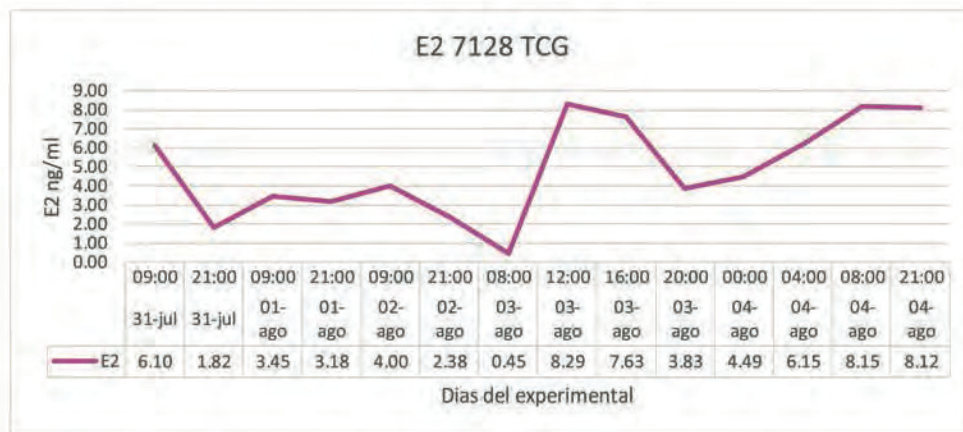
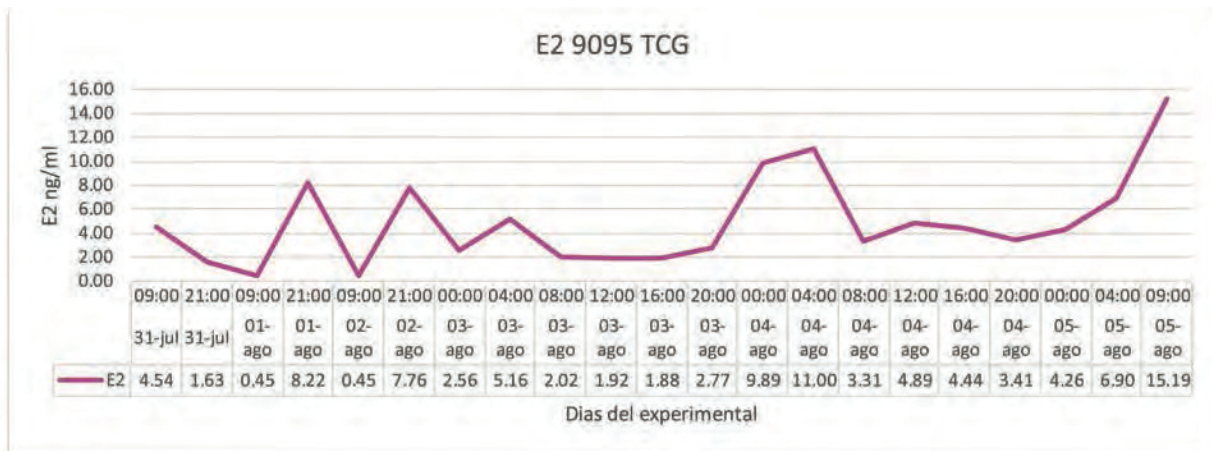
Anexos



