



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**TRATAMIENTOS CORTOS PARA SINCRONIZAR ESTRO CON
ACETATO DE FLUGESTONA, PROGESTERONA NATURAL Y
LA COMBINACIÓN DE PROSTAGLANDINA F_{2α} Y GnRH EN
OVEJAS**

BLAS ROGELIO AVILA CASTILLO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2009

La presente tesis titulada: **Tratamientos cortos para sincronizar estro con acetato de flugestona, progesterona natural y la combinación de prostaglandina F_{2α} y GnRH en ovejas**, realizada por el alumno: BLAS ROGELIO AVILA CASTILLO, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERIA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

Dra. Ma. Teresa Sánchez-Torres Esqueda

ASESOR

Dra. Ma. Esther Ortega Cerrilla

ASESOR

Dr. José G. Herrera Haro

ASESOR

Dr. José Ayala Oseguera

ASESOR

Dr. Enrique Octavio García Flores

Montecillo, Texcoco Estado de México, Julio de 2009

TRATAMIENTOS CORTOS PARA SINCRONIZAR ESTRO CON ACETATO DE FLUGESTONA, PROGESTERONA NATURAL Y LA COMBINACIÓN DE PROSTAGLANDINA F_{2α} Y GnRH EN OVEJAS

BLAS ROGELIO AVILA CASTILLO, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2009.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del acetato de flugestona (FGA) y progesterona natural (P₄) por periodos cortos y la combinación de GnRH y PGF_{2α} en la sincronización del estro en ovejas. En el experimento 1, se utilizaron 40 ovejas adultas (cruzas de Katahdin y Pelibuey) que fueron asignadas al azar a uno de cuatro tratamientos: T1, grupo testigo, tres aplicaciones de PGF_{2α} con nueve días de intervalo entre cada aplicación ; T2, inserción de esponjas intravaginales con 40 mg de FGA por 11 días y aplicación de PGF_{2α} el día del retiro de las esponjas; T3, inserción de esponjas intravaginales con 40 mg de FGA por 5 días y aplicación de PGF_{2α} el día del retiro de las esponjas; T4, aplicación de 50 µg de GnRH el día -9 y aplicación de PGF_{2α} el día del retiro de las esponjas, día 0= día del estro en las ovejas. Todos los tratamientos fueron presincronizados con doble aplicación de PGF_{2α} con intervalo de 9 días. La presentación de estros fue de 80% en las ovejas del grupo T1, 100% en los grupos T2 y T3 y de 90% en el grupo T4, sin diferencias (P>0.05) entre grupos. Se obtuvo un 90% de gestación para los grupos T1, T3 y T4, el menor porcentaje de gestación fue de 60% para el grupo T2, con diferencias entre grupos (P<0.05). Se observó un aumento en concentración de progesterona (P₄) entre los días 4 al 11, con excepción de las ovejas del grupo T4 que mostraron mayor secreción de P₄ en el día 15 (P<0.05). Por lo que, los tratamientos de FGA por 5 días, aplicación de PGF_{2α} y la combinación de GnRH más PGF_{2α} tienen mejores resultados en porcentaje de gestación en comparación al tratamiento con FGA por periodos de 11 días. En el experimento 2, se utilizaron 40 corderas púberes (cruzas de Katahdin y Dorper) que fueron asignadas al azar a uno de cuatro tratamientos (n=10); T1, grupo testigo, aplicación de tres inyecciones intramusculares de PGF_{2α} con nueve días de intervalo entre cada aplicación y una inyección de un análogo de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el día -8; T2, aplicación intravaginal de 300 mg de P₄ mediante un dispositivo liberador de la hormona (CIDR-G) por 11 días; T3, aplicación intravaginal de un CIDR-G por 8 días; T4, aplicación intravaginal de un CIDR-G por 5 días. El día del retiro de los dispositivos (día -2) se aplicó una dosis de PGF_{2α} en todos los grupos. La presentación de estro fue de 50% para el grupo T1, de 100% para los grupos T2 y T3 y 90% para el grupo T4. Las concentraciones de progesterona fueron altas en los días 9 y 12 en todos los grupos, lo que corresponde a la secreción normal por parte del cuerpo lúteo. Bajo las condiciones en que se realizó el experimento 2, la aplicación de un CIDR-G por 8 ó 5 días no afecta la sincronización de estro y porcentaje de partos en corderas.

Palabras clave: sincronización de estro, acetato de flugestona, progesterona, partos, ovejas.

**SHORT TREATMENTS FOR ESTROUS SYNCHRONIZATION WITH
FLUGESTONE ACETATE, NATURAL PROGESTERONE AND THE
COMBINATION OF PROSTAGLANDIN F_{2α} AND GnRH IN EWES
BLAS ROGELIO AVILA CASTILLO, Dr.**

Colegio de Postgraduados, 2009

The aim of this study was to evaluate the effect of acetate of flugestone (FGA) and natural progesterone (P₄), in short periods, as well as the combination of GnRH and PGF_{2α} in the synchronization of estrus in ewes. In experiment 1, forty adult ewes (crossbreed Katahdin and Pelibuey) were assigned at random to one of four treatments: T1, control group, three applications of PGF_{2α} with nine days of interval between each application; T2, animals in this group were implanted with intravaginal sponges containing 40 mg of FGA for 11 days and an injection of PGF_{2α} when sponges were withdrawn; T3, ewes received intravaginal sponges with 40 mgs of FGA for 5 days and an injection of PGF_{2α} when sponges were withdrawn; T4, application of 50 µg of GnRH on the 9th day and an injection of PGF_{2α} the day when sponges were withdrawn, day 0= day of estrous in the ewes. All treatments were presynchronous with a double injection of PGF_{2α} with interval of 9 days. The presentation of estrous was of 80% in the ewes of group T1, 100% for groups T2 and T3, and of 90% in the group T4, without differences (P> 0.05) between groups. A 90% of gestation for groups T1, T3 and T4 were obtained, the smallest percentage of gestation was 60% for group T2, with significant differences (P<0.05). An increase in progesterone concentration was observed between days 4 and 11, except for animals of the T4 group that showed a greater progesterone secretion in day 15 (P<0.05). In this experiment, the treatments of FGA for 5 days, injection of PGF_{2α} and the combination of GnRH plus PGF_{2α} showed better results in percentage of gestation compared to the treatment with FGA for 11 days. In experiment 2, forty ewe lambs (crossbreed of Katahdin and Dorper) were assigned at random to one of four treatments (n=10); T1, control group, injection of three PGF_{2α} with nine days of interval between each injection and an injection of an analogue of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the day -8, day 0= day estrous in the lambs; T2, intravaginal insertion of 300 mg of progesterone using an intravaginal device controlling drug release (CIDR-G) for 11 days; T3, intravaginal insertion of a CIDR-G for 8 days; T4, intravaginal insertion of a CIDR-G for 5 days. The day of the devices removal (day -2) a dose of PGF_{2α} was injected in all groups. Estrous percentage was of 50% for group T1, 100% for the groups T2 and T3 and 90% for the T4 group. The percentage of lambing was 40% for group T1, 70% for groups T2 and T3, and 80% for the T4 group. Progesterone concentrations were high in days 9 and 12 in all the groups, due to the normal function of the corpus luteum. Under the conditions of this experiment, the application of a CIDR-G for 8 or 5 days did not affect the synchronization of estrous and the percentage of lambing in ewes.

Key words: estrous synchronization, flugestone acetate, progesterone, lambing, ewes.

DEDICATORIA

A mi esposa Rosana que me ha apoyado en todo momento y me ha dado la dicha más grande que es ser padre de mis dos hijos, Denís Valentína y Rogelio, que motivan mi existencia.

A mis padres, Blas Avila Ruiz y Remedios Castillo Rodríguez que siempre me han apoyado y me dieron el ser.

A mis hermanos, Marco Polo, Lorena, Marisol y Maribel.

A todos mis familiares que siempre han estado conmigo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Teresa Sánchez-Torres Esqueda, por los conocimientos, comentarios, y apoyo brindado durante todo el tiempo del doctorado.

A mis asesores Dr. Enrique Octavio García Flores por todo el apoyo brindado para la realización de los experimentos y mi estancia en Autlán, a la Dra. Ma. Esther Ortega Cerrilla, Dr. José G. Herrera Haro, Dr. José Ayala Oseguera, por todos los conocimientos y sugerencias para la realización de la tesis.

Al Biólogo Mario Cárdenas, del Laboratorio de hormonas proteicas y esteroides del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, departamento de Biología de la Reproducción, por su colaboración en la realización de los análisis de hormona progesterona.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por su apoyo a través de la beca con la cual fue posible mi estancia en el doctorado.

A todos mis amigos, compañeros y personal de apoyo del programa de Ganadería.

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
Ciclo estral en ovejas.....	2
Gonadotropinas.....	3
Fase folicular.....	4
Foliculogénesis.....	4
Gonadotropinas de la fase folicular.....	9
Cuerpo lúteo.....	11
Control luteotrópico del cuerpo lúteo (CL).....	11
Diferenciación de células lúteas.....	12
Control hipofisiario del CL.....	13
Estímulo luteolítico.....	13
Sincronización de estro con progesterona (P ₄) y progestágenos..	14
Esponjas intravaginales.....	15
Dispositivo controlador interno de progesterona (CIDR)...	16
Implantes de norgestomet.....	17
Acetato de melengestrol.....	18
LITERATURA CITADA.....	20
SINCRONIZACIÓN DE ESTRO CON ACETATO DE FLUGESTONA, GnRH Y PROSTAGALNDINA F _{2α} EN OVEJAS.....	32
RESUMEN.....	32
ABSTRACT.....	33
INTRODUCCIÓN.....	34
MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
Localización del área de estudio.....	35

Animales experimentales.....	35
Sincronización de estros.....	35
Detección de estros y monta natural.....	36
Muestreo sanguíneo para determinar P ₄	37
Análisis hormonales.....	37
VARIABLES ESTUDIADAS.....	37
Análisis estadístico.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
Presentación de estros.....	39
Inicio del estro.....	40
Duración del estro.....	41
Porcentaje de gestación.....	42
Porcentaje de partos.....	43
Concentración plasmática de P ₄	44
CONCLUSIÓN.....	45
LITERATURA CITADA.....	46
TRATAMIENTOS CORTOS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL LIBERADOR DE DROGAS (CIDR) Y PGF _{2α} EN LA SINCRONIZACION DE ESTRO EN CORDERAS.....	50
RESUMEN.....	50
ABSTRACT.....	51
INTRODUCCIÓN.....	52
MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
Localización del área de estudio.....	53
Animales experimentales.....	53
Sincronización de estros.....	53
Detección de estros y monta natural.....	54
Muestreo sanguíneo para determinar P ₄	55
Análisis hormonales.....	55
Variables estudiadas.....	55
Análisis estadístico.....	55
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57

Presentación de estros.....	57
Inicio del estro.....	58
Duración del estro.....	58
Porcentaje de partos.....	59
Concentraciones plasmáticas de P ₄	60
CONCLUSIÓN.....	62
LITERATURA CITADA.....	63
CONCLUSION GENERAL.....	67
ANEXO 1.....	68
Concentraciones plasmáticas de P ₄ con base en la comparación de medias por tratamiento.....	68
Experimento 1.....	68
Experimento 2.....	76
ANEXO 2	
Comparación de medias por tratamiento de inicio y duración del estro del experimento 2.....	87

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
Experimento 1	
Cuadro 1. Presentación del estro, inicio del estro, duración del estro, porcentaje de gestación y de partos, después de finalizados los tratamientos.....	40
Cuadro 2 Concentraciones plasmáticas de P ₄ después de terminados los tratamientos (media ± error estándar, ng mL ⁻¹).....	44
Experimento 2	
Cuadro 1. Presentación del estro, inicio del estro, duración del estro y porcentaje de partos, después de finalizados los tratamientos.....	59
Cuadro 2 Concentraciones plasmáticas de P ₄ después de terminados los tratamientos (media ± error estándar, ng mL ⁻¹).....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Experimento 1	
Figura 1. Secuencia experimental de la sincronización del estro en ovejas.....	36
Figura 2. Concentraciones plasmáticas de P ₄	45
Experimento 2	
Figura 1. Secuencia experimental de la sincronización del estro en ovejas.....	54
Figura 2. Concentraciones plasmáticas de P ₄	62

INTRODUCCIÓN GENERAL

El censo nacional mexicano de ovinos reportó 5, 804,405 cabezas de ganado en 1998 y aumentó a 6, 417,080 para el 2002 (INEGI, 2004b). En el 2002, el estado de Jalisco tuvo un inventario de 124,290 ovinos y en el 2003 aumentó a 233,780, representando un incremento del 88 % en sólo un año; en el 2003 la Región Costa Sur de Jalisco contó con 11,884 y el municipio de Autlán de Navarro con 1,697 cabezas de ganado ovino (INEGI, 2004a). Esto indica que la actividad ovina en México ha venido creciendo en los últimos años, tanto en producción animal como en consumo de carne.

Uno de los aspectos más importantes en la producción animal es la reproducción y es el punto donde se deben dirigir los esfuerzos para aumentar la eficiencia productiva, lo cual se puede lograr mediante el aumento del número de corderos nacidos y por consecuencia del número de animales en engorda (Larson *et al.*, 1991; López-Sebastián *et al.*, 2001). La implementación de tecnologías como la sincronización de estros y ovulación permite que grupos de ovejas manifiesten estro en determinado momento, para realizar la monta natural o inseminación artificial, agrupar nacimientos, logrando con esto programar destetes y vender animales por partidas (Molina *et al.*, 2005).

Los métodos más utilizados para inducción y sincronización de estro comprenden la utilización de progesterona, progestágenos, administración de gonadotropina coriónica equina y prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Uribe *et al.*, 2008).

La sincronización de estro puede ser afectada por el patrón reproductivo, sin embargo, con la utilización de progestágenos o progesterona se puede manipular la época reproductiva, inducir actividad cíclica en hembras anovulares y acortar el ciclo de producción (Wildeus, 2000).

REVISIÓN DE LITERATURA

Ciclo estral en ovejas

El ciclo estral se define como el tiempo que ocurre entre dos estros, con periodos regulares pero limitados de receptividad sexual, asociados, en la mayoría de los casos, con la liberación de óvulos capaces de ser fertilizados (Galina *et al.*, 1986). Las razas de ovejas originarias de climas templados son poliéstricas estacionales, produciéndose el estro y la ovulación solo en días con menos horas luz, manteniéndose en anestro el resto del año. Las razas de ovejas originarias de clima tropical son consideradas poliéstricas continuas, con un comportamiento reproductivo constante durante el año, siempre que no existan factores, como los nutricionales que se lo impidan (Cambellas, 1993).

El ciclo reproductivo de la oveja tiene una duración de 16 a 17 días y está caracterizado por una fase lútea (13-14 d) seguida de una fase folicular (3-4 d). El cambio de una fase a otra se debe principalmente a la producción secuencial de dos esteroides, progesterona (P_4) y estradiol (E_2), producidos por los ovarios, que ejercen retroalimentación positiva o negativa en el pulso hipotalámico generador de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH; Caraty y Skinner, 1999).

Durante la mayor parte de la fase lútea, la P_4 producida por el cuerpo lúteo (CL) aumenta su secreción y poder inhibitorio sobre la secreción de GnRH (Caraty y Skinner, 1999). El cuerpo lúteo es la continuación de la maduración folicular (Smith, 1986) y tiene un papel clave en los procesos reproductivos y además es uno de los pocos órganos de la hembra adulta que

exhibe periodos de crecimiento, diferenciación y regresión (Grazul-Bilska *et al.*, 1996).

Durante la fase folicular seguida de la caída en concentración de P_4 , la hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) aumentan su secreción, lo que estimula la liberación de E_2 por parte de los folículos (Caraty y Skinner, 1999). En la oveja (Evans *et al.*, 1997), y en la vaca (Savio *et al.*, 1988; Mihm *et al.*, 1996), el aumento de concentración de E_2 inicia una cascada de eventos neuroendocrinos que culminan en la generación del pulso preovulatorio de LH. En la producción de este pulso, el E_2 actúa a nivel de glándula hipófisis aumentando la respuesta a GnRH y a nivel hipotalámico estimulando una larga y sostenida elevación de GnRH (Evans *et al.*, 1997). De esta forma el aumento de P_4 durante la fase lútea del ciclo estral es esencial para la completa expresión del efecto de retroalimentación positiva del E_2 en la inducción del pulso preovulatorio de GnRH y LH en la oveja (Caraty y Skinner, 1999).