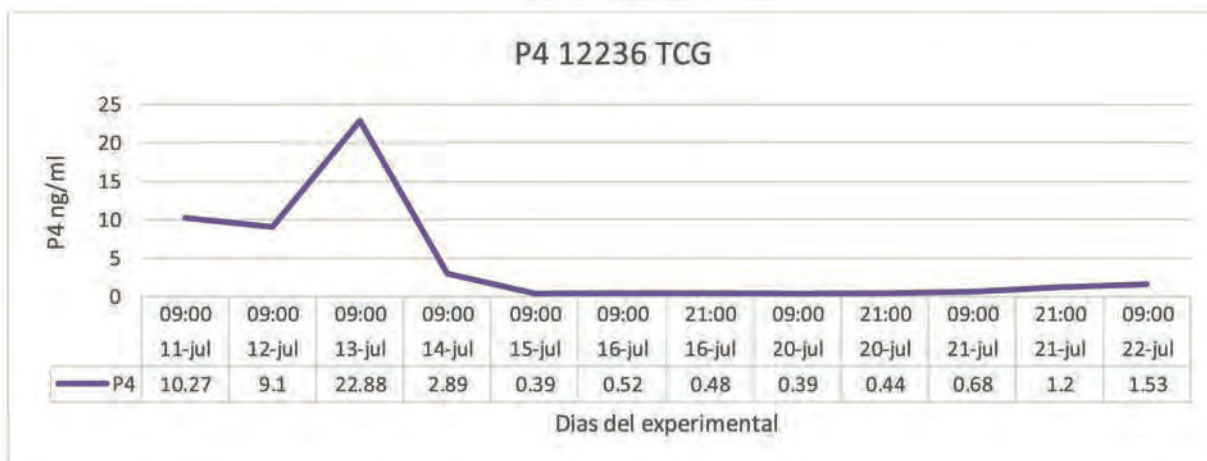
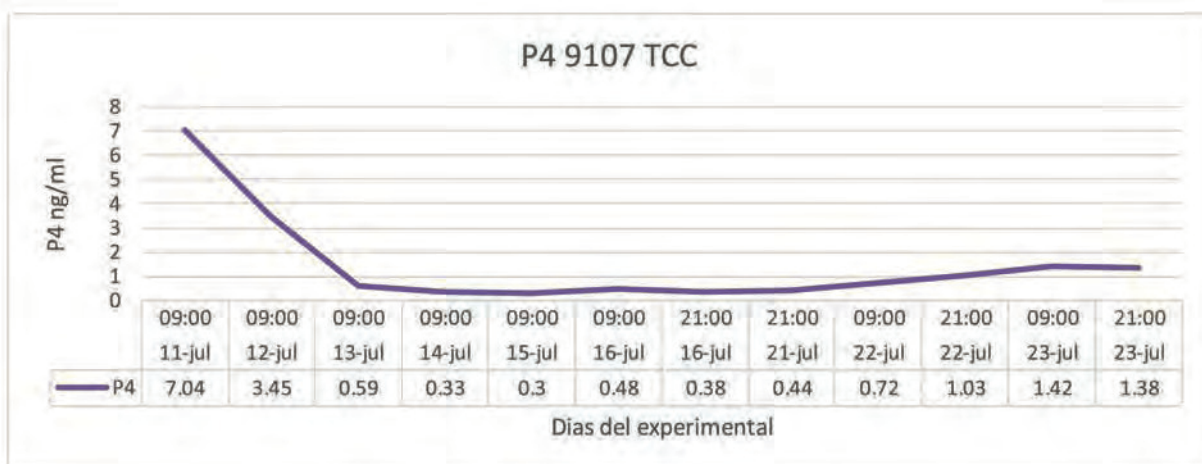
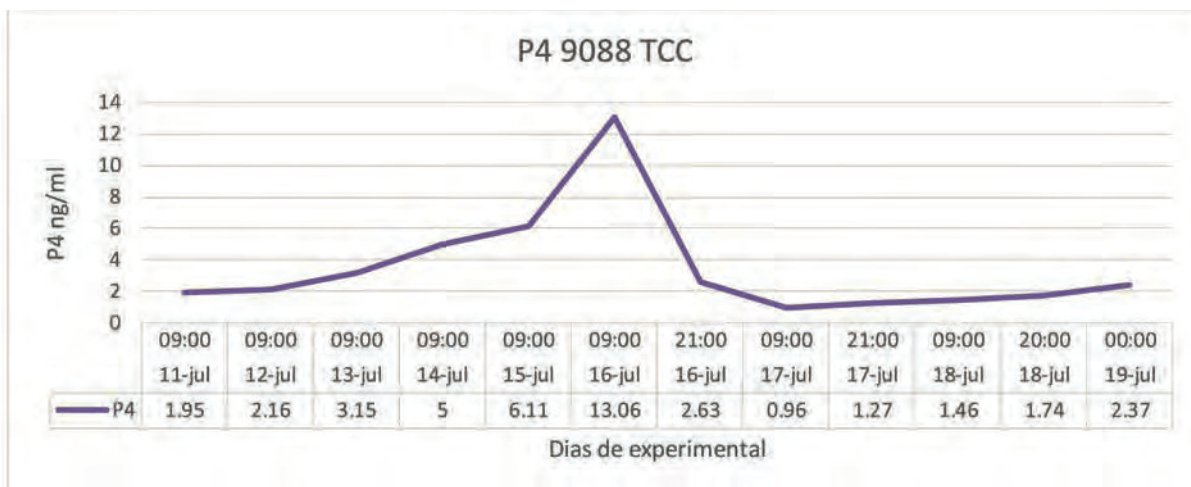
ANEXO 1. Calendario de actividades durante la toma de muestra sanguínea.



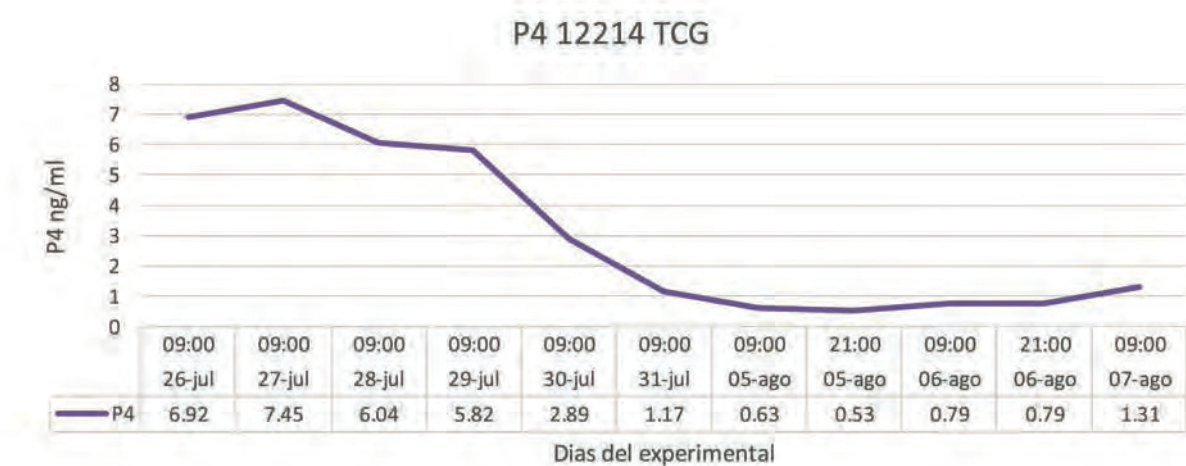
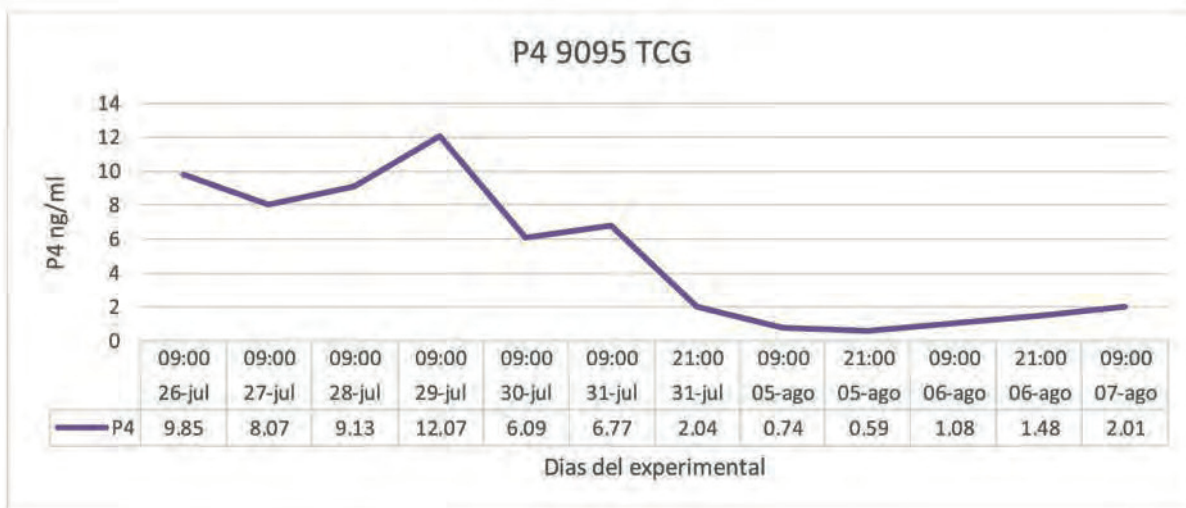
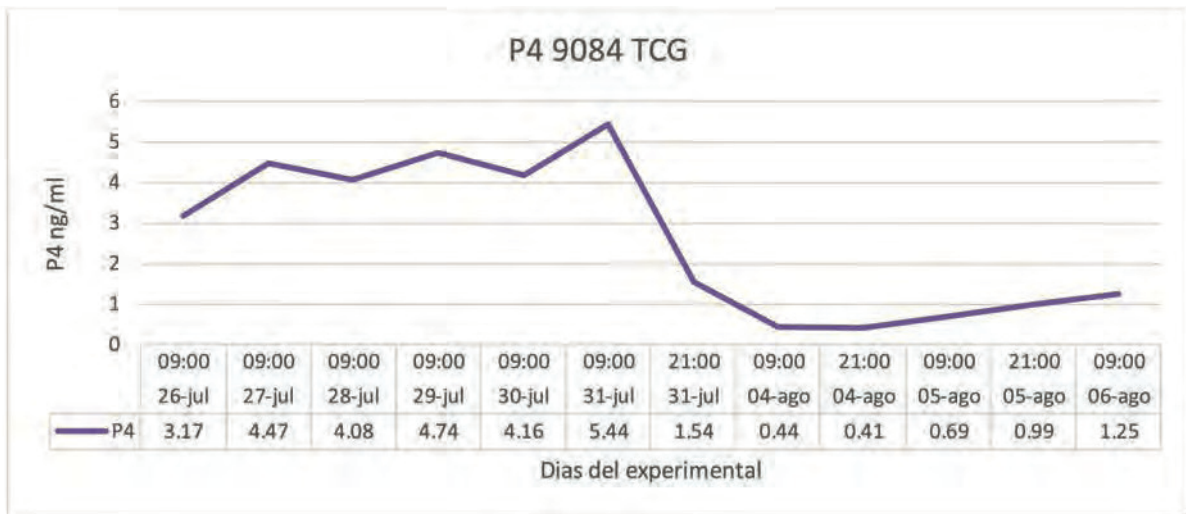
ANEXO 2. Concentraciones de estradiol de las ovejas
9075, 9088y 9115 del grupo TCC.