Gonadotropinas

La hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) es un decapeptido liberado desde las terminales neurosecretorias de la eminencia media hipotalámica del cerebro para estimular la liberación de las gonadotropinas LH y FSH por parte de la glándula pituitaria anterior (Schally *et al.*, 1971).

Este péptido hipotalámico también llamado GnRH es la principal señal cíclica regulatoria neuroendocrina para iniciar la secreción de gonadotropinas en la hembra (Bauer-Dantoin, 1995).

La unión de GnRH a sus receptores, presentes en la membrana citoplasmática en los gonadotropos de la hipófisis anterior, inicia una cascada de eventos necesarios para síntesis y secreción de LH y FSH (Hamernik *et al.*, 1995). La regulación de receptores a GnRH es importante porque la cantidad de LH liberada en respuesta a un reto fisiológico con GnRH es dependiente de la concentración de sus receptores (Turzillo *et al.*, 1998).

La elevación preovulatoria de gonadotropinas en la oveja como en otras hembras es inducida por elevación de E₂ en la circulación sanguínea, el cual estimula la secreción de GnRH por el hipotálamo, el aumento en la secreción de GnRH estimula a la pituitaria que a su vez inicia la elevación en secreción de LH (Bowen *et al.*, 1998). La elevación en concentración de FSH ocurre al mismo tiempo que la elevación de LH y el pico preovulatorio de LH y FSH ocurre aproximadamente un día antes de la ovulación (Haughian *et al.*, 2004).

Fase folicular

Los ovarios de las hembras mamíferas tienen un gran número de folículos primordiales, cada uno de los cuales consiste de un oocito en arresto de la profase I de la meiosis y de una sola capa plana de células de la granulosa (Fortune, 1994; McGee y Hsueh, 2000). Este gran número de folículos se desarrolla durante la vida fetal en rumiantes. Una vez que los folículos primordiales se han establecido, gradual y continuamente salen del arresto e inician su crecimiento (Fortune, 1994; Wandji *et al.*, 1996).

Foliculogénesis

La foliculogénesis en la oveja ocurre desde la pubertad y a través de la vida adulta, durante este tiempo solo unos pocos folículos de un grupo de

varios millones crecerán a un tamaño ovulatorio y un número aun menor llegará a ovular (Souza *et al.*, 1997). Así, los folículos salen del grupo de folículos primordiales y entran a la fase de crecimiento, en la cual experimentan un complejo proceso de desarrollo que incluye proliferación y diferenciación de varias de sus capas celulares. A este mismo tiempo el oocito, presente dentro del folículo, desarrolla cambios necesarios para reanudar la meiosis después de la elevación preovulatoria de gonadotropinas (Montgomery *et al.*, 2001).

En la oveja los estadios de desarrollo folicular han sido clasificados a partir de las células de la granulosa, los folículos primordiales tienen una sola capa de células aplanadas de la granulosa; los folículos primarios tienen ya una capa de células cuboidales; los folículos secundarios y terciarios tienen dos o tres capas de células cuboidales, respectivamente; los folículos preantrales tienen múltiples capas de células de la granulosa; y folículos antrales tienen una pequeña cavidad antral (Wandji *et al.*, 1996; Campbell *et al.*, 2004).

En estado antral la mayoría sufren degeneración por atresia, mientras unos pocos de ellos, bajo el estímulo cíclico de gonadotropinas que ocurre desde la pubertad, alcanzan el estado preovulatorio (McGee y Hsueh, 2000).

De acuerdo al índice mitótico de las células foliculares de la granulosa a diferentes niveles de desarrollo, se sugiere que la duración de la foliculogénesis en la oveja es de entre cuatro a seis meses, con la mayoría de este tiempo dedicado al crecimiento de folículos primarios a un diámetro de 2.5 mm (Cahill, 1981). Durante este tiempo, el crecimiento puede ser independiente de gonadotropinas, hay poca selección y todo esto ocurre con una mínima secreción de E₂ (Cahill y Mauleon, 1980).

England *et al.* (1981) mencionaron que el ambiente hormonal en el plasma sanguíneo de los ovarios, es similar para todos los folículos, sin embargo el destino de cada folículo es diferente. Campbell *et al.* (2004) muestran evidencia en ovejas de que las gonadotropinas pueden afectar el desarrollo de folículos preantrales. FSH modula la proliferación de células de la granulosa, su diferenciación y estimula la formación del antro. Los estudios *in vitro* han demostrado que la FSH por si misma es capaz de estimular el desarrollo de folículos preantrales (Newton *et al.*, 1996).

En la oveja el reclutamiento antral folicular inicial es a 2.5 mm de diámetro aproximadamente (Souza *et al.*, 1997), este empieza después de alcanzada la pubertad y es el resultado del aumento de FSH en la circulación durante cada ciclo reproductivo (McGee y Hsueh, 2000; Bartlewski *et al.*, 2000), durante este periodo, solo un limitado número de folículos sobrevive y la vía común que siguen es la atresia (Baird y McNeilly, 1981; Fortune, 1994). Los oocitos de estos folículos ya han completado su crecimiento, han adquirido una zona pelúcida y son capaces de reanudar la meiosis (Baird y McNeilly, 1981).

Una vez que los folículos han formado el antro, la remoción de gonadotropinas induce a la atresia inmediata, pero aún en presencia de gonadotropinas la mayoría de los folículos antrales llegan a ser atrésicos y solo una pequeña minoría llega a ovular, si un folículo en especial llega a ser atrésico o no depende de su sensibilidad a gonadotropinas; la cual está directamente asociado al número de receptores para LH y FSH (Baird y McNeilly, 1981).

El reclutamiento folicular no es al azar o un fenómeno aislado; por el contrario los folículos parecen ser reclutados por grupos, sugiriendo que han

alcanzado la señal que les permitirá seguir creciendo y desarrollándose. La señal que estimula el reclutamiento parece ser una pequeña elevación de FSH en plasma sanguíneo (Fortune, 1994).

Se ha demostrado en ovejas (McNeilly *et al.*, 1982) y en vacas (Gong *et al.*, 1996) que el desarrollo de folículos antrales a un diámetro mayor de 2 a 4 mm, es totalmente dependiente del soporte gonadotrópico y que FSH y LH actúan conjuntamente para controlar el desarrollo y selección de folículos antrales (Picton *et al.*, 1990).

Bartlewski *et al.* (2000) encontraron una elevación transitoria de FSH en circulación sanguínea 2 a 3 días previos a la emergencia de un grupo de folículos de 3 mm. En este mismo sentido, cuando se disminuye la secreción de FSH por tratamiento con fluido folicular o inhibina (Campbell *et al.*, 1991a, b) o se inhibe secreción de FSH con aplicación de un antagonista para GnRH (Campbell *et al.*, 1997) el resultado es una rápida disminución y atresia de folículos de tamaño ovulatorio, lo que demuestra la importancia del soporte gonadotrópico durante este tiempo.

Existe evidencia de que LH puede influenciar directa y indirectamente el desarrollo y mantenimiento de folículos antrales. En la oveja se conoce que la maduración y desarrollo final de folículos antrales hacia la ovulación seguida de la luteólisis es dependiente del aumento en secreción pulsátil de LH, mientras FSH es disminuida por una gran cantidad de E₂ e inhibina, que son secretados por el folículo ovulatorio (Baird, 1983).

Adicionalmente la LH también puede afectar indirectamente el desarrollo folicular a través de su acción esteroideogénica. La principal acción de la LH

sobre la secreción de esteroides es la conversión de colesterol a pregnenolona (Caffrey *et al.*, 1979). La conversión de colesterol a pregnenolona es un paso inicial en la síntesis de esteroides, por lo que la síntesis de todos los esteroides ováricos se ve aumentada después de la administración de LH y al ser ésta de liberación pulsátil, cada pulso de LH es seguido por un aumento de secreción de E₂ en el ovario (Campbell *et al.*, 2007), de tal forma que el nivel de secreción de E₂ ovárico es dependiente no solo de la presencia de un folículo estrogénico en el ovario sino también del patrón pulsátil de LH al cual los folículos están expuestos (Campbell *et al.*, 1999).

Las ondas de crecimiento folicular no solo están asociadas a cambios morfológicos y funcionales en las células de la granulosa y teca, también están relacionados a cambios en la vascularización. Debido a que los folículos pequeños incluyendo folículos primordiales, pueden sintetizar factores de crecimiento, es posible que durante la fase de desarrollo inicial también sean receptivos a factores de crecimiento (Logan *et al.*, 2002). Se conocen varios sistemas regulatorios locales bien definidos, el sistema de crecimiento parecido a la insulina (IGF), la superfamilia de componentes del factor de transformación de crecimiento β (TGF- β), los factores de crecimiento del fibroblasto (FGFs) y el factor del crecimiento epidermal (EGF)/familia del factor del crecimiento de transformación α (TGF- α)(Amstrong y Webb, 1997).

El o los folículos seleccionados por dominancia de cada onda de crecimiento folicular no solo continúan creciendo, también se diferencian funcionalmente en vías de prepararse para la ovulación y una potencial gestación de la hembra (Fortune, 1994). En vacas, la cauterización del folículo dominante de la primera onda folicular adelanta la emergencia de la segunda

onda folicular del ciclo (Ko *et al.*, 1991). Esto indica que la vida media del folículo dominante influye sobre el tiempo de inicio de la próxima elevación endógena de FSH. Tal concepto ha sido sugerido en la oveja (Evans *et al.*, 2002), aunque esto no ha sido apoyado por Duggavathi *et al.* (2004) quienes mencionan que el folículo grande (aparente folículo dominante) de la onda folicular inducida por administración exógena de FSH ovina, no pospuso la siguiente elevación endógena de FSH y la emergencia de una nueva onda folicular.

Aun cuando se ha reportado la emergencia de 3 a 4 ondas foliculares en cada ciclo estral ovino (Duggavathi *et al.*, 2003), el concepto de dominancia folicular no parece ser tan convincente en las ovejas como es en las vacas (Driancourt, 2001) al menos en las razas de ovejas las cuales son estrictamente monovulatorias (López-Sebastián *et al.*, 1997). También es evidente, que el aparente folículo dominante no impide el desarrollo de folículos a tamaño ovulatorio (Evans, 2003).

Gonadotropinas de la fase folicular

El crecimiento y desarrollo de folículos ováricos desde la fase preantral hasta el estado preovulatorio es regulado por gonadotropinas hipofisiarias, LH y FSH. Estas gonadotropinas ejercen su efecto sobre células somáticas del ovario vía receptores específicos unidos a la membrana que exhiben patrones alternados de expresión, los receptores para FSH se encuentran exclusivamente sobre células de la granulosa de folículos ováricos de estado primario hasta preovulatorios, mientras que los receptores para LH se desarrollan primero sobre células de la teca interna en estado terciario de

desarrollo y su patrón de expresión es mantenido a través del estado preovulatorio (Campbell *et al.*, 2004).

La secreción hipofisiaria de LH es pulsátil en rumiantes domésticos y la amplitud y frecuencia de su patrón de secreción pulsátil varía a través del ciclo estral en respuesta del nivel y tipo de retroalimentación de esteroides ováricos (Thiery y Martin, 1991). En contraste, concentraciones periféricas de FSH no son detectadas de manera pulsátil en ovejas y vacas, y la liberación hipofisiaria de FSH es controlada por acción sinérgica de E₂ e inhibina (Baird *et al.*, 1990).

Las gonadotropinas estimulan la esteroidogénesis, en las células de la granulosa y células de la teca, después que estas interaccionan con los receptores y activan los procesos dependientes de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC). Esto aumenta la síntesis y acumulación de E₂ en la circulación general y en el fluido folicular (Ireland, 1987).

El aumento de secreción de E₂ por parte del folículo preovulatorio es debido al repetido estímulo pulsátil de LH, ya que durante la fase folicular la secreción pulsátil de LH es de baja amplitud y alta frecuencia. Mientras la concentración de E₂ se aumenta durante la fase folicular del ciclo estral, la pituitaria va aumentando su sensibilidad a GnRH (Baird, 1978).

La elevación preovulatoria de LH es generada por aumento en circulación de los niveles de E₂, el cual aumenta la liberación de GnRH hacia la circulación portal hipotálamo-pituitaria y maximiza la respuesta de los gonadotropos al GnRH (Harris *et al.*, 1998).

Cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina, continuación del desarrollo y maduración las células lúteas de la granulosa y células de la teca a partir del folículo ovulatorio, proceso conocido como luteinización (Smith, 1986). La P_4 , principal esteroide secretado por el CL, es un importante regulador de la longitud del ciclo estral y es esencial para el mantenimiento de la gestación (Garverick *et al.*, 1992).

El CL está formado por una población heterogénea de células que tienen distintas propiedades morfológicas, endocrinológicas y bioquímicas. Los tipos de células que han sido identificadas en los rumiantes domésticos incluyen células lúteas chicas, células lúteas grandes, fibroblastos, células capilares endoteliales y pericitos (Smith *et al.*, 1994; Wiltbank, 1994).

Las células esteroideogénicas del CL han sido clasificadas de acuerdo a su tamaño en células chicas y células grandes, se sabe que durante la luteinización las células de la teca y de la granulosa migran y se distribuyen en el espacio que previamente fue ocupado por el folículo ovulatorio (Smith *et al.*, 1994).

Control luteotrópico del cuerpo lúteo (CL)

La luteinización comienza antes de la ovulación en respuesta a la elevación de gonadotropinas, siendo LH la hormona más importante para la ruptura del folículo y su posterior transformación en una estructura lútea. Sin embargo la luteinización y secreción de P_4 puede ocurrir en ausencia de la ovulación en la oveja y ganado vacuno, debido a que el mecanismo asociado a la luteinización no es dependiente de la ruptura folicular (Smith *et al.*, 1994). LH

provoca cambios en las paredes del folículo, que lo conducen hacia su ruptura, posteriormente a la ovulación se inicia la formación del CL que va aumentando de peso, así es como llega a ser una estructura altamente vascularizada, debido al aumento en tamaño de sus células (Baird, 1992).

Diferenciación de células lúteas

Smith *et al.* (1994) mencionan que las células lúteas chicas y grandes son derivadas de células de la teca y la granulosa, respectivamente. No obstante se ha reportado que durante el ciclo estral ovino, las células lúteas grandes aparecen primero, aproximadamente 8 h después del estro y aumentan su número en los días 12-14, lo que sugiere que las células lúteas chicas pueden desarrollarse hacia células lúteas grandes (Smith, 1986), ésta transición esta modulada por LH (Smith *et al.*, 1994). Grazul-Bilska *et al.* (1996) y Niswender *et al.* (1994) mencionan que células lúteas chicas y grandes están comunicadas a través de uniones GAP, bajo el estímulo de LH y AMPc.

Junto con el aumento en diámetro celular que ocurre durante la luteinización también hay cambios mayores en esteroidogénesis. La producción de P_4 aumenta 10 veces debido al aumento inicial de enzimas esteroidogénicas (previo a la producción de P_4), mientras la producción de andrógenos y estrógenos disminuye debido a la pérdida de enzimas necesarias para su esteroidogénesis (Wiltbank y Niswender, 1992). Las células lúteas grandes secretan 20 veces mas P_4 que las células lúteas chicas (Smith, 1986).

La secreción de P_4 es estimulada en su mayoría por los pulsos de LH a través de un sistema de segundo mensajero, el cual involucra la hormona proteica LH como primer mensajero, que se une a un receptor de membrana

convirtiendo al trifosfato de adenosina (ATP) en 3',5' monofosfato cíclico de adenosina (AMPc; segundo mensajero) por la enzima adenilato ciclasa, posteriormente el AMPc depende de una proteína quinasa para estimular una respuesta intracelular que es la esteroidogénesis (Smith, 1986).

Control hipofisiario del CL

En la fase lútea, LH es secretada en una serie de pulsos los cuales varían de cerca uno por hora en el día 1 (día 0= día del estro) a un pulso cada 4-6 h para el día 12 del ciclo estral. Así LH es necesaria para una adecuada función lútea, aunque el CL inicial parece ser más resistente a la deprivación del soporte luteotrópico de LH. En contraste, el CL de la fase lútea media es más dependiente de LH, ya que la eliminación del estímulo de esta hormona resulta en la rápida disminución de secreción de P_4 (Baird, 1992).

Estímulo luteolítico

Uno de los principales efectos en la diferenciación del CL es la adquisición de la capacidad para su regresión. El CL es refractario a la acción de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) durante el inicio de la fase lútea (primeros 5 días después de la ovulación). Pero hacia el día 6 después de la ovulación una inyección de $PGF_{2\alpha}$ puede causar regresión del CL en la oveja (Wiltbank y Niswender, 1992).