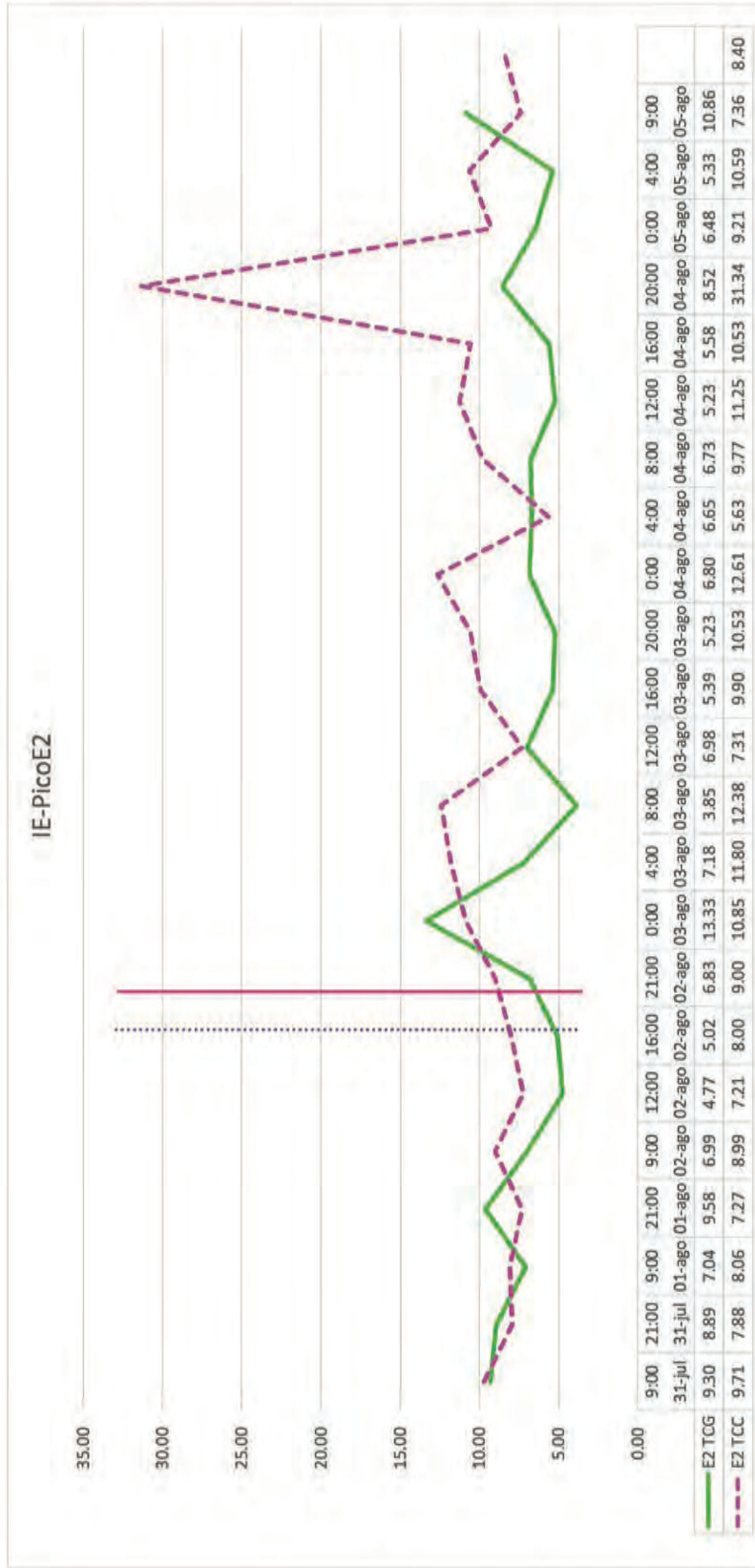
ANEXO 3. Concentraciones de estradiol de las ovejas
7128, 9095 y 9124 del grupo TCG.



ANEXO 4. Concentraciones de progesterona de las ovejas
9088, 9107 y 12236 del grupo TCC.



ANEXO 5. Concentraciones de progesterona de las ovejas
9084, 9095 y 12214 del grupo TCG.



ANEXO 6. Gráfica de variable IE-PicoE2. La línea vertical morada (punteada) marca el inicio promedio del celo en el grupo TCC y la línea vertical roja (lisa) marca el inicio promedio del celo en el grupo TCG.

ANEXO 7. Reactivos y soluciones utilizados en la prueba de ELISA

SOLUCIÓN DE LAVADO 10X	
NaCl 1.5 M	87.66 g
Tween 20 0.5%	5 mL
H ₂ O desionizada	1 L
Almacenar a temperatura ambiente	

AMORTIGUADOR DE FOSFATOS SALINOS (PBS)			
0.1 M, pH 7			
Reactivo	1 Lt	500 mL	250 mL
a) NaH ₂ PO ₄ (0.2 M) Bifosfato de sodio	10.842 g	5.421 g	2.71 g
b) Na ₂ HPO ₄ (0.2 M) Fosfato de disodio	17.324 g	8.662 g	4.331 g
NaCl Cloruro de sodio	8.7 g	4.35 g	2.175 g
BSA Albúmina serica bovina	1 g	0.5 g	0.25 g
H ₂ O desionizada	1 Lt	500 mL	250 mL
Después de agregar el BSA medir el pH (7.0) y ajustar NaOH. Nota: almacenar a 4° C			

AMORTIGUADOR DE CARBONATOS			
0.05 M, pH 9.6			
Reactivo	1 Lt	500 mL	250 mL
a) Na ₂ CO ₃ (Carbonato de sodio)	1.59 g	0.795 g	0.397 g
b) NaHCO ₃ (Bicarbonato de sodio)	2.93 g	1.46 g	0.73 g
NaN ₃ (Azida de sodio)	0.2 g	0.1 g	0.05 g
H ₂ O desionizada	1 Lt	500 mL	250 mL

Una vez mezclado todo, medir el pH (9.6) y ajustar NaOH.
 Nota: almacenar a 4° C

SOLUCIÓN DE CITRATOS			
0.05 M, pH 6			
Reactivo	1 Lt	500 mL	250 mL
Ácido cítrico	9.605 g	4.8 g	2.4 g
H ₂ O desionizada	1 Lt	500 mL	250 mL
Una vez mezclado todo, medir el pH (6) y ajustar con NaOH. Nota: almacenar a 4° C			

SUSTRATO TMB		
Reactivo	96 pozos	48 pozos
Solución de citratos	12.5 mL	6.25 mL
0.0025 g TMB + 250 µl DMSO	125 µl	62.5 µl
Peróxido de hidrógeno 30%	2.5 µl	1.25 µl
Nota: almacenar a 4° C		



Referencias

Adam, C., Archer, Z. and Miller, D. (2003). Leptin actions on the reproductive neuroendocrine axis in sheep. *Bioscientifica Proceedings*. <https://doi.org/10.1530/biosciproc.5.021>

Aguilar-Martínez, C. U., Berruecos-Villalobos, J. M., Espinoza-Gutiérrez, B., Segura-Correa, J. C., Valencia-Méndez, J. y Roldán-Roldán, A. (2017). *Origen, historia y situación actual de la oveja pelibuey en México*. 11.

Arroyo, L. J., Gallegos-Sánchez, J., Villa-Godoy, A., Berruecos, J. M., Perera, G. y Valencia, J. (2007). Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*, 102(1–2), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.09.025>

Barret, K. E., Barman, S. M., Boitano, S. y Brooks, H. (2012). *Ganong. Fisiología médica*. (24th ed.). McGraw Hill.

Bartlewski, P. M., Baby, T. E. and Giffin, J. L. (2011). Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 259–268. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.024>

Bartlewski, P. M., Beard, A. P., Chapman, C. L., Nelson, M. L., Palmer, B., Aravindakshan, J., Cook, S. J. and Rawlings, N. C. (2001). Ovarian responses in gonadotrophin-releasing hormone-treated anoestrous ewes: Follicular and endocrine correlates with luteal outcome. *Reproduction, Fertility and Development*, 13(3), 133. <https://doi.org/10.1071/RD00092>

Bartlewski, P. M., Beard, A. P. and Rawlings, N. C. (1999). An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology*, 52(1), 115–130. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00114-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00114-4)

Beck, N. F. G., Davies, B. and Williams, S. P. (1993). Oestrous synchronization in ewes: The effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen

treatment. *Animal Science*, 56(2), 207–210. <https://doi.org/10.1017/S0003356100021279>

Bentov, I. and Werner, H. (2013). Chapter 222—Insulin-Like Growth Factor- 1. En *Handbook of Biologically Active Peptides* (2a ed., pp. 1627–1632). Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123850959002220>

Berruecos, J., Valencia, M. y Castillo, H. (1975). Genética del borrego Tabasco o Peligüey. *Técnica Pecuaria*, 65.

Bremer, A. A. and Miller, W. L. (2014). Chapter 13—Regulation of Steroidogenesis. En *Cellular Endocrinology in Health and Disease*. Academic Press; 207-227.

Caballero-Chacón, S. y Villa-Godoy, A. (2010). *Fisiología veterinaria e introducción a la fisiología de los procesos productivos*. FMVZ, UNAM.

Church, D. C., Pond, W. G. y Pond, K. R. (2002). *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales* (2nd ed.). Limusa.

Corteel, J. M., Leboeuf, B. and Baril, G. (1988). Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Ruminant Research*, 1(1), 19–35. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(88\)90041-7](https://doi.org/10.1016/0921-4488(88)90041-7)

Cortez Romero, C. y Gallegos Sánchez, J. (2014). *Bioteχνologías reproductivas moleculares y génicas en ovinos* (1°). Biblioteca Básica de Agricultura.