La $PGF_{2\alpha}$ es secretada por el útero en hembras no gestantes (Silvia y Niswender, 1984; Pate, 1994) y es transferida al ovario vía un mecanismo de contracorriente vena-arterial. Como consecuencia del aumento en producción uterina de $PGF_{2\alpha}$ o por administración exógena, el flujo de sangre hacia el ovario se reduce, la producción y secreción de P_4 declina y el CL sufre

regresión estructural (Nishimura *et al.*, 2008) y pasa a formar un cuerpo albicans no funcional (Sawyer *et al.*, 1990). La acción luteolítica de esta hormona es mediada principalmente por células lúteas grandes, las cuales poseen la mayoría de los receptores a prostaglandinas (Silvia y Niswender, 1984; Pate, 1994). Al inicio de la fase lútea, la P_4 inhibe la síntesis de receptores a E_2 en el endometrio, durante este tiempo la concentración de receptores a E_2 y hormona oxitocina están disminuidos, ya en la fase lútea tardía el efecto inhibitorio de P_4 sobre los receptores a E_2 y oxitocina disminuye, lo que permite el aumento en receptores a E_2 y oxitocina en el endometrio. La unión de oxitocina a sus receptores estimula la secreción de $PGF_{2\alpha}$ y esta a su vez puede estimular la secreción lútea de oxitocina, de manera que se establece un mecanismo de retroalimentación positiva entre oxitocina y $PGF_{2\alpha}$, lo que asegura que ocurra la luteólisis (Garverick *et al.*, 1992).

Por otra parte la aplicación consecutiva de E_2 , después del día 8 del ciclo estral, resulta en luteólisis en la oveja (Piper y Foote, 1970; Bolt y Hawk, 1975). La luteólisis inducida por E_2 probablemente es mediada por estímulo en secreción de $PGF_{2\alpha}$ uterina, ya que la presencia de $PGF_{2\alpha}$ en la vena uterina se aumenta con la aplicación con E_2 en los días 9 y 10 del ciclo estral de la oveja (Kittok y Britt, 1977).

Sincronización de estro con progesterona (P_4) y progestágenos

Los tratamientos para el control del estro y la ovulación permiten inducir y sincronizar el estro en hembras anéstricas y sincronizar el momento de la presentación del estro en hembras ciclando (Uribe *et al.*, 2008).

Los métodos más utilizados para la sincronización de estro están enfocados en la manipulación de la fase lútea o la fase folicular del ciclo estral. En ovejas la fase lútea es más susceptible de manipular, debido a que tiene una mayor duración y mejor respuesta (Wildeus, 2000). Los métodos más utilizados durante esta fase son las aplicaciones de P_4 , progestágenos y $PGF_{2\alpha}$ (y sus análogos) (Uribe *et al.*, 2008).

Esponjas intravaginales

Las esponjas intravaginales han sido el tratamiento de elección para sincronizar el estro en pequeños rumiantes, ya sea durante la temporada reproductiva o de anestro. Las esponjas están impregnadas con progestágenos como el acetato de fluorogestona (FGA; Macías *et al.*, 2005) o con acetato de medroxiprogesterona (MAP; Deweese, 1970). Las esponjas intravaginales generalmente son insertadas por periodos de 9 a 19 días y pueden utilizarse junto con gonadotropinas de suero de yegua preñada (PMSG) al momento de retirar la esponja o 48 h previas al retiro de la esponja. La respuesta al estro y fertilidad varía grandemente con estos tratamientos, lo que depende de la raza, co-tratamiento y sistema de monta (Wildeus, 2000).

Fitzgerald *et al.* (1985) estudiaron la efectividad del MAP, aplicado por 7 días más $PGF_{2\alpha}$ sobre el control del estro y tasa de gestación en ovejas Suffolk, reportando que no hubo diferencias en el porcentaje de estros en comparación al grupo testigo (que fue solo con exposición al macho), así como tampoco hubo diferencias para la tasa de concepción a segundo estro sincronizado, durante la época reproductiva. Resultados similares fueron reportados por Martínez *et al.* (2007) quienes aplicaron esponjas impregnadas

de MAP por 12 días y gonadotropina coriónica equina (eCG) al momento de retirar las esponjas, obteniendo 100% de presentación de estros y 80% de gestación.

En este sentido, Deweese *et al.* (1970) mencionaron que la aplicación de esponjas con 40 o 60 mg de MAP por 14 días en ovejas en anestro, resultó en una presentación de estro de 100 y 95% respectivamente, comparado al 17 % de presentación de estro para el grupo testigo, solo con exposición al macho, a pesar de esto el porcentaje de concepción a primer estro fue mayor para el grupo testigo (78%) comparado al 47 y 30% obtenidos en los grupos de 40 y 60 mg de MAP, respectivamente.

Bartlewski *et al.* (2003) han indicado que la aplicación de 40 mg de MAP por 14 días más una aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (al inicio del tratamiento), durante la fase tardía del ciclo estral en ovejas en anestro, aumentan la tasa de ovulación, esto debido principalmente a que el o los folículos que crecieron a tamaño ovulatorio durante el tiempo de permanencia de las esponjas, lograron mantenerse hacia el final del tratamiento y se incorporaron a la onda final de crecimiento folicular, que se inicio después de retiradas las esponjas, con lo cual obtuvieron una tasa de ovulación de 3.1 folículos.

Dispositivo controlador interno de progesterona (CIDR)

Estos dispositivos están hechos de silicón impregnados de P_4 (Wildeus, 2000). En ovejas, el CIDR puede utilizarse solo o acompañado con alguna otra hormona como $\text{PGF}_{2\alpha}$, para mejorar la presentación de estro y obtener concentraciones adecuadas P_4 del ciclo estral inducido (Uribe *et al.*, 2008).

El uso del CIDR también puede asociarse a la aplicación de eCG para estimular la ovulación en estación reproductiva o fuera de ella (Safdarian *et al.*, 2006). En este sentido, Martínez *et al.* (2007) encontraron 100% de presentación de estro en ovejas con la aplicación de CIDR/eCG y un intervalo de 48 h a la presentación de estro después de retirado el CIDR. Carlson *et al.* (1989) mencionan que el 91% de las ovejas fueron montadas por los sementales en un lapso de 5 días después de retirar los CIDRs.

Knights *et al.* (2001) señalaron que el porcentaje de estro en ovejas en anestro se aumentó con el uso de un CIDR por 12 días, más la aplicación de FSH 24 h antes de retirar los dispositivos, en comparación con el grupo testigo (solo con introducción del macho), así mismo la aplicación de un CIDR por 5 días fue igual de efectivo en la inducción de estro comparado al uso del CIDR por 12 días.

Implantes de norgestomet

Una alternativa a los dispositivos intravaginales para la administración de progestágenos es la utilización de implantes subcutáneos aplicados en la base de la oreja, que constan de un polímero polimetacrilato impregnado con un potente progestágeno, usualmente norgestomet, que ha proporcionado buenos resultados en el control del estro y ovulación en la oveja (Aisworth y Wolynetz, 1982). El periodo de permanencia del implante usualmente es de 9 a 14 días (Wildeus, 2000).

La respuesta al estro sincronizado con sistemas basados en implantes de norgestomet puede variar del 62 al 100%, dependiendo de la dosis utilizada (3 a 6 mg de norgestomet), de la época y el co-tratamiento, similarmente la

fertilidad también varía (27 a 83%), dependiendo de las mismas variables y el sistema de monta empleado (Wildeus, 2000).

La aplicación de norgestomet acompañado de eCG ha sido ampliamente usada en una gran variedad de métodos para mejorar la sincronización de estro en la oveja. Con la aplicación de este tipo de tratamientos se obtiene una satisfactoria respuesta de estro, así mismo se disminuye el intervalo a la presentación de estro después de retirado el implante (Cline *et al.*, 2001).

Cardwell *et al.* (1998) evaluaron el tiempo al estro y ovulación después de retirar los implantes de norgestomet, obteniendo 84% de ovejas en estro, en este mismo experimento el co-tratamiento con PMSG adelantó la ovulación de 79.8 a 68.6 h y el inicio del estro de 46.0 a 32.6 h comparado a ovejas tratadas solo con el implante.

Acetato de melengestrol

Este producto, activo vía oral en rumiantes (Powell *et al.*, 1996) debe implementarse en la alimentación junto con el suplemento y debe administrarse una o dos veces al día por un periodo de 8 a 14 días (Wildeus, 2000). El acetato de melengestrol (MGA) es capaz de inducir estro y monta fértil en alta proporción en ovejas en anestro estacional, sin embargo la tasa de partos es más baja de lo que se obtiene cuando las ovejas son servidas durante la época reproductiva. Con la implementación de PMSG después del tratamiento con MGA, se aumenta la respuesta a estro, la tasa de concepción y el porcentaje de nacimientos múltiples de la ovulación inducida (Safranski *et al.*, 1992).

Los tratamientos con MGA por 14 días proporcionan buenos resultados en la sincronización de estro en las ovejas, sin embargo tienen efectos negativos sobre la fertilidad. Por tal motivo se han evaluado tratamientos cortos (9 días) los cuales requieren la aplicación de E₂ al inicio del tratamiento, que tienen como objetivo impedir el desarrollo normal del CL o provocar la regresión lútea (Quispe *et al.*, 1995).

Powell *et al.* (1996) mencionan que el tratamiento con MGA y E₂ es una efectiva y práctica alternativa para inducir y sincronizar estro fértil en ovejas en anestro. Méndez *et al.* (2000) mencionan que el porcentaje de estros es mejorado con el uso de E₂ y MGA (52%) comparado al de MGA solo (10%). Larson y Kiracofe (1995) reportan que la existencia de niveles altos de E₂ al momento de retirar el implante puede afectar la fertilidad por ocasionar estro sin ovulación en animales ciclando, pero también puede provocar asincronía de las relaciones temporales entre el inicio del estro, pico ovulatorio de LH y la ovulación. En este sentido Echterkamp *et al.* (1976) mencionan que la administración intravaginal u oral de progestágenos disminuye la duración del estro, tasa de fertilidad y tasa de concepción.

LITERATURA CITADA

- Ainsworth, L., and M. S. Wolynetz, 1982. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestogens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. *J. Anim. Sci.* 54:1120-1127.
- Armstrong, D. G., and R. Webb. 1997. Ovarian follicular dominance: The role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev. Reprod.* 2:139-146.
- Baird, D. T. 1978. Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biol. Reprod.* 18:359-364.
- Baird, D. T. 1983. Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human. *J. Reprod. Fertil.* 69:343–352.
- Baird, D. T. 1992. Luteotrophic control of the corpus luteum. *Anim. Reprod. Sci.* 28:95-102.
- Baird, D. T, Campbell, B., Mann, G., and A. McNeilly. 1990. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 43:125–138.
- Baird D. T. and A. S. McNeilly. 1981. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrous cycle of the ewe. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 30:119-133.
- Bartlewski, P. M., Beard, A. P., and N. C. Rawlings. 2000. An ultrasound-aided study relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology* 54:229-245.
- Bartlewski, P. M., Duggavathi, R., Aravindakshan, J. Barrett, D. M. W., Cook, S. J., and N. C. Rawlings. 2003. Effects of a 6-day treatment with

medroxyprogesterone acetate after prostaglandin F_{2α}-induced luteolysis at midcycle on antral follicular development and ovulation rate in nonprolific western white-faced ewes. *Biol. Reprod.* 68:1403–1412.

Bauer-Dantoin, A. C., Weiss, J., and J. L. Jameson. 1995. Roles of estrogen, progesterone, and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the control of pituitary GnRH receptor gene expression at the time of the preovulatory gonadotropin surges. *Endocrinology* 136:1014-1019.

Bolt, D. J. and H. W. Hawk. 1975. Prevention of estrogen-induced regression of corpora lutea in ewes by hysterectomy. *J. Anim. Sci.* 4:687-690.

Bowen, J. M., Dahl, G. E., Evans, N. P., Thrun, I. A., Wang, Y., Brown, M. B. and F. J. Kirsch. 1998. Importance of the Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) surge for induction of the preovulatory luteinizing hormone surge of the ewe: Dose-response relationship and excess of GnRH. *Endocrinology* 139:588-595.

Caffrey, J. L., Nett, T. M., Abel, J. H., and G. D. Niswender. 1979. Activity of 3β-hydroxy-Δ⁵-steroid dehydrogenase/Δ⁵-Δ⁴-isomerase in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.* 20:279–287.

Cahill, L. P. 1981. Folliculogenesis in the sheep as influenced by breed, season and oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 30:135–142.

Cahill, L. P. and P. Mauleon. 1980. Influences of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 58:321-328.

Cambellas, J. B. 1993. Comportamiento reproductivo en ovinos tropicales. *F. C. V.-Luz.* 2:135-141.

- Campbell, B. K., McNeilly, A., Mann, G. E., and D. Baird. 1991a. The effect of stage of estrous cycle and follicular maturation on ovarian inhibin production in sheep. *Biol. Reprod.* 44:483-490.
- Campbell, B. K., Picton, H., Mann, G., McNeilly, A., and D. Baird. 1991b. The effect of steroid- and inhibin-free ovine follicular fluid on ovarian follicle populations and ovarian hormone secretion. *J. Reprod. Fertil.* 93:81–96.
- Campbell, B. K., Dobson, H., Baird, D. T., and R. J. Scaramuzzi. 1997. Studies on the role of LH in the maturation of the pre-ovulatory follicle in a sheep using a GnRH-antagonist. *Anim. Reprod. Sci.* 48:219–234.
- Campbell, B. K., Dobson, H., Scaramuzzi, R., and D. Baird. 1999. The relative roles of FSH and LH in follicle development and selection. *J. Reprod. Fertil.* 1999; 117: 355–367.
- Campbell, B. K., Telfer, E. E., Webb, R., and D. T. Baird. 2004. Evidence of a role for follicle-stimulating hormone in controlling the rate of preantral follicle development in sheep. *Endocrinology* 145:1870-1879.
- Campbell, B. K., Kendall, N.R., and D.T. Baird. 2007. The effect of the presence and pattern of luteinizing hormone stimulation on ovulatory follicle development in sheep. *Biol. Reprod.* 76:719–727.
- Caraty, A., and D. C. Skinner. 1999. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinology* 140:165-170.
- Cardwell, B. E., Fitch, G. Q., and R. D. Geisert. 1998. Ultrasonic evaluation for the time of ovulation in ewes treated with norgestomet and norgestomet

followed by pregnant mare's serum gonadotropin. *J. Anim. Sci.* 76:2235-2238.

Carlson, K. M., Pohl, H. A., Marcek, J. M., Muser, R. K. and J. E. Wheaton. 1989. Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispensers for synchronization of estrus in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 18:205-218.

Cline, M. A., Ralston, J. N., Seals, R. C., and G. S. Lewis. 2001. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. *J. Anim. Sci.* 79:589-594.

Deweese, W. P., Glimp, H. A., and R. H. Dutt. 1970. Comparison of medroxyprogesterone acetate orally and in vaginal sponges for synchronizing estrus in ewes. *J. Anim. Sci.* 31:394-397.

Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology.* 55:1211–1239.

Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M. W., and N. C. Rawlings. 2003. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology* 60:495–510.

Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M. W., Gratton, C., Bagu, E. T. and N. C. Rawlings. 2004. Patterns of antral follicular wave dynamics and accompanying endocrine changes in cyclic and seasonally anestrous ewes treated with exogenous ovine follicle-stimulating hormone during the inter-wave interval. *Biol. Reprod.* 70:821–827.

- Echternkamp, S. E., Bolt, D. J., and H. W. Hawk. 1976. Ovarian and pituitary hormones in blood of progestogen-treated ewes. *J. Anim. Sci.* 42:893-900.
- England, B. G., Dahmer, M. K., and R. Webb. 1981. Relationships between follicular size and antral fluid steroid concentrations at three stages of the estrous cycle in the ewe. *Biol. Reprod.* 24:1068-1075.
- Evans, N. P., Dahl, G. E., Padmanabhan, V., Thruns, L. A., and F. J. Karsh. 1997. Estradiol requirements for induction and maintenance of the gonadotropin-releasing hormone surge: Implications for neuroendocrine processing of the estradiol signal. *Endocrinology* 138:5408-5414.
- Evans, A. C., Flynn, J. D., Duffy, P., Knight, P. G., and M. P. Boland. 2002. Effects of ovarian follicle ablation on FSH, oestradiol and inhibin A concentrations and growth of other follicles in sheep. *Reproduction* 123:59-66.
- Evans, A. C. O. 2003. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 78:289-306.
- Fitzgerald, J. A., Ruggles, A. J., Stellflug, J. N., and W. Hansel. 1985. A seven-day synchronization method for ewes using medroxyprogesterone acetate (MAP) and prostaglandin $F_{2\alpha}$. *J. Anim. Sci.* 2:466-470.
- Fortune, J. E. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.* 50:225-232.
- Galina, H.C., Saltiel, C. A., Valencia, M. J., Becerril, A. J., Bustamante, C. G., Calderon, Y. A., Duchateau, B. A., Fernández, B. S., Olguín, B. A., Páramo, M. R. y Zarco, Q. L. 1986. En: *Reproducción de animales domésticos*. Ed. Limusa, México, pp. 348-358.

- Garverick, H. A., Zollers, W. G. and M. F. Smith. 1992. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.* 28:111-124.
- Gong, J.G., Campbell, B. K., Bramley, T. A., Gutierrez, C. G. Peters, A. R. and R. Webb. 1996. Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Biol. Reprod.* 55:69-74.
- Grazul-Bilska, A. T., Reynolds, L. P., Kirsch, J. D. and D. A. Redmer. 1996. Gap junctional intercellular communication of bovine luteal cells from several stages of the estrous cycle: Effects of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate. *Biol. Reprod.* 54:538-545.
- Hamernik, D. L., Clay, C. M., Turzillo, A., Van Kirk, E. A., and G. E. Moss. 1995. Estradiol increases amounts of messenger ribonucleic acid for gonadotropin-releasing hormone receptors in sheep. *Biol. Reprod.* 53: 179-185.
- Harris, T. G., Robinson, J. E., Evans, N. P., Skinner, D. C. and A. E. Herbison. 1998. Gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid expression changes before the onset of the estradiol-induced luteinizing hormone surge in the ewe. *Endocrinology* 139:57-64.
- Haughian, J. M., Ginther, O. J., Kot, K., and M. C. Wiltbank. 2004. Relationships between FSH patterns and follicular dynamics and the temporal associations among hormones in natural and GnRH-induced gonadotropin surges in heifers. *Reproduction* 127:23-33.

- INEGI. 2004a, Anuario estadístico. Jalisco. Tomo II, SIAJL INEGI Gobierno del estado de Jalisco. México, pp. 919-926.
- INEGI. 2004b. El sector alimentario en México. INEGI. México, pp. 64-75.
- Ireland, J. J. 1987. Control of follicular growth and development. *J. Reprod. Fert.* 34 (Suppl.):39-54.
- Kittok, R.J., and J. H. Britt. 1977. Corpus luteum function in ewes given estradiol during the estrous cycle or early pregnancy. *J. Anim. Sci.* 2:336-341.
- Knights, M., Hoehn, T., Lewis, P. E., and E. K. Inskeep. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *J. Anim. Sci.* 79:1120-1131.
- Ko, J. C., Kastelic, J. P., Del Campo M. R., and O.J. Ginther. 1991. Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 91:511-519.
- Larson, B., Gustafsson, A. and J., Bjurstrom. 1991. A program for oestrus synchronization and embryo transfer in sheep. *Reprod. Dom. Anim.* 26: 301-308.
- Larson. R. L., and G. H. Kiracofe. 1995. Estrus after treatment with syncro-mate B in ovariectomized heifers is dependent on the injected estradiol valerate. *Theriogenology* 44:177-187.
- Logan, K. A., Juengel, J. L., and K. P. McNatty. 2002. Onset of steroidogenic enzyme gene expression during ovarian follicular development in sheep. *Biol. Reprod.* 66:906-916.

- López-Sebastián, A., de Bulnes, A. G., Moreno, J. S., Gomez-Brunet, A., Townsend, E. C., and E. K. Inskeep. 1997. Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 48:279–291.
- López-Sebastián, A., de Bulnes, A. G. y M. J. Santiago. 2001. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. En: *II Curso Internacional: Fisiología de la reproducción en rumiantes*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México, pp. 1-22.
- Macías, C. U., Quintero, J. A., Bautista, A. A., Vázquez, A., Magaña, F. A., Cienfuegos, R., y R. A. González. 2005. Efecto de la PMSG sobre el comportamiento reproductivo en ovejas de pelo tratadas con acetato de fluorogestona. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 13:385-388.
- Martínez, T. J. J., Izaguirre, F. F., Sánchez, O. L., García, C. C. G. Martínez, P. G. y Torres H. G. 2007. Comportamiento reproductivo de ovejas barbados barriga negra sincronizadas con MPA y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. *F. C. V.-Luz.* 1:47-52.
- McGee, E. A., and A. J. W. Hsueh. 2000. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Rev.* 21:200-214.
- McNeilly, A., O'Connell, M., and Baird D. 1982. Induction of ovulation and normal luteal function by pulsed injections of luteinizing hormone on anestrous ewes. *Endocrinology* 110:1292–1299.
- Méndez, M. M., Hernández, C. J., Pacheco, R. N. O. y Porrás A. A. 2000. Los tratamientos sincronizadores de estro, utilizando progestágenos en

combinación con estrógenos, inducen conducta estral en ovejas ovariectomizadas. *Vet. Méx.* 31:371-373.

Mihn, M., M. G. Diskin, and J. F. Roche. 1996. Regulation of follicle wave growth in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 31:531-538.

Molina, M. P., Sánchez, T. E. T., García, F. E. O., Martínez, G. A., Cárdenas, L. M., Peralta, O. J., Cordero, M. J. L., Hizarza, E. A., y C. E. E. Ortega. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia.* 39:11-18.

Montgomery, G. W., Galloway, S. M., Davies, G. H. and K. P. McNatty. 2001. Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction* 121:843-852.

Newton, H., Aubard, Y., Rutherford, A., Sharma, V., and R. Gosden. 1996. Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue into SCID mice. *Hum. Reprod.* 11:1487-1491.

Nishimura, R., Komiyama, J., Tasaki, Y., Acosta, T. J., and K. Okuda. 2008. Hypoxia promotes luteal cell death in bovine corpus luteum. *Biol. Reprod.* 78:529-536.

Niswender, G. D., Juengel, J. L., McGuire, W. J., Belfiore, C. J. and M. C. Wiltbank. 1994. Luteal Function: The estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.* 50:239-247.

Pate, J. L. 1994. Cellular components involved in luteolysis. *J. Anim. Sci.* 72:1884-1890.

Picton, H. Tsonis, C., and A. McNeilly. 1990. The antagonistic effect of exogenous LH pulses on FSH-stimulated preovulatory follicle growth in

ewes chronically treated with a gonadotrophin-releasing hormone agonist. *J. Endocrinol.* 127:273-283.

Piper E. L., and W. C. Foote. 1970. The effect of 17-estradiol on corpus luteum. *Biol. Reprod.* 2:48-52.

Powell, M. R., Kaps, M., Lamberson, W. R., and D. H. Keisler. 1996. Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 74:2292-2302.

Quispe Q. T., Zarco, L., Ortiz, H. A., y M. J. Valencia. 1995. Sincronización de estros en ovejas mediante un tratamiento corto con acetato de melengestrol (MGA) combinado con cipionato de estradiol (ECP). *Vet. Méx.* 26:23-29.

Safdarian, M., Kafi, M., and M. Hashemi. 2006. Reproductive performance of Karakul ewes following different oestrous synchronization treatment outside the natural breeding season. *South Afric. J Anim. Sci.* 36:229-234.

Safranski, T. J., Lamberson, W. R., and D. H. Keisler. 1992. Use of melengestrol acetate and gonadotropins to induce fertile estrus in seasonally anestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 70:2935-2941.

Savio, J. D., Keenan, L., Boland, M. P., and Roche. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.* 83:663-671.

Sawyer, H. R., Niswender, K. D., Braden, T. D., and G. D. Niswender. 1990. Nuclear changes in ovine luteal cells in response to $\text{PGF}_{2\alpha}$. *Domes. Anim. Endocrinology* 7:229-238.

- Schally, A. V., Arimura, A., Baba, Y., Nair, R. M. G., Matsu, H. Redding, T. W., Debeljuk, L., and W. F. White. 1971. Isolation and properties of the FSH and LH-releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43: 393-399.
- Silvia, W. J., and G. D. Niswender. 1984. Maintenance of the corpus luteum of early pregnancy in the ewe. III. Differences between pregnant and nonpregnant ewes in luteal responsiveness to protagalandin $F_{2\alpha}$. *J. Anim. Sci.* 3:746753.
- Smith, M. F. 1986. Recent advances in corpus luteum physiology. *J. Dairy Sci.* 69:911-926.
- Smith, M. F., McIntush, E. W., and G. W. Smith. 1994. Mechanisms associated with corpus luteum development. *J. Anim. Sci.* 72:1857-1872.
- Souza, C. J. H., Campbell, B. K., and D. T. Baird. 1997. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biol. Reprod.* 56:483-488.
- Thiery, J. C., and G. B. Martin. 1991. Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in the sheep. A review. *Reprod. Fertil. Dev.* 3:137-173.
- Turzillo, A. M., Nolan, T.E. and M. Nett. 1998. Regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor gene expression in sheep: interaction of GnRH and estradiol. *Endocrinology* 139:4890-4894.
- Uribe, V. L. F., Obab, E., y M. Souza. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Arch. Med. Ve.t* 40: 83-88.

- Urviola, M. S., Leyva, V. V., Huamán, U. H., y W. García. 2005. Manipulación de la ovulación del folículo dominante con prostaglandina en diferentes estadios del ciclo estrual sobre las tasas reproductivas en ovinos corriedale. *Rev. Inv. Vet.* 16: 103-113.
- Wandji, S. A., SrSei, V., Voos, A. K., Eppig, J. J., and E. Fortune. 1996. Initiation *in vitro* of growth of bovine primordial follicles. *Biol. Reprod.* 55:942-948.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 77:1-14.
- Wiltbank M. C. and G. D. Niswender. 1992. Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of corpus luteum in domestic ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 28:103-110.
- Wiltbank, M. C. 1994. Cell types and hormonal mechanisms associated with mid-cycle corpus luteum function. *J. Anim. Sci.* 72:1873-1883.

SINCRONIZACIÓN DE ESTRO CON ACETATO DE FLUGESTONA, GnRH Y PROSTAGLANDINA F_{2α} EN OVEJAS

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del acetato de flugestona (FGA) por 5 y 11 días, así como la combinación de GnRH y PGF_{2α}, en la sincronización de estro en ovejas. Cuarenta ovejas adultas (cruzas de las razas Katahdin y Pelibuey) fueron asignadas al azar a uno de cuatro tratamientos: T1, grupo testigo, tres aplicaciones de PGF_{2α} con nueve días de intervalo entre cada aplicación; T2, inserción de esponjas intravaginales con 40 mg de FGA por 11 días y aplicación de PGF_{2α} el día del retiro de las esponjas; T3, inserción de esponjas intravaginales con 40 mg de FGA por 5 días y aplicación de PGF_{2α} el día del retiro de las esponjas; T4, aplicación de 50 µg de GnRH el día -9 y aplicación de PGF_{2α} el día del retiro de las esponjas, día 0= día del estro en las ovejas. Todos los tratamientos fueron presincronizados con doble aplicación de PGF_{2α} con intervalo de 9 días. La presentación de estros fue de 80% en las ovejas del grupo T1, 100% en los grupos T2 y T3 y de 90% en el grupo T4, sin diferencias ($P>0.05$) entre grupos. Se obtuvo un 90% de gestación para los grupos T1, T3 y T4, el menor porcentaje de gestación fue de 60% para el grupo T2, con diferencias entre grupos ($P<0.05$). Se observó un aumento en concentración de progesterona (P₄) entre los días 4 al 11, con excepción de las ovejas del grupo T4 que mostraron mayor secreción de P₄ en el día 15 ($P<0.05$). En el presente experimento, los tratamientos de FGA por 5 días, aplicación de PGF_{2α} y la combinación de GnRH más PGF_{2α} propiciaron mejores resultados en porcentaje de gestación en comparación al tratamiento con FGA por periodos de 11 días.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of acetate of flugestone (FGA) for 5 and 11 days, as well as the combination of GnRH and PGF_{2α} in the synchronization of estrous in ewes. Forty adult ewes (crossbreed Katahdin and Pelibuey) were assigned at random to one of four treatments: T1, control group, three applications of PGF_{2α} with nine days of interval between each application; T2, animals in this group were implanted with intravaginal sponges containing 40 mg of FGA for 11 days and an injection of PGF_{2α} when sponges were withdrawn; T3, ewes received intravaginal sponges with 40 mg of FGA for 5 days and an injection of PGF_{2α} when sponges were withdrawn; T4, application of 50 µg of GnRH on the 9th day and an injection of PGF_{2α} the day when sponges were withdrawn, day 0= day of estrous in the ewes. All treatments were presynchronized with a double injection of PGF_{2α} with interval of 9 days. The presentation of estrous was of 80% in the ewes of group T1, 100% for groups T2 and T3, and of 90% in the T4 group, without differences (P> 0.05) between groups. A 90% of gestation for groups T1, T3 and T4 were obtained, the smallest percentage of gestation was 60% for group T2, with significant differences (P<0.05). An increase in progesterone concentration was observed between days 4 and 11, except for animals of the T4 group that showed a greater progesterone secretion in day 15 (P<0.05). In this experiment, FGA treatments for 5 days, injection of PGF_{2α} and the combination of GnRH plus PGF_{2α} showed better results in percentage of gestation compared to the treatment with FGA for 11 days.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales limitaciones en el manejo reproductivo de los ovinos es la deficiente detección y sincronización de estro, debido a la gran variabilidad que existe entre animales. El desarrollo de los métodos de control del ciclo estral se ha basado principalmente en el conocimiento de los mecanismos de control hormonal del ciclo estral, dirigidos a mejorar la eficiencia reproductiva (Urviola *et al.*, 2005). Los tratamientos hormonales para el control de estro y ovulación permiten inducir y sincronizar el estro en hembras anéstricas y sincronizar el momento de la aparición del estro en hembras ciclando (Uribe *et al.*, 2008).

Las esponjas intravaginales impregnadas de progestágenos como el FGA, han sido el tratamiento de elección en ovejas (Macías *et al.*, 2005). Estos tratamientos suelen tener periodos de 9 a 19 días y la respuesta al estro y fertilidad varían grandemente dependiendo de la raza, co-tratamiento y sistema de monta (Wildeus, 2000).

Méndez *et al.* (2000) reportaron que los tratamientos con progestágenos por 9 días tuvieron 88.8% de efectividad en sincronización de estro. En este sentido, Peralta *et al.* (2007) no encontraron diferencias al estro sincronizado con progestágenos utilizados por 9 y 7 días.

Por lo anterior, el objetivo del presente experimento fue el de evaluar el efecto del FGA por periodos de 11 y 5 días, así como la combinación de GnRH y PGF_{2α}, en la sincronización de estro en ovejas de pelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El experimento se realizó en una granja ovina situada en el predio “El Tilzapote”, ubicado en la comunidad de Ayutita, Autlán de Navarro, al sur del estado de Jalisco (19°48' de latitud Norte y 104°24' de longitud oeste), con una altura sobre el nivel del mar de 1,013 m. El tipo de clima es BS₁(h') w"(i') seco, con lluvias en verano; la temperatura media anual es de 23.5 °C y la precipitación media anual de 729.1 mm (García, 1981).

Animales experimentales

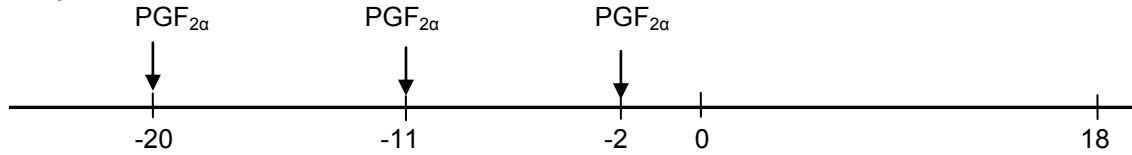
Se utilizaron 40 ovejas adultas ciclando (cruzas de Katahdin y Pelibuey) con dos o más partos, con peso promedio de 45.25± 3.05 kg y entre 60 a 90 días postparto, en condiciones de estabulación. El experimento se realizó entre los meses de julio y agosto.