Cuellar Ordaz, J. A., Tórtora Pérez, J., Trejo González, A. y Román Reyes, P. (2012). *La producción ovina mexicana particularidades y complejidades*. Ariadna.

Cumming, I. A., Buckmaster, J. M., Blockey, M. A. D., Goding, J. R., Winfield, C. G. and Baxter, R. W. (1973). Constancy of Interval Between Luteinizing Hormone Release and Ovulation in the Ewe. *Biology of Reproduction*, 9(1), 24-29. <https://doi.org/10.1093/biolreprod/9.1.24>

Davis, T. L., Bott, R. C., Slough, T. L., Bruemmer, J. E. and Niswender, G. D. (2010). Progesterone Inhibits Oxytocin- and Prostaglandin F₂α-Stimulated Increases in Intracellular Calcium Concentrations in Small and Large Ovine Luteal

Cells1. *Biology of Reproduction*, 82(2), 282-288. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.079970>

Drion, P. V., Furtoss, V., Baril, G., Manfredi, E., Bouvier, F., Pougard, J.-L., Bernelas, D., Caugnon, P., McNamara, E. M., Remy, B., Sulon, J., Beckers, J.-F., Bodin, L. and Lebœuf, B. (2001). Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: Effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reproduction Nutrition Development*, 41(5), 401–412. <https://doi.org/10.1051/rnd:2001140>

Edwards, M. y Morgan, G. (1999). *Nutrición Animal* (5th ed.). Acribia.

Escorcía Ortiz, P. (2016). *Efecto de distintos protocolos de inseminación artificial cervical con semen fresco sobre la fertilidad de distintos protocolos de inseminación artificial cervical con semen fresco sobre la fertilidad de la oveja pelibuey*. UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México.

Escorcía Ortiz, P. (2019). *Comparación y dinámica folicular de dos protocolos de sincronización de estros con acetato de fluorogestona y glicerol en ovejas pelibuey*. UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México.

Espinosa-Márquez, M. C., Valencia, J., Zarco, L., Escobar-Medina, F. J., Colina-Flores, F. and Arechiga-Flores, C. F. (2004). Effect of fluorogestone acetate on embryo recovery and quality in eCG-superovulated goats with premature luteal regression. *Theriogenology*, 62(3–4), 624–630. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.001>

Evans, G. y Maxwell, W. (1990). *Inseminación Artificial en Ovejas y Cabras*. Acribia.

Ferraro, S. M., Mendoza, G. D., Miranda, L. A. and Gutiérrez, C. G. (2016). In vitro ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses combined with forages and their effect on glucose and insulin blood plasma concentrations after an oral drench in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 213, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.01.010>

Flint, A. P. F. and Sheldrick, E. L. (1983). Evidence for a systemic role for ovarian oxytocin in luteal regression in sheep. *Reproduction*, 67(1), 215–225. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0670215>

Flood, P. F., Stalker, M. J. and Rowell, J. E. (1989). The hair follicle density and seasonal shedding cycle of the muskox (*Ovibos moschatus*). *Canadian Journal of Zoology*, 67(5), 1143–1147. <https://doi.org/10.1139/z89-164>

Flynn, J. D., Duffy, P., Boland, M. P. and Evans, A. C. O. (2000). Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. *Animal Reproduction Science*, 62(4), 285–296. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00124-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00124-X)

Galina, C. y Valencia, J. (2008). *Reproducción de los animales domésticos (3°)*. Limusa.

Gordon, I. (1997). *Controlled reproduction in sheep and goat*. CAB International.

Gordon, I. (2004). *Controlled reproduction in Sheep and Goats (Vol. 2)*. Cab International.

Guo, Y. X., Duan, C. H., Hao, Q. H., Liu, Y. Q., Li, T. and Zhang, Y. J. (2019). Effect of short-term nutritional supplementation on hormone concentrations in ovarian follicular fluid and steroid regulating gene mRNA abundances in granulosa cells of ewes. *Animal Reproduction Science*, 211, 106208. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106208>

Gutierrez, C. G., Ferraro, S., Martinez, V., Saharrea, A., Cortez, C., Lassala, A., Basurto, H. and Hernandez, J. (2011). Increasing ovulation quota: More than a matter of energy. *Acta Scientiae Veterinariae.*, 39, 12.

Hafez, E. S. E. and Hafez, B. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales (7°)*. McGraw Hill.

Hansen, T. R., Bott, R., Romero, J., Antoniazzi, A. and Davis, J. S. (2016). Corpus Luteum and Early Pregnancy in Ruminants. *The Life Cycle of the Corpus Luteum*, 205-225. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43238-0_11

Kholif, A. E. (2019). Glycerol use in dairy diets: A systemic review. *Animal Nutrition*, 5(3), 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.06.002>

Ledezma, J. A., Gallegos-Sánchez, J., Godoy, A. y Méndez, J. (2006). Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: Una revisión. *Interciencia*, 31(1), 8-15. https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina/80-neural.pdf

Mann, G. and Lamming, G. (1999). The Influence of Progesterone During Early Pregnancy in Cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 34(3–4), 269–274. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1999.tb01250.x>

Martemucci, G. and D'Alessandro, A. (1999). Strategie di miglioramento dell'efficienza riproduttiva negli ovini. Sincronizzazione farmacologica degli estri e delle ovulazioni. *Agricoltura Ricerca*, 183.