Sincronización de estros

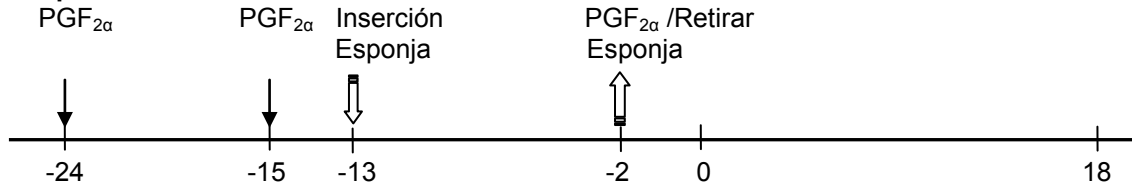
Las ovejas fueron asignadas al azar a uno de cuatro tratamientos (n=10): En el T1, grupo testigo, se realizaron tres aplicaciones intramusculares de PGF_{2α} (0.075 mg de d-cloprostenol por aplicación; Prosolvin-C, Intervet, México) en los días -20, -11 y -2, el día 0 se consideró como el día del estro en las ovejas (Figura 1); en el grupo T2, se realizó aplicación de PGF_{2α} en los días experimentales -24 y -15, en el día -13 se insertó una esponja intravaginal con 40 mg de FGA (Chronogest; Intervet, México), la cual permaneció *in situ* por 11 días, el día -2 se retiró la esponja y se aplicó una dosis de PGF_{2α}; en el grupo T3, se realizó la aplicación de PGF_{2α} los días -24 y -15, el día -7 se insertó una esponja intravaginal con 40 mg de FGA, la cual permaneció *in situ* por 5 días, el día -2 se retiró la esponja y se aplicó una dosis de PGF_{2α}; el grupo T4,

consistió en la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ los días -26 y -17, el día -9 se aplicó 50 μg de un análogo sintético de GnRH (Ovalyse, Pfizer, México) y el día -2 se aplicó una dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

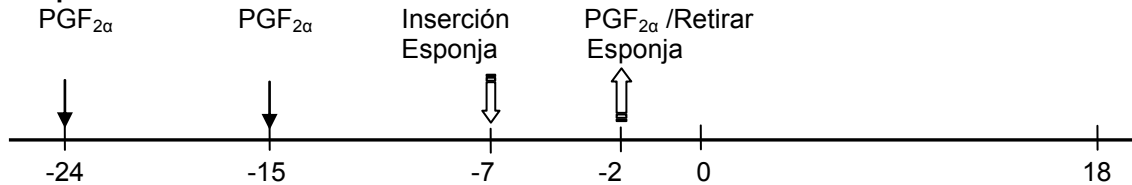
Grupo T1



Grupo T2



Grupo T3



Grupo T4

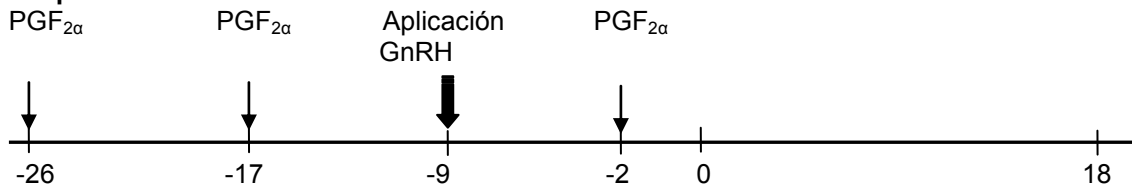


Figura 1. Secuencia experimental de la sincronización del estro en ovejas. Día 0= día de estro.

Detección de estros y monta natural

La detección de estros se inició 24 horas después de retirada la esponja intravaginal, las ovejas fueron observadas por aproximadamente 1 hora cada 4 horas, a las 4:00, 8:00, 12:00, 16:00, 20:00 y 24:00 horas, por un periodo de 4 días; se utilizó un macho con mandil para detectar las ovejas que manifestaron estro, se consideró que la hembra estaba en estro cuando permitió la monta quedándose inmóvil. Al momento de detectar el estro, la hembra fue montada

por un semental, con una segunda monta 12 h después. Se utilizaron seis machos adultos con fertilidad probada los cuales se asignaron a las hembras al azar. La gestación se confirmó 45 días después del servicio, utilizando un ultrasonido (Sonovet 2000) con un transductor lineal multifrecuencia de 7 a 9 MHz, al localizar las vesículas embrionarias.

Muestreo sanguíneo para determinar P₄

Para determinar las concentraciones de P₄, se colectaron muestras de sangre vía vena yugular dos veces por semana a partir del día 1 al 18 del ciclo estral. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2500 × g por 15 minutos y el suero fue almacenado a -20°C hasta su análisis.

Análisis hormonales

La concentración de P₄ se determinó por el método inmunoenzimático (Darwash *et al.*, 1999) con un kit comercial (Immunometrics UK Ltd. 280 Munster Road, London SW6 6BQ). La sensibilidad del análisis fue de 0.12 ng mL⁻¹, con coeficientes de variación intra e inter ensayo de 8.3 y 10.7%. Los análisis de hormonas se realizaron en el Laboratorio de hormonas proteicas y esteroides del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, departamento de Biología de la Reproducción.

Variables estudiadas

- Presentación de estros. Tiempo en que la hembra permite ser montada por el macho y acepta la cópula (Bearden y Fuquay, 1982).
- Inicio de estro. Horas transcurridas desde el retiro de la esponja intrauterina hasta que la hembra aceptó la primera monta.
- Duración del estro. Horas transcurridas desde que se detecto el estro, hasta que la hembra dejó de manifestar receptividad al macho.

- Porcentaje de gestación. Se calculó con el número de ovejas servidas entre número de ovejas gestantes.
- Porcentaje de partos. Número de ovejas paridas/número de ovejas gestantes.

Análisis estadístico

Los resultados de los tratamientos de las hembras que presentaron estro y resultaron gestantes se analizaron mediante la prueba de χ^2 . Los datos de inicio de estro, duración de estro y concentraciones de P₄ corresponden a valores promedio \pm error estándar de la media (EEM) utilizando PROC GLM (SAS, 1982). Las diferencias entre las medias de tratamiento (P<0.05) se analizaron mediante la prueba de Tukey. Las concentraciones de P₄ fueron analizadas mediante el procedimiento PROC MIXED (SAS, 1982) para un diseño completamente al azar (Littell *et al.*, 1998).

El modelo estadístico utilizado para el diseño experimental completamente al azar fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + \varepsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = variable de respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento.

μ = media general.

δ_i = efecto del i-ésimo tratamiento.

ε_{ij} = error aleatorio.

La concentración promedio de progesterona se analizó según un diseño completamente al azar con mediciones repetidas, bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + d_{ik} + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde :

Y_{ijk} = variable de respuesta.

μ = media general.

α_i = efecto de i-ésimo tratamiento.

d_{ik} = error aleatorio para k-ésima repetición dentro del i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo tiempo.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = interacción entre tratamiento y tiempo.

ε_{ijk} = error experimental aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presentación de estros

Los resultados a la sincronización de estro se muestran en el cuadro 1. La presentación de estros fue de 80% (8/10) en el grupo T1, 100% (10/10) en T2 y T3 y 90% (9/10) en T4, sin existir diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$). La presentación de estros para los grupos T2 y T3 son iguales a lo reportado por Godfrey *et al.* (1997) y Godfrey *et al.* (1999) en donde utilizaron un CIDR-G con 300 mg de progesterona por un periodo de 12 días en ovejas de pelo (St. Croix White y Barbados Blackbelly), introduciendo el macho para la detección de estro al momento del retiro de los dispositivos, observándose una presentación de estro de 100 %. Así mismo, Fukui *et al.* (1999) reportaron una presentación de estro de 100 % en ovejas Suffolk cíclicas con aplicación de CIDR-G más aplicación de 500 UI de eCG.

El porcentaje de presentación de estro obtenido en el grupo T4 es similar a lo reportado por Rhodes y Nathanielsz (1988) quienes observaron 87.6 % en

presentación de estros utilizando un CIDR-S con 366 mg de P₄ en ovejas cíclicas por un periodo de 14 días, introduciendo al macho del día 1 al 4 después de retirado el dispositivo intravaginal. Carlson *et al.* (1989) utilizaron CIDR-S con 366 mg de P₄ por 12 días obteniendo 91% de hembras en estro, resultados similares fueron obtenidos por Wheaton *et al.* (1993) quienes aplicaron un CIDR por 12 días, obteniendo un 91% de las hembras en estro del día 2 al 5 después de retirado el CIDR, lo cual es similar a lo obtenido en el grupo T4 del presente experimento.

Inicio del estro

El promedio en horas de inicio de estro después de retiradas las esponjas y la última aplicación de PGF_{2α}, fue menor para los grupos T1, T2 y T4 con 40±8.28, 42.80±6.81 y 43.55±3.71 h, respectivamente, comparado con borregas del grupo T3 que iniciaron estro a las 55.22±15.17 h (P<0.05).

Cuadro 1. Presentación del estro, inicio del estro, duración del estro, porcentaje de gestación y de partos, después de finalizados los tratamientos.

Grupo	Presentación del estro (%)	Inicio del estro (h)	Duración del estro (h)	Gestación (%)	Partos (%)
T1*	80 ^a	40±8.28 ^a	42.50±13.68 ^a	90 ^a	88.8 (8/9)
T2*	100 ^a	42.80±6.81 ^a	36.10±7.54 ^b	60 ^b	66.6 (4/6)
T3*	100 ^a	55.22±15.17 ^b	28.40±3.97 ^c	90 ^a	77.7 (7/9)
T4*	90 ^a	43.55±3.71 ^a	35.10±5.20 ^b	90 ^a	77.7 (7/9)

^{abc}Literales distintas en una misma columna indican diferencia (P<0.05)

* T1) tres aplicaciones de PGF_{2α} (grupo testigo); T2) 40 mg de FGA por 11 días; T3) 40 mg de FGA por 5 días; T4) 50 μg de GnRH el día -7. En el día -2 se retiraron las esponjas y se realizó la última aplicación de PGF_{2α}. Día 0= día del estro.

Los resultados obtenidos en el presente experimento contrastan con lo reportado por Godfrey *et al.* (1999) quienes utilizaron un CIDR-G, con 300 mg de P₄ por 12 días en ovejas de pelo (St. Croix White y Barbados Blackbelly) obteniendo un tiempo promedio para el inicio del estro de 26.5 ± 2.3 horas y

también difieren con lo reportado por Fukui *et al.* (1999) quienes reportan un tiempo de presentación del estro de 21.8 ± 1.2 horas, utilizando un CIDR-G y eCG al momento del retiro del progestágeno en ovejas Suffolk. La rápida presentación de estro de las ovejas del trabajo de Fukui *et al.* (1999), está relacionada a la utilización de eCG, ya que tiene efecto de FSH y LH las cuales actúan para la completa maduración del folículo, además de estimular la producción de E_2 (McNeilly *et al.*, 1991), el cual es necesario para iniciar el estro (Fabre y Martin, 1991).

El inicio del estro fue más temprano (42.80 ± 6.81 h) en ovejas con 11 días de FGA correspondientes al grupo T2 comparado con las ovejas del grupo T3, con 5 días de FGA, que iniciaron estro a las 55.22 ± 15.17 h ($P < 0.05$). Van Cleeff *et al.* (1998) observaron un inicio de estro de 35.2 ± 1.9 horas utilizando un CIDR-G por 8 días, en ovejas Suffolk en época reproductiva. Godfrey *et al.* (1997) reportaron un tiempo al inicio del estro de 33.6 ± 9.5 horas al utilizar un CIDR-G por un periodo de 12 días en ovejas de pelo (St. Croix White y Barbados Blackbelly). Van Cleeff *et al.* (1998) indican que el inicio de estro más temprano es debido a que la P_4 liberada por el CIDR al final del tratamiento no es suficiente para prevenir la progresión del desarrollo folicular a un estado estrogénico, resultando en un inicio de estro más temprano.

Duración del estro

La duración de estro fue de 42.50 ± 13.68 , 36.10 ± 7.54 , 28.4 ± 3.97 y 35.10 ± 5.20 h, para las ovejas de los tratamientos T1, T2, T3 y T4, respectivamente.

Hulet *et al.* (1962) mencionan que el estro en la oveja tiene una duración media de 15.7 horas en Norteamérica, mientras que en ovejas Finn de Suecia

la duración del estro es de 72 horas habiendo una gran diferencia entre estos reportes, sin embargo, los resultados obtenidos en la presente investigación se encuentran dentro de este rango.

Los resultados obtenidos en las borregas del grupo T3 son parecidos a lo reportado por Greyling *et al.* (1997) quienes realizaron un experimento durante la época reproductiva utilizando 300 UI de PMSG y esponjas impregnadas con 60 o 30 mg de MAP en ovejas Merino. La duración del estro fue de 25.1 horas para ovejas tratadas con 60 mg de MAP y de 28.3 horas para borregas que recibieron 30 mg de MAP.

Porcentaje de gestación

Se obtuvo un 90% de gestación para los grupos T1, T3 y T4, el menor porcentaje de gestación fue de 60% para el grupo T2, con diferencias significativas ($P < 0.05$).

Crosby *et al.* (1991) utilizaron CIDR-S con 300 mg de P_4 , más una aplicación de 500 UI de PMSG al momento del retiro del dispositivo, obteniendo un porcentaje de gestación de 82.2% al inicio de la época reproductiva lo que resulta cercano a lo obtenido en las borregas de los grupos T1, T3 y T4 del presente experimento.

Porcentajes de gestación inferiores fueron reportados por Godfrey *et al.* (1997) quienes obtuvieron 74.1 % de gestación en ovejas de pelo (St. Croix White y Barbados Blackbelly) utilizando un CIDR-G con 300 mg de P_4 por un periodo de 12 días con monta natural.

Rhodes y Nathanielsz (1988) utilizaron un CIDR-S con 366 mg de P_4 o 60 mg de MAP por 14 días en ovejas Western en el inicio de la época

reproductiva, obteniendo 57 % de gestación con monta natural, lo que resulta cercano al 60 % obtenido en el grupo T2.

Mc Donnell (1985) indica que durante los tratamientos con progestágenos vía intravaginal, la tasa de absorción del componente de la esponja, puede afectar la dinámica folicular. Al inicio del tratamiento se observa un efecto supralúteo, lo que aumenta el recambio folicular, pero hacia el final del tratamiento se presenta un efecto sublúteo, que retrasa el recambio folicular (Hamra *et al.*, 1986), a consecuencia de esto se puede presentar un folículo ovárico persistente hacia el final del tratamiento, el cual puede ovular después de retiradas las esponjas, lo que puede ser causa de la baja fertilidad observada en los tratamientos con progestágenos por 12 días de duración (Viñoles *et al.*, 2001). En el presente experimento no se realizó seguimiento de la dinámica folicular, pero se puede inferir que el mejor porcentaje de gestación obtenido en los tratamientos con FGA por 5 días (grupo T3) comparado con tratamiento con FGA por 11 días (grupo T2) probablemente fue debido a la ovulación de un folículo nuevo, que inicio su crecimiento después de terminados los tratamientos.

Porcentaje de partos

Se obtuvo un 88.8, 66.6, 77.7 y 77.7% de partos sin diferencias ($P > 0.05$) entre los tratamientos T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Resultados similares a los tratamientos T3 y T4 fueron reportados por Wheaton *et al.* (1993) quienes utilizaron un CIDR por 12 días, obteniendo 74% de partos. Resultados inferiores fueron reportados por Hamra *et al.* (1989) quienes obtuvieron 56% de partos utilizando un CIDR por 14 días.

Fitzgerald *et al.* (1985) indicaron que el tratamiento vía intravaginal con una esponja impregnada con 60 mg de MAP por 7 días más una inyección de PGF_{2α} un día antes de retirar las esponjas, puede ser utilizado sin que se afecte el desempeño reproductivo de las ovejas, obteniendo hasta 80% de partos después de la sincronización del estro.

Concentración plasmática de P₄

Los datos de concentración de P₄ de los días 1 al 18 se muestran en el Cuadro 2. Las concentraciones plasmáticas de P₄ en todos los grupos muestran un aumento significativo en concentración entre los días experimentales 4 y 8. Resultados similares fueron presentados por Uribe *et al.* (2008) quienes mencionan que las concentraciones plasmáticas de P₄ son bajas en el primer día después la ovulación (0.22±0.33 ng mL⁻¹) con aumento progresivo desde el cuarto día hasta el noveno día.

Cuadro 2. Concentraciones plasmáticas de P₄ después de terminados los tratamientos (media ± error estándar, ng mL⁻¹).

Grupo	Días experimentales después de terminados los tratamientos					
	1	4	8	11	15	18
T1 ^x	0.74 ± 0.87	2.29 ± 0.87 ^a	4.26 ± 0.87 ^b _x	4.50 ± 0.87 _x	4.61 ± 0.87 _x	4.62 ± 0.87 _x
T2 ^x	1.89 ± 0.87	2.64 ± 0.87 ^a	4.74 ± 0.87 ^b	5.01 ± 0.87 _x	4.14 ± 0.87 _x	4.74 ± 0.87 _x
T3 ^x	1.43 ± 0.87	1.23 ± 0.87 ^a	4.19 ± 0.87 ^b	4.26 ± 0.87 _x	4.41 ± 0.87 _x	4.89 ± 0.87 _x
T4 ^x	1.85 ± 0.87	1.61 ± 0.87 ^a	7.75 ± 0.87 ^b _y	8.28 ± 0.87 ^b _y	11.61 ± 0.87 ^c _y	8.87 ± 0.87 _y

^{abc} Literales distintas en una misma línea indican diferencia (P<0.05)

^{xy} Literales distintas en una misma columna indican diferencia (P<0.05)

T1) Tres aplicaciones de PGF_{2α} (grupo testigo); T2) 40 mg de FGA por 11 días; T3) 40 mg de FGA por 5 días; T4) 50 µg de GnRH el día -7. El día del retiro de las esponjas se realizó una aplicación de PGF_{2α} en las ovejas de todos los grupos. Día 0= día del estro.

Los animales sincronizados mostraron un aumento significativo en concentración de P₄ desde el día 4 hasta el día 11 (Figura 2), con excepción de los animales del T4 que mostraron una mayor secreción de P₄ en el día 15

(11.61 ng mL⁻¹) con respecto al día anterior (8.28 ng mL⁻¹). El aumento en concentraciones plasmáticas de P₄ en este periodo está asociado a la capacidad del cuerpo lúteo para secretar P₄ (Evans y Robinsosn, 1980; Bartlewski *et al.*, 1999).

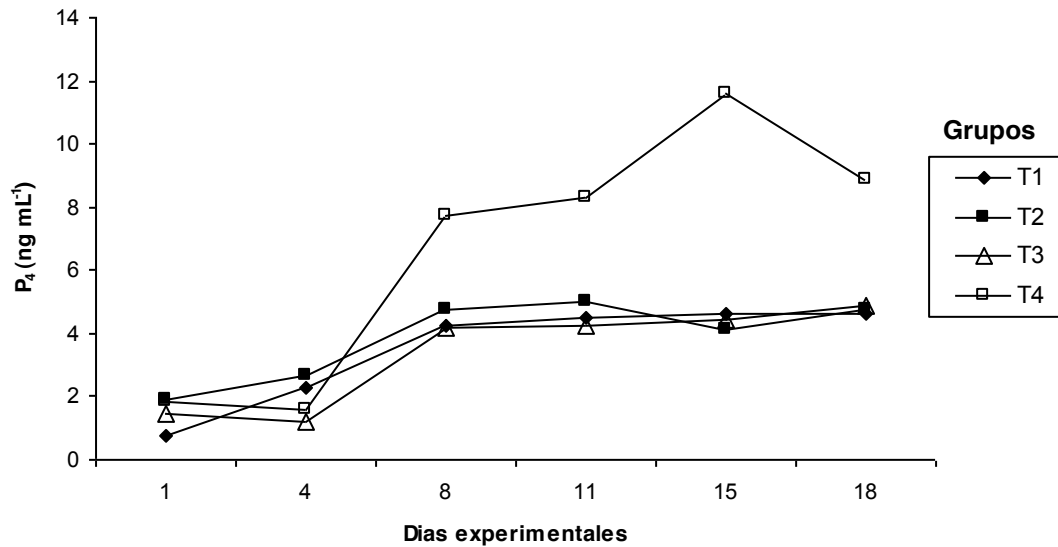


Figura 2. Concentraciones plasmáticas de P₄. Grupo T1) Tres aplicaciones de PGF_{2α} (grupo testigo); Grupo T2) 40 mg de FGA por 11 días; Grupo T3) 40 mg de FGA por 5 días; Grupo T4) 50 µg de GnRH el día -7. El día del retiro de las esponjas se realizó una aplicación de PGF_{2α} en las ovejas de todos los grupos. Día 0= día del estro.

CONCLUSIÓN

En las conclusiones del presente experimento, los tratamientos de FGA por 5 días más la aplicación de PGF_{2α} el día de finalizado el tratamiento con la esponja, la sola aplicación de PGF_{2α} y la combinación de GnRH más PGF_{2α} tienen resultados similares en sincronización de estro y mejores resultados en porcentaje de gestación en comparación al tratamiento con FGA por periodos de 11 días, lo que permite el uso de tratamientos cortos con FGA del que normalmente se utiliza, así como también se puede utilizar PGF_{2α} y su combinación con GnRH en la sincronización de estro en ovejas.

LITERATURA CITADA

- Bartlewski, P. M., Beard, A. P. and C. N. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52:115-130.
- Bearden, H. J., y Fuquay J. 1982. Reproducción animal aplicada. Ed. El Manual Moderno. México. pp. 53
- Carlson, K.M., Pohl, H. A., Marcek, J.M., Muser, R.K., and J. E. Wheaton. 1989. Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispenser for synchronization of estrus in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 18:205-218.
- Crosby, T.F., Boland, M.P. and I. Gordon. 1991. Effect of progestagen treatment of the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 24:109-118.
- Darwash, A. O., Ward, G. L., Lamming, G. E. and J. A. Woolliams. 1999. The effects of raising post-oestrus progesterone concentrations on luteal activity in post-partum dairy cows. *Anim. Sci.* 68:527-532.
- Evans, G., and T. J. Robinson. 1980. The control of fertility in sheep: Endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *J. Agric. Sci.* 94:69-88.
- Fabre, N.C. and G. B. Martin. 1991. Roles of progesterone and oestradiol in determining the temporal sequence and quantitative expression of sexual receptivity and the preovulatory LH surge in the ewe. *J. Endocrinol.* 130:367-379.
- Fitzgerald, J. A., Ruggles, A. J., Stellflug, J. N. and W. Hansel. 1985. A seven – day synchronization method for ewes using medroxyprogesterone acetate (MAP) and prostaglandin F_{2α}. *J. Anim. Sci.* 61:466-470.

- Fukui, Y., Ishikawa D., Ishida, N., Okada N., Itagaki, R. and T. Ogiso. 1999. Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four different intravaginal devices during the breeding season. *J. Reprod. Dev.* 45:337-343.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climatológica de Köppen. México. 1981. Pag. 13-14, 51, 124.
- Godfrey, R. W., Gray M. L. and J. R. Collins. 1997. A comparison of two methods of oestrous synchronization of hair sheep in the tropics. *Anim. Reprod. Sci.* 47:99-106.
- Godfrey, R. W., Collins J. R., Hensley, E. L. and J. E. Wheaton. 1999. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 51:985-997.
- Greyling, J. P. C., Erasmus, J. A., Taylor, G. J., and M. Vander 1997. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. *Small Rum. Res.* 26: 137-143.
- Hamra, A. H., Massri, Y. G., Marcek, J. M. and Wheaton. 1986. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone-controlled internal drug-release dispensers, implants and sponges. *Anim. Reprod. Sci.* 11:187-194.
- Hamra, A. H., McNally, J. W., Marcek, J. M., Carlson, K. M., and J. E. Wheaton. 1989. Comparison of progesterone sponges, Cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrus ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 18:219-226.

- Hulet, C.V., Black Well, R.L., Ercambrack, S.K., Price, D.S., and L. O. Wilson. 1962. Mating behaviour of the ewe. *J. Anim. Sci.* 21:870-874.
- Littell, R. C, Henry, P. R., and C.B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76:1216-1231.
- Macías, C. U., Quintero, J A., Bautista, A. A., Vázquez, A., Magaña, F. A., Cienfuegos, R., y R. A. González. 2005. Efecto de la PMSG sobre el comportamiento reproductivo en ovejas de pelo tratadas con acetato de fluorogestona. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 13:385-388.
- Mc Donnell, H. F. 1985. Effects of progesterone-impregnated sponge treatment on peripheral plasma hormone levels and fertility in the cyclic ewe. *Theriogenology* 24:575-586.
- McNeilly, A. S., Picton, H M., Campell, B. K., and D. T. Baird. 1991. Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 43: 177-186.
- Méndez, M. M., Hernández, C. J., Pacheco, R. N. O. y Porras A. A. 2000. Los tratamientos sincronizadores de estro, utilizando progestágenos en combinación con estrógenos, inducen conducta estral en ovejas ovariectomizadas. *Vet. Méx.* 31:371-373.
- Peralta, O. J., Sánchez-Torres, E. M., García, F. E. O., Ávila, C. R., Martínez, G. J., Montañez, V. O., Molina, M. P., and M. J. L. Cordero. 2007. Oestrous synchronization of ewes, using norgestomet combined with $\text{PGF}_{2\alpha}$ and hCG in the reproductive season. *Res. J. Anim. Sci.* 1:44-48.
- Rhodes L., and P. W. Nathanielsz. 1988. Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal

- medroxiprogesterone sponges for estrus synchronization in ewes. *Theriogenology* 30: 831-836.
- SAS. 1982. SAS. Users Guide: Statistics, (version 5 Ed.). Cary, NC, USA Inst. Inc.
- Uribe, V. L. F., Obab, E., y M. Souza. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Arch. Med. Vet.* 40: 83-88.
- Urviola, M. S., Leyva, V. V., Huamán, U. H., y W. García. 2005. Manipulación de la ovulación del folículo dominante con prostaglandina en diferentes estadios del ciclo estrual sobre las tasas reproductivas en ovinos corriedale. *Rev. Inv. Vet.* 16: 103-113.
- Van Cleeff, J., Karsch F. J., and V. Padmanabhan. 1998. Characterization of endocrine events during the peri-estrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. *Domest. Anim. Endocrinol.* 15: 23-34
- Viñoles, C., Forsberg, M., Bancharo, G., and E. Rubianes. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55:993-1004.
- Wheathon, J.E., Carlson, K.M., Windels, HF., and L. J. Johnston. 1993. CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 127-141.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 77: 1-14

**TRATAMIENTOS CORTOS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL
LIBERADOR DE DROGAS (CIDR) Y PGF_{2α} EN LA SINCRONIZACION DE
ESTRO EN CORDERAS**

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el tratamiento con progesterona natural (P₄) por periodos cortos y la aplicación de PGF_{2α} en la sincronización del estro en corderas. Se utilizaron 40 corderas púberes (cruzas de Katahdin y Dorper) que fueron asignadas al azar a cuatro tratamientos (n=10); T1, grupo testigo, aplicación de tres inyecciones intramusculares de PGF_{2α} con nueve días de intervalo entre cada aplicación y una inyección de un análogo de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el día -8, día 0= día del estro en las corderas; T2 aplicación vía intravaginal de 300 mg de P₄ mediante un dispositivo liberador de la hormona (CIDR-G) por 11 días; T3, aplicación intravaginal de un CIDR-G por 8 días; T4, aplicación intravaginal de un CIDR-G por 5 días. El día del retiro de los dispositivos (día -2) se aplicó una dosis de PGF_{2α} en todos los grupos. La presentación de estro fue de 50% para el grupo T1, de 100% para los grupos T2 y T3 y de 90% para el grupo T4, con diferencias entre grupos (P<0.05). El porcentaje de partos fue de 40% para el grupo T1, de 70% para los grupos T2 y T3, y de 80% para el grupo T4, sin diferencias (P>0.05). Las concentraciones de progesterona fueron altas en los días 9 y 12 en todos los grupos, lo que corresponde a la secreción normal por parte del cuerpo lúteo. Bajo las condiciones del presente experimento, la aplicación de un CIDR-G por 8 o 5 días no afecta la sincronización de estro y porcentaje de partos en corderas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the treatment with natural progesterone (P4) by short periods and the application of $\text{PGF}_{2\alpha}$ in the synchronization of estrous in lambs. Forty ewe lambs (crossbreed of Katahdin and Dorper) were assigned at random to one of four treatments (n=10); T1, control group, injection of three $\text{PGF}_{2\alpha}$ with nine days of interval between each injection and an injection of an analogue of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the day -8, day 0= day estrous in the lambs; T2, intravaginal insertion of 300 mg of progesterone using an intravaginal device controlling drug release (CIDR-G) for 11 days; T3, intravaginal insertion of a CIDR-G for 8 days; T4, intravaginal insertion of a CIDR-G for 5 days. The day of the devices removal (day -2) a dose of $\text{PGF}_{2\alpha}$ was injected in all groups. Estrous percentage was 50% for group T1, 100% for the groups T2 and T3 and 90% for the T4 group. The percentage of lambing was 40% for group T1, 70% for groups T2 and T3, and 80% for the T4 group. Progesterone concentrations were high in days 9 and 12 in all the groups, due to the normal function of the corpus luteum. Under the conditions of this experiment, the application of a CIDR-G for 8 or 5 days did not affect the synchronization of estrous and the percentage of lambing in ewes.

INTRODUCCIÓN

La sincronización de estro en la industria ovina, permite al productor programar partos en la época de mayor disponibilidad de alimentos, así como facilitar el manejo de los animales y de las instalaciones (Carlson *et al.*, 1989). La inseminación artificial y la transferencia de embriones, también se pueden beneficiar de la manipulación del ciclo estral (Beck *et al.*, 1993). Los dispositivos intravaginales controladores de liberación de drogas contienen progesterona (P_4), la cual es utilizada para sincronizar el estro en la oveja (Wheaton *et al.*, 1993). El tiempo de permanencia más común es de 12 a 14 días (Rhodes y Nathanielsz, 1988; Carlson *et al.*, 1989), con buen porcentaje de presentación de estro en ovejas en anestro (92%; Hamra *et al.*, 1986) y ovejas en época reproductiva (91%; Carlson *et al.*, 1989), pero con reducción en la fertilidad (Dixon *et al.*, 2006). Lo anterior puede ser debido a la tasa de absorción del componente del dispositivo, ya que inicialmente se observa un efecto supralúteo, lo que puede aumentar el recambio folicular, pero hacia el final del tratamiento puede existir un efecto sublúteo que retrase el recambio folicular (Hamra *et al.*, 1986). Como consecuencia de esto se puede presentar un folículo dominante persistente al final del tratamiento, el cual puede ovular después de finalizados los tratamientos por periodos largos (Viñoles *et al.*, 2001).

El objetivo del presente estudio fue el de evaluar el tratamiento con progesterona (P_4) por periodos cortos y la aplicación de $PGF_{2\alpha}$ en la sincronización de estro en corderas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El experimento se realizó en una granja ovina situada en el predio “El Tilzapote”, ubicado en la comunidad de Ayutita, Autlán de Navarro, al sur del estado de Jalisco (19°48' de latitud Norte y 104°24' de longitud oeste), con una altura sobre el nivel del mar de 1,013 m, el tipo de clima es BS₁(h') w”(i') seco, con lluvias en verano; la temperatura media anual es de 23.5 °C y la precipitación media anual de 729.1 mm (García, 1981).

Animales experimentales

Se utilizaron 40 corderas púberes, cruce de Katahdin y Dorper, de entre 8 y 9 meses de edad con peso promedio de 44.50±3.50 kg, en condiciones de estabulación, el experimento se realizó entre los meses de octubre y noviembre.

Sincronización de estros

Las corderas fueron asignadas a uno de cuatro tratamientos (n=10): T1 (grupo testigo) tres aplicaciones intramusculares de PGF_{2α} (15 mg de dinoprost por aplicación; Lutalyse, Upjohn, México) con 9 días de intervalo entre cada aplicación (días experimentales -20, -11 y -2), el día -8 se les inyectó un análogo de GnRH (50 µg de acetato de gonadorelina; Ovalyse, Pfizer, México); T2 aplicación vía intravaginal de 300 mg de P₄ mediante un dispositivo liberador de la hormona (CIDR-G) por 11 días; T3 aplicación intravaginal de un CIDR-G por 8 días; T4 aplicación intravaginal de un CIDR-G por 5 días. El día del retiro de los dispositivos (día -2) se aplicó una dosis de PGF_{2α} en todos los grupos. El día 0 se consideró como el día de estro en las corderas.