Martemucci, G. and D'Alessandro, A. G. (2011). *Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2 α , GnRH, eCG treatments for natural service or AL fixed-time*. 123(1–2), 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.11.007>

Martin, G. B. (2009). The “Clean, Green and Ethical” Concept in Animal Production. *Agrociencia*, XIII, 7.

Martin, G. B., Milton, J. T. B., Davidson, R. H., Banchemo Hunzicker, G. E., Lindsay, D. R. and Blache, D. (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 82–83, 231–245. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.014>

Martinuk, D., Black, D., Manning, W. and Murphy, D. (1991). Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. *Biology of Reproduction*, 45, 598–604.

McClure, E., Dubois, H., Bazer, W. and Nephew, K. (1991). *Relationship between Variation in Conceptus Development and Differences in Estrous Cycle Duration in Ewes*. 4.

Menchaca, A., Miller, V., Gil, J., Pinczak, A., Laca, M. and Rubianes, E. (2004). *Prostaglandin F2 α Treatment Associated with Timed Artificial Insemination in Ewes*. *39*(5), 352–355. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00527.x>

Menchaca, A. and Rubianes, E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, *16*(4), 403. <https://doi.org/10.1071/RD04037>

Mirmahmoudi, R., Souri, M., Talebi, J. and Moghaddam, A. (2011). Seasonal variation in hair follicle activity and fibre growth of both male and female Merghoz goats in Western Iran. *Small Ruminant Research*, *100*(2–3), 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.07.002>

Mondal, M., Schilling, B., Folger, J., Steibel, J. P., Buchnick, H., Zalman, Y., Ireland, J. J., Meidan, R. and Smith, G. W. (2011). Deciphering the luteal transcriptome: potential mechanisms mediating stage-specific luteolytic response of the corpus luteum to prostaglandin F2 α . *Physiological Genomics*, *43*(8), 447–456. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00155.2010>

Muñoz-Gutierrez, M., Blache, D., Martin, G. B. and Scaramuzzi, R. J. (2004). Ovarian follicular expression of mRNA encoding the type I IGF receptor and IGF-binding protein-2 in sheep following five days of nutritional supplementation with glucose, glucosamine or lupins. *Reproduction*, *128*(6), 747–756. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00439>

Murphy, B. D. (2012). Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Animal reproduction*, *9*(3), 223–230. [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/animal-reproduction/9-\(2012\)-3/equine-chorionic-gonadotropin-an-enigmatic-but-essential-tool/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/animal-reproduction/9-(2012)-3/equine-chorionic-gonadotropin-an-enigmatic-but-essential-tool/)

Norris, D. O. and Carr, J. A. (2013). Chapter 10—The Endocrinology of Mammalian Reproduction. En *Vertebrate Endocrinology* (5ta ed., pp. 317–374). Academic Press.

Nuncio-Ochoa, G., Toral, J. N., Hernández, B. C. S., Amezcua, F. E. e Izaba, E. B. S. (2001). Caracterización de los sistemas de producción ovina en el estado de Tabasco. *Agrociencia*, 35(4), 469-477. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30235411.pdf>

O'Connell, A. R., Hurst, P. R., Davis, G. H., McNatty, K. P., Taylor, S. L. and Juengel, J. L. (2013). An earlier rise in systemic progesterone and increased progesterone in the uterine vein during early pregnancy are associated with enhanced embryonic survival in the ewe. *Theriogenology*, 80(3), 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.04.006>

Ovinos | Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal. (n.d.). Visitado en marzo 19, 2020, de <http://icamex.edomex.gob.mx/ovinos>

Pinzón, C., Serrano, M. L. y Sanabria, M. E. (2009). Papel de la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) en humanos. *Revista Ciencias de la Salud*, 7(2), 47-66. <http://www.redalyc.org/pdf/562/56216304007.pdf>

Rangel, L. E. (2006). *Papel de la testosterona dentro del proceso de ovulación de las gallinas de postura* UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México. <http://132.248.9.195/pd2006/0608142/Index.html>

Rangel, L. y Hernández, J. (2018). *Fisiología reproductiva de los animales domésticos* UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México.

Rémond, B., Souday, E. and Jouany, J. P. (1993). In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Animal Feed Science and Technology*, 41(2), 121–132. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(93\)90118-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(93)90118-4)

Resumen Nacional. (n.d.). Visitado en marzo 19, 2020, de http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario_siapx_gobmx/ResumenNacional.do

Rojo-Martínez, J. A. and 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 A*, 5(3). <https://doi.org/10.17265/2161-6256/2015.03.009>

Roldán-Roldán, A., García-Martínez, E., Del Río-Araiza, V. H., Berruecos-Villalobos, J. M., Zarco-Quintero, L. A. y Valencia, J. (2016). Edad a la pubertad en

corderas pelibuey, hijas de ovejas con actividad reproductiva estacional o continua, nacidas fuera de temporada. *Agrociencia*, 50(4), 441-448. <http://www.redalyc.org/pdf/302/30246030005.pdf>

Romero Martínez, J. (2012). *Introducción a la zootecnia* (2°). UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México.

Rubianes, E. and Menchaca, A. (2003). The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science*, 78(3-4), 271-287. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00095-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00095-2)

Rubianes, E., Menchaca, A. and Carbajal, B. (2003). Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 α . *Animal Reproduction Science*, 78, 47-55. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00046-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00046-0)

Ruiz-González, I., Sánchez, M., García-Fernández, R. A., García-Palencia, P., Sánchez, B., Letelier, C., Gonzalez-Bulnes, A. and Flores, J. (2012). Endometrial Expression of IFNAR-1 and Oxytocin Receptor (OTR) is not Improved by Prostaglandin Analogues when Compared to Progestagens in Ewes. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01852.x>

Russel, A. J. F., Doney, J. M. and Gunn, R. G. (1969). Subjective assessment of body fat in live sheep. *The Journal of Agricultural Science*, 72(3), 451-454. <https://doi.org/10.1017/S0021859600024874>

SAGARPA. (2015). *Ovino, población ganadera 2006-2015*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166001/ovino.pdf>

Scaramuzzi, R. J., Baird, D. T., Campbell, B. K., Driancourt, M.-A., Dupont, J., Fortune, J. E., Gilchrist, R. B., Martin, G. B., McNatty, K. P., McNeilly, A. S., Monget, P., Monniaux, D., Viñoles, C. and Webb, R. (2011). Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, 23(3), 444. <https://doi.org/10.1071/RD09161>

Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M. and Somchit, A. (2006). A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and

metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, 46(4), 339–354. <https://doi.org/10.1051/rnd:2006016>

Scaramuzzi, R. J. and Land, R. B. (1978). Oestradiol levels in sheep plasma during the oestrous cycle. *Reproduction*, 53(1), 167–171. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0530167>

Scaramuzzi, R. and Martin, G. (2008). The Importance of Interactions Among Nutrition, Seasonality and Socio-sexual Factors in the Development of Hormone-free Methods for Controlling Fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 129–136. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01152.x>

Senger, P. L. (2003). *Pathways to pregnancy and parturition* (2°). Current Conceptions.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera | Gobierno | gob.mx. (2016). Visitado en marzo 19, 2020, de http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario_siap_gb_1/indexnal_gb.html

Sirois, J. and Fortune, J. E. (1990). Lengthening the Bovine Estrous Cycle with Low Levels of Exogenous Progesterone: A Model for Studying Ovarian Follicular Dominance*. *Endocrinology*, 127(2), 916–925. <https://doi.org/10.1210/endo-127-2-916>

Somchit, A., Campbell, B. K., Khalid, M., Kendall, N. R. and Scaramuzzi, R. J. (2007). The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (*Lupinus luteus*), during the luteal phase of the estrous cycle on the number of ovarian follicles and the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid. *Theriogenology*, 68(7), 1037–1046. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.08.001>

Stock, A. E., y Fortune, J. E. (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*, 132(3), 7.

Swelum, A. A.-A., Alowaimer, A. N. and Abouheif, M. A. (2015). Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology*, 84(4), 498–503. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.018>

Viñoles, C. (2003). *Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe*. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G. and Rubianes, E. (2001). Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55(4), 993–1004. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00460-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00460-5)

Viñoles, C., Forsberg, M., Martin, G. B., Cajarville, C., Repetto, J. and Meikle, A. (2005). Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction*, 129(3), 299–309. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00536>

Viñoles, C., Meikle, A., Forsberg, M. and 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(7), 1351–1361. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00079-5)

Viñoles, C., Meikle, A. and Martin, G. B. (2009). Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*, 113(1–4), 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.05.079>

Viñoles, C., Paganoni, B. L., McNatty, K. P., Heath, D. A., Thompson, A. N., Glover, K. M. M., Milton, J. T. B. and Martin, G. B. (2014). Follicle development, endocrine profiles and ovulation rate in adult Merino ewes: Effects of early nutrition (pre- and post-natal) and supplementation with lupin grain. *Reproduction*, 147(1), 101–110. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0104>

Wildeus, S. (1997). Hair sheep genetic resources and their contribution to diversified small ruminant production in the United States. *Journal of Animal Science*, 75(3), 630. <https://doi.org/10.2527/1997.753630x>

Wildeus, S. (2000). Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal of Animal Science*, 77(E-Suppl), 1. <https://doi.org/10.2527/jas2000.00218812007700ES0040x>

Zalduegui, P. C. (1975). *Bioquímica de las fermentaciones*. Universidad Politécnica.

Zavaleta, E. (1976). Los ácidos grasos volátiles, fuente de energía en los rumiantes. *Ciencia Veterinaria*, 1(9). <https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CVv1c09.pdf>