Detección de estros y monta natural

La detección del estro se inició 24 horas después de retirada la esponja intravaginal y una vez que se aplicó $\text{PGF}_{2\alpha}$, las ovejas fueron observadas por aproximadamente 1 hora cada 4 horas, a las 4:00, 8:00, 12:00, 16:00, 20:00 y 24:00 horas, por un periodo de 4 días; para detectar las ovejas que manifestaron estro se utilizó un macho con mandil, se consideró que la hembra estaba en estro cuando permitió la monta quedándose inmóvil. Al momento de detectar el estro, la hembra fue montada por un semental, con una segunda monta 12 h después. Se utilizaron seis machos adultos con fertilidad probada los cuales se asignaron a las hembras al azar.

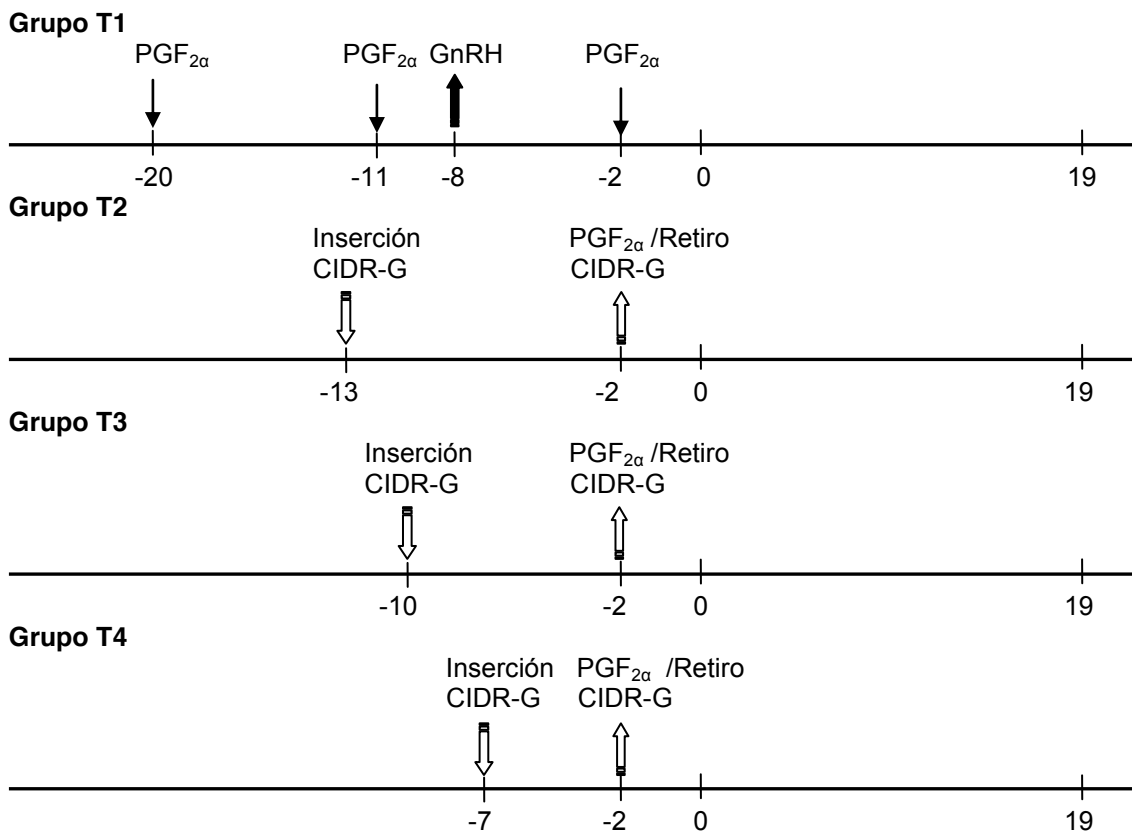


Figura 1. Secuencia experimental de la sincronización del estro en ovejas. Día 0= día de estro.

Muestreo sanguíneo para determinar P₄

Para determinar las concentraciones de P₄, se colectaron muestras de sangre vía vena yugular dos veces por semana a partir del día -2 al 19 del ciclo estral. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2500 × g por 15 minutos y el suero fue almacenado a -20°C hasta su análisis.

Análisis hormonales

La concentración de P₄ se determinó por método inmunoenzimático (Darwash *et al.*, 1999) con un kit comercial (Immunometrics UK Ltd. 280 Munster Road, London SW6 6BQ). La sensibilidad del análisis fue de 0.12 ng mL⁻¹, con coeficientes de variación intra e inter ensayo de 8.3 y 10.7%. Los análisis de hormonas se realizaron en el Laboratorio de hormonas proteicas y esteroides del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, departamento de Biología de la Reproducción.

Variables estudiadas

- Presentación de estros. Tiempo en que la hembra permite ser montada por el macho y acepta la cópula (Bearden y Fuquay, 1982).
- Inicio de estro. Horas transcurridas desde el retiro de la esponja intrauterina hasta que la hembra aceptó la primera monta.
- Duración del estro. Horas transcurridas desde que se detectó el estro, hasta que la hembra dejó de manifestar receptividad al macho.
- Porcentaje de partos. Número de hembras paridas/número de hembras en estro.

Análisis estadístico

Los resultados de los tratamientos de las hembras que presentaron estro se analizaron mediante la prueba de χ^2 . Los datos de inicio de estro, duración

de estro y concentraciones de P_4 corresponden a valores promedio \pm error estándar de la media (EEM) utilizando PROC GLM (SAS, 1982). Las diferencias entre las medias de tratamiento ($P < 0.05$) se analizaron mediante la prueba de Tukey. Las concentraciones de P_4 fueron analizadas mediante el procedimiento PROC MIXED (SAS, 1982) para un diseño completamente al azar (Littell *et al.*, 1998).

El modelo estadístico utilizado para el diseño experimental completamente al azar fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + \varepsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = variable de respuesta en la j -ésima repetición del i -ésimo tratamiento.

μ = media general.

δ_i = efecto del i -ésimo tratamiento.

ε_{ij} = error aleatorio.

La concentración promedio de progesterona se analizó según un diseño completamente al azar con mediciones repetidas, bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + d_{ik} + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde :

Y_{ijk} = variable de respuesta.

μ = media general.

α_i = efecto de i -ésimo tratamiento.

d_{ik} = error aleatorio para k -ésima repetición dentro del i -ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j -ésimo tiempo.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = interacción entre tratamiento y tiempo.

ε_{ijk} = error experimental aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSION

Presentación de estros

Los resultados en la presentación de estros (Cuadro 1) fueron mayores para los grupos T2 y T3 (100% de presentación de estro) y T4 (90%) comparado con las hembras del grupo T1 (50%; $P < 0.05$).

La presentación de estro obtenida en el grupo T1 (50%) es similar a lo informado por Álvarez *et al.* (1994) quienes encontraron 42.8% en presentación de estro, administrando dos dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ con 8 días de diferencia entre cada aplicación. En este sentido, Herrera *et al.* (1990) mencionan que entre los días 7 al 10 del ciclo estral en la oveja, se disminuye la sensibilidad del cuerpo lúteo al efecto luteolítico de $\text{PGF}_{2\alpha}$, ya que la misma dosis que ocasionó la regresión lútea, al aplicarse entre los días 4 y 5 o entre los días 11 a 14 del ciclo, no tuvo la misma eficiencia cuando se usó en los días 7 a 10. En el presente experimento el esquema de sincronización con tres aplicaciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$ con 9 días de diferencia, debió haber provocado que en la última inyección una alta proporción de las ovejas estuvieran entre los días 7 y 8, ocasionando disminución en la presentación del estro.

Los resultados en los grupos T2, T3 y T4, son similares a lo reportado por Molina *et al.* (2005) quienes obtuvieron 100% de presentación de estro utilizando un CIDR-G por 12 días con presencia o sin presencia de cuerpo lúteo en ovejas. Godfrey *et al.* (1997) y Godfrey *et al.* (1999) también reportaron 100% de presentación de estro con la aplicación de un CIDR por 12 días en ovejas.

En contraste, Knights *et al.* (2001) obtuvieron 77% de presentación de estro con aplicación de un CIDR por 5 días en ovejas en anestro. Viñoles *et al.* (2001) no encontraron diferencias en presentación de estro después de 6 días de finalizados los tratamientos con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 12 y 6 días (88 y 95%, respectivamente).

Inicio del estro

El inicio de estro fue a las 40 ± 5.21 , 42.4 ± 2.61 , 50.4 ± 4.62 y 36.8 ± 2.64 horas, para los grupos T1, T2 T3 y T4, respectivamente. Resultados similares fueron reportados por Knights *et al.* (2001) quienes obtuvieron un inicio de estro de 40 y 43 horas después de la aplicación de un CIDR por 12 y 5 días, respectivamente, con o sin la aplicación de hormona folículo estimulante (FSH) al final de tratamiento. Godfrey *et al.* (1999) informaron un inicio de estro de 26.5 ± 2.3 horas, utilizando un CIDR con 300 mg de P_4 por 12 días en ovejas S. Croix White y Barbados Blackbelly.

Van Cleeff *et al.* (1998) observaron un inicio de estro a las 35.2 ± 1.9 y 42.4 ± 3.4 horas con uno o dos CIDR por 8 días respectivamente, en ovejas Suffolk en época reproductiva. Estos mismos autores mencionan que un inicio más temprano puede ser debido a las bajas concentraciones de P_4 al final del tratamiento, observándose un desarrollo folicular similar al de la fase folicular, debido a esto es posible que el uso del CIDR por 12 días no sea lo adecuado para obtener una buena sincronización de estro en ovejas.

Duración del estro

Los resultados en duración de estro (Cuadro 1) fueron de 20.8 ± 4.63 , 34 ± 3.73 , 23.6 ± 2.76 y 33.77 ± 3.59 horas para los grupos T1, T2, T3 y T4 respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por Greyling *et al.*

(1997) quienes realizaron un experimento durante la época reproductiva utilizando 300 UI de PMSG y esponjas impregnadas con 60 o con 30 mg de MAP en ovejas Merino. La duración del estro fue de 25.1 horas para borregas tratadas con esponjas de 60 mg de MAP y de 28.3 horas para aquellas que recibieron esponjas con 30 mg de MAP. Camacho *et al.* (2003) reportaron una duración de estro de 60.5 horas con la aplicación vía vaginal de 45 mg de acetato de flurogestona (FGA) por 12 días en corderas púberes.

Cuadro 1. Presentación del estro, inicio del estro, duración del estro y porcentaje de partos, después de finalizados los tratamientos.

Grupo	Presentación del estro (%)	Inicio del estro (h)	Duración del estro (h)	Partos (%)
T1*	50 ^b	40±5.21	20.8±4.63	40 (4/10)
T2*	100 ^a	42.4±2.61	34±3.73	70 (7/10)
T3*	100 ^a	50.4±4.62	23.6±2.76	70 (7/10)
T4*	90 ^{ab}	36.8±2.64	33.77±3.59	80 (8/10)

^{abc} Literales distintas en una misma columna indican diferencia (P<0.05)

*T1) Tres aplicaciones de PGF_{2α} y una aplicación de GnRH (grupo testigo); T2) aplicación de un CIDR-G por 11 días; T3) aplicación de un CIDR-G por 8 días; T4) aplicación de un CIDR-G por 5 días. El día en que se retiraron los dispositivos se realizó una última aplicación de PGF_{2α} en estos grupos. Día 0= día de estro.

Porcentaje de partos

El porcentaje de partos fue de 40, 70, 70 y 80% para los grupos T1, T2, T3 y T4 respectivamente. Carlson *et al.* (1989) reportaron 74% de partos utilizando un CIDR por 12 días, lo cual es similar a lo obtenido en las borregas de los tratamientos T2 y T3. En otros estudios obtuvieron 59.5% de partos, utilizando un CIDR por 5 días más la aplicación de PGF_{2α} el día del retiro de los dispositivos (Dixon *et al.*, 2006). Crosby *et al.* (1991) reportaron 56% de partos utilizando un CIDR por 12 días más la aplicación de gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG).

Concentraciones plasmáticas de P₄

Las concentraciones de P₄ se detectaron altas en el día -2 (día en que se finalizaron los tratamientos) para todos los grupos (Cuadro 2). Estas concentraciones son similares a lo reportado por Van Cleeff *et al.* (1998) quienes obtuvieron una concentración de P₄ de 5.15 ng mL⁻¹ al momento de finalizar los tratamientos con 2 CIDR por 12 días en ovejas Suffolk.

Se observó una mayor concentración de P₄ en el día -2 con respecto al día 2 en todos los grupos, con diferencias significativas (P<0.05) en las borregas de los grupos T2 y T4 con 9.88 y 8.73 ng mL⁻¹ en el día -2 y con 5.36 y 3.27 ng mL⁻¹ en el día 2, respectivamente. Un patrón similar en concentraciones de P₄ fueron observadas en animales sincronizados con un CIDR por 14 días más la aplicación de 500 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) el día del retiro de los dispositivos, con lo cual se observó un significativo aumento en concentraciones de P₄ desde el sexto hasta el décimo día después de observada la ovulación. En el presente experimento también se encontraron concentraciones altas de P₄ en los días 9 y 12 en todos los grupos, lo que puede ser asociado a la capacidad normal de producción de P₄ por parte del cuerpo lúteo (Bartlewski *et al.*, 1999).

En las borregas del grupo T1 no se observó disminución significativa en la concentración de P₄ entre el día -2 (día de la aplicación de PGF_{2α}) y día 2 (Figura 2). En la oveja se da como un hecho que la aplicación de PGF_{2α} entre los días 5 a 14 del ciclo estral provoca una rápida disminución en las concentraciones de P₄ (menor a 0.5 ng mL⁻¹; Acritopoulou y Haresign, 1980). No obstante, Herrera *et al.* (1990) mencionan que entre los días 7 al 10 del ciclo la sensibilidad al efecto luteolítico de PGF_{2α} está disminuida, ya que la

misma dosis que ocasiona regresión lútea aplicada entre los días 4 y 5 o entre los días 11 y 14 del ciclo, no es igual de eficiente en los días 7 a 10. En concordancia con esto Hernández *et al.* (2001) mencionan que el esquema de sincronización con dos inyecciones de PGF_{2α} con 8 días de intervalo entre cada aplicación, tiene poca eficacia debido a que una proporción de ovejas (64.3%) tienen fallas en la regresión lútea. La poca disminución en concentración de P₄ en el grupo T1 pudo haber afectado la respuesta al estro en este grupo.

Cuadro 2. Concentraciones plasmáticas de P₄ después de terminados los tratamientos (media ± error estándar, ng mL⁻¹).

Grupo	Días experimentales después de terminados los tratamientos						
	-2	2	5	9	12	16	19
T1 [*]	9.62±1.93	8.08±1.93	7.15±1.93	8.70±1.93 _y	8.38±1.93 _y	4.93±1.93	8.41±1.93
T2 [*]	9.88±1.93 ^a	5.36±1.93 ^b	5.44±1.93 ^b	10.49±1.93 ^{a_y}	9.99±1.93 _y	8.26±1.93	7.68±1.93
T3 [*]	8.21±1.93	5.45±1.93	7.00±1.93	5.22±1.93 _z	5.04±1.93 _y	3.89±1.93	3.33±1.93
T4 [*]	8.73±1.93 ^a	3.27±1.93 ^b	5.11±1.93	5.51±1.93 _z	4.17±1.93 _z	3.81±1.93	5.46±1.93

^{abc} Literales distintas en una misma línea indican diferencia (P<0.05)

^{xy} Literales distintas en una misma columna indican diferencia (P<0.05)

T1) Tres aplicaciones de PGF_{2α} y una de GnRH (grupo testigo); T2) aplicación de un CIDR-G por 11 días; T3) aplicación de un CIDR-G por 8 días; T4) aplicación de un CIDR-G por 5 días. El día -2 se realizó la última aplicación de PGF_{2α} en todos los grupos. El día 0 se consideró como el día de estro en las corderas.

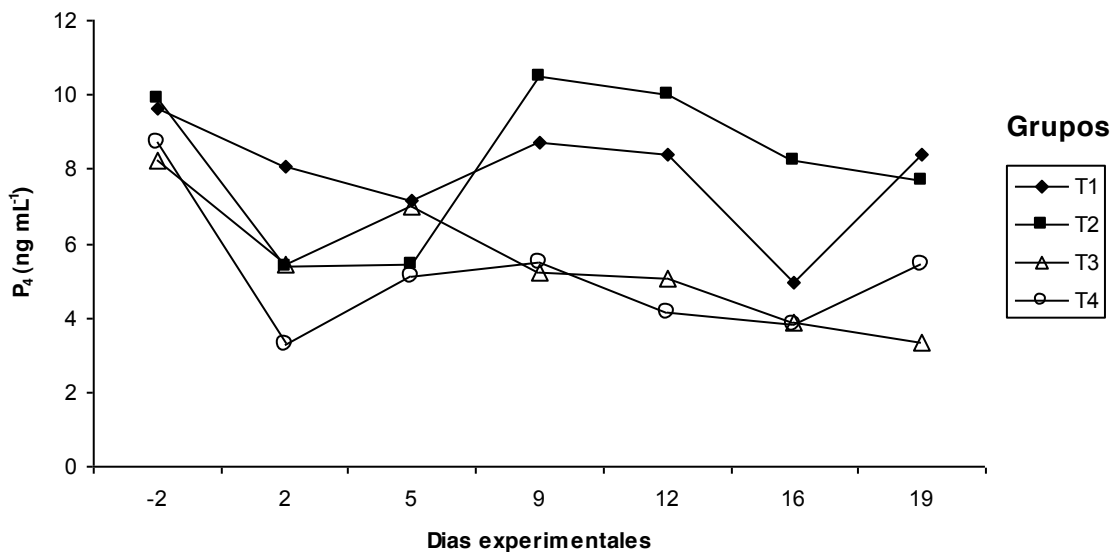


Figura 2. Concentraciones plasmáticas de P₄. T1) Tres aplicaciones de PGF_{2α} y una de GnRH (grupo testigo); T2) aplicación de un CIDR-G por 11 días; T3) aplicación de un CIDR-G por 8 días; T4) aplicación de un CIDR-G por 5 días. El día -2 se realizó la última aplicación de PGF_{2α} en todos los grupos. Día 0= día de estro en las corderas.

CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos se concluye que la aplicación de un CIDR-G por periodos de 8 o 5 días más una inyección de PGF_{2α} el día de finalizados los tratamientos con el dispositivo, no afectó la sincronización de estro y el porcentaje de partos, por lo que los tratamientos por periodos cortos con CIDR-G pueden ser utilizados en la sincronización de estro de corderas púberes.

La utilización de PGF_{2α} con 9 días de intervalo entre cada aplicación es poco eficiente en la sincronización de estro, debido a que disminuye la proporción de corderas que presentan estro.

LITERATURA CITADA

- Acritopoulou, S., and W. Haresign. 1980. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 α given at different stages of the oestrous cycle. *J. Reprod. Fert.* 58:219-223.
- Álvarez, R. A. G., Rodríguez, R.O., y L. J. J. Hernández. 1994. Sincronización del estro en la borrega Pelibuey con la utilización de prostaglandina PGF_{2 α} . *Téc. Pecu. Méx.* 32:25-29.
- Bartlewski, P. M., Beard, A. P. and C. N. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52:115-130.
- Bearden, H. J., y Fuquay J. 1982. Reproducción animal aplicada. Ed. El Manual Moderno. México. pp. 53
- Beck, N. F. G., Davies, B., and S. P. Williams. 1993. Oestrous synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. *Anim. Prod.* 56:20-210.
- Carlson, K.M., Pohl, H. A., Marcek, J.M., Muser, R.K., and J. E. Wheaton. 1989. Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispenser for synchronization of estrus in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 18:205-218.
- Camacho, R.J.C., Pro Martínez A., Becerril P.C.M., Gallegos S.J. 2003. Pico preovulatorio de LH en ovejas Pelibuey púberes y prepúberes. En, *Memorias. Fisiología de la reproducción en rumiantes. Colegio de Postgraduados. Ganadería*, pp. 245-250.
- Crosby, T.F., Boland, M.P. and I. Gordon. 1991. Effect of progestagen treatment of the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 24:109-118.

- Darwash, A. O., Ward, G. L., Lamming, G. E. and J. A. Woolliams. 1999. The effects of raising post-oestrus progesterone concentrations on luteal activity in post-partum dairy cows. *Anim. Sci.* 68:527-532.
- Dixon, A. B., Knights, M., Pate, J. L., Lewis, P. E., and E. K. Inskeep. 2006. Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of prostaglandin F_{2α}. *Reprod. Dom. Anim.* 41:142-148.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climatológica de Köppen. México. 1981. pp. 13-14, 51, 124.
- Godfrey, R. W., Gray M. L. and J. R. Collins. 1997. A comparison of two methods of oestrous synchronization of hair sheep in the tropics. *Anim. Reprod. Sci.* 47:99-106.
- Godfrey, R. W., Collins J. R., Hensley, E. L. and J. E. Wheaton. 1999. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 51:985-997.
- Greyling, J. P. C., Erasmus J. A., Taylor G. J., and M. Vander 1997. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. *Small Rum. Res.* 26: 137-143.
- Hamra, A. H., Massri, Y. G., Marcek, J. M., and J. E. Wheaton. 1986. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone-controlled internal drug-release dispensers, implants and sponges. *Anim. Reprod. Sci.* 11:187-194.

- Hernández, C. J., Valencia, M. J. y Q. L. Zarco. 2001. Regresión del cuerpo lúteo y presentación del estro en ovejas con dos inyecciones de prostaglandina con 8 días de intervalo. *Téc. Pecu. Méx.* 39:53-58.
- Herrera, H. L., Feldman, S. D., Zarco, L., Valencia, M. J., Ortiz, H. A., y C. S. Angeles. 1990. Evaluación del efecto luteolítico de la prostaglandina PGF2alfa. *Téc. Pecu. Méx.* 21:143-147.
- Knights, M., Hoehn, T., Lewis, P. E., and E. K. Inskeep. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 79:1120-1131.
- Littell, R. C, Henry, P. R., and C.B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76:1216-1231.
- Molina, M. P., Sánchez, T. E. T., García, F. E. O., Martínez, G. A., Cárdenas, L. M., Peralta, O. J., Cordero, M. J. L., Hizarza, E. A., y C. E. E. Ortega. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia* 39:11-18.
- Rhodes L., and P. W. Nathanielsz. 1988. Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal medroxyprogesterone sponges for estrus synchronization in ewes. *Theriogenology* 30: 831-836.
- SAS. 1982. SAS. Users Guide: Statistics, (version 5 Ed.). Cary, NC, USA Inst. Inc.
- Van Cleeff, J., Karsch, F. J., and V. Padmanabha. 1998. Characterization of endocrine events during the peri-estrous period in sheep after estrous

synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device.

Domest. Anim. Endocrinol. 15: 23-34.

Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G., and E. Rubianes. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55:993-1004.

Wheaton, J. E., Carlson, K. M., Windels, H. F. and L. J. Johnston. 1993. CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 33:127-141.

CONCLUSION GENERAL

En las condiciones del presente estudio, los tratamientos de FGA por 5 días, aplicación de GnRH más PGF_{2α} tiene mejores resultados en porcentaje de gestación en comparación al tratamiento de FGA por periodos de 11 días en ovejas.

La aplicación de un CIDR por periodos de 8 y 5 días no afecta la sincronización de estro y el porcentaje de partos con respecto al tratamiento con un CIDR por 11 días en corderas púberes. La utilización de PGF_{2α} con 9 días de intervalo entre cada aplicación es poco eficiente, debido a que disminuye la proporción de corderas que presentan estro.

En general los tratamientos por periodos largos con FGA o CIDR, pueden ser reducidos sin que se afecte la sincronización de estro en ovejas.

ANEXO 1

Concentraciones plasmáticas de P₄ con base en la comparación de medias por tratamiento

Los valores de P₄ obtenidos en los análisis sanguíneos fueron analizados por tratamiento, utilizando el procedimiento MIXED de SAS para mediciones repetidas en el tiempo. El procedimiento dio como resultado las medias de P₄ por tratamiento por cada periodo, así como la comparación entre cada una de ellas con los demás tratamientos. Para fines de la investigación sólo se tomo en cuenta la información más general, es decir las medias por periodo por tratamiento. Una vez que se identificaron los valores medios por tratamiento, se realizó un gráfico y un cuadro en los cuales se aprecian claramente el comportamiento de P₄ á través del tiempo de acuerdo a cada uno de los tratamientos planteados. En el siguiente ejemplo se aprecia el comportamiento de P₄ en las hembras de cada uno de los tratamientos que resultaron gestantes a consecuencia de los tratamientos.

Experimento 1

data progest;				272	1	3	4.9298
input animal trat periodo conc;				272	1	4	6.4056
cards;				272	1	5	7.536
208	1	1	2.7318	272	1	6	4.4274
208	1	2	3.5168	253	1	1	2.041
208	1	3	3.0772	253	1	2	2.198
208	1	4	4.9298	253	1	3	5.5892
208	1	5	7.536	253	1	4	2.041
208	1	6	8.1954	253	1	5	2.2294
246	1	1	4.0192	253	1	6	0.8164
246	1	2	2.1038	248	1	1	5.5892
246	1	3	5.3694	248	1	2	1.7898
246	1	4	8.9176	248	1	3	0.7536
246	1	5	5.3694	248	1	4	1.3502
246	1	6	8.1012	.			
219	1	1	3.5482	.			
219	1	2	4.396	.			
219	1	3	6.0288	.			
219	1	4	3.4854	.			
219	1	5	0.9734	202	3	2	0.8478
219	1	6	1.3502	202	3	3	11.4296
272	1	1	0.4396	202	3	4	7.5988
272	1	2	0.5652	202	3	5	7.7558

258	4	1	0.3768	242	4	4	6.437
258	4	2	0.9106	242	4	5	3.8308
258	4	3	5.1182	242	4	6	5.4322
258	4	4	0.8792	250	4	1	0.157
258	4	5	0.6594	250	4	2	2.1038
258	4	6	2.3236	250	4	3	3.7052
217	4	1	2.512	250	4	4	0.314
217	4	2	2.355	250	4	5	0.1884
217	4	3	5.0868	250	4	6	0.8478
217	4	4	1.9782	225	4	1	0.0314
217	4	5	0.0942	225	4	2	0.314
217	4	6	5.1182	225	4	3	3.768
279	4	1	0.1884	225	4	4	4.3018
279	4	2	3.7052	225	4	5	6.4998
279	4	3	5.809	225	4	6	7.0022
279	4	4	5.338	220	4	1	0.1884
279	4	5	7.9442	220	4	2	0.942
279	4	6	7.0022	220	4	3	2.6376
242	4	1	1.4444	220	4	4	5.3694
242	4	2	1.9468	220	4	5	8.2896
242	4	3	4.082	220	4	6	4.553

```

proc print;
proc mied;
class animal trat periodo;
model conc = trat periodo tratperiodo;
random animal trat;
repeated peridosub=animal trat;
lsmeans trat;
lsmeans trat periodopdif;
lsmeans periodo;
run;

```

Salida de SAS

Esta salida nos indica el número de observaciones que tenemos y los datos proporcionados al SAS.

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.PROGEST
Dependent Variable	conc
Covariance Structure	Variance Components
Subject Effect	animal(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Parameter
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Containment

Class Level Information

Class	Levels	Values
animal	40	113 202 208 213 214 215 216 217 219 220 222 224 225 226 227 234 239 241 242 245 246 248 250 251 252 253 255 256

	258	262	265	266	270	272	277
	279	282	294	296	298		
trat	4	1	2	3	4		
periodo	6	1	2	3	4	5	6

Dimensions

Covariance Parameters	2
Columns in X	35
Columns in Z	40
Subjects	1
Max Obs Per Subject	240
Observations Used	240
Observations Not Used	0
Total Observations	240

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	1108.70509059	
1	1	1100.08707944	0.00000000

Convergence criteria met.

The Mixed Procedure

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate
animal(trat)		1.1177
periodo	animal(trat)	6.5665

Fit Statistics

Res Log Likelihood	-550.0
Akaike's Information Criterion	-552.0
Schwarz's Bayesian Criterion	-553.7
-2 Res Log Likelihood	1100.1

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num Den		F Value	Pr > F
	DF	DF		
trat	3	36	10.84	<.0001
periodo	5	180	26.33	<.0001
trat*periodo	15	180	3.05	0.0002

Comparación entre medias de periodo por tratamiento en las hembras

Least Squares Means

Effect	trat	periodo	Standard		DF	t Value	Pr > t
			Estimate	Error			
trat	1		3.8638	0.4703	36	8.21	<.0001
trat	2		3.4059	0.4703	36	7.24	<.0001
trat	3		6.6647	0.4703	36	14.17	<.0001
trat	4		3.5095	0.4703	36	7.46	<.0001
trat*periodo	1	1	1.8934	0.8766	180	2.16	0.0321
trat*periodo	1	2	2.6439	0.8766	180	3.02	0.0029
trat*periodo	1	3	4.7445	0.8766	180	5.41	<.0001
trat*periodo	1	4	5.0146	0.8766	180	5.72	<.0001
trat*periodo	1	5	4.1417	0.8766	180	4.72	<.0001
trat*periodo	1	6	4.7445	0.8766	180	5.41	<.0001
trat*periodo	2	1	1.4350	0.8766	180	1.64	0.1034
trat*periodo	2	2	1.2372	0.8766	180	1.41	0.1599
trat*periodo	2	3	4.1982	0.8766	180	4.79	<.0001
trat*periodo	2	4	4.2610	0.8766	180	4.86	<.0001
trat*periodo	2	5	4.4148	0.8766	180	5.04	<.0001
trat*periodo	2	6	4.8890	0.8766	180	5.58	<.0001
trat*periodo	3	1	1.8526	0.8766	180	2.11	0.0359
trat*periodo	3	2	1.6108	0.8766	180	1.84	0.0678
trat*periodo	3	3	7.7558	0.8766	180	8.85	<.0001
trat*periodo	3	4	8.2865	0.8766	180	9.45	<.0001
trat*periodo	3	5	11.6117	0.8766	180	13.25	<.0001
trat*periodo	3	6	8.8705	0.8766	180	10.12	<.0001
trat*periodo	4	1	0.7473	0.8766	180	0.85	0.3951
trat*periodo	4	2	2.2985	0.8766	180	2.62	0.0095
trat*periodo	4	3	4.2610	0.8766	180	4.86	<.0001
trat*periodo	4	4	4.5059	0.8766	180	5.14	<.0001
trat*periodo	4	5	4.6189	0.8766	180	5.27	<.0001
trat*periodo	4	6	4.6252	0.8766	180	5.28	<.0001
periodo		1	1.4821	0.4383	180	3.38	0.0009
periodo		2	1.9476	0.4383	180	4.44	<.0001
periodo		3	5.2399	0.4383	180	11.96	<.0001
periodo		4	5.5170	0.4383	180	12.59	<.0001
periodo		5	6.1968	0.4383	180	14.14	<.0001
periodo		6	5.7823	0.4383	180	13.19	<.0001

El siguiente son los promedios de cada tratamiento por periodo de los cuales se utilizaron los valores de interés por tratamiento.

Differences of Least Squares Means

Effect	trat	periodo	_trat	_periodo	Standard		DF	t Value	Pr > t
					Estimate	Error			
trat*periodo	1	1	1	2	-0.7505	1.1460	180	-0.65	0.5134
trat*periodo	1	1	1	3	-2.8511	1.1460	180	-2.49	0.0138
trat*periodo	1	1	1	4	-3.1212	1.1460	180	-2.72	0.0071
trat*periodo	1	1	1	5	-2.2482	1.1460	180	-1.96	0.0513
trat*periodo	1	1	1	6	-2.8511	1.1460	180	-2.49	0.0138
trat*periodo	1	1	2	1	0.4584	1.2397	180	0.37	0.7120
trat*periodo	1	1	2	2	0.6563	1.2397	180	0.53	0.5972

trat*periodo	1	1	2	3	-2.3048	1.2397	180	-1.86	0.0646
trat*periodo	1	1	2	4	-2.3676	1.2397	180	-1.91	0.0578
trat*periodo	1	1	2	5	-2.5214	1.2397	180	-2.03	0.0434
trat*periodo	1	1	2	6	-2.9956	1.2397	180	-2.42	0.0167
trat*periodo	1	1	3	1	0.04082	1.2397	180	0.03	0.9738
trat*periodo	1	1	3	2	0.2826	1.2397	180	0.23	0.8199
trat*periodo	1	1	3	3	-5.8624	1.2397	180	-4.73	<.0001
trat*periodo	1	1	3	4	-6.3930	1.2397	180	-5.16	<.0001
trat*periodo	1	1	3	5	-9.7183	1.2397	180	-7.84	<.0001
trat*periodo	1	1	3	6	-6.9771	1.2397	180	-5.63	<.0001
trat*periodo	1	1	4	1	1.1461	1.2397	180	0.92	0.3565
trat*periodo	1	1	4	2	-0.4051	1.2397	180	-0.33	0.7442
trat*periodo	1	1	4	3	-2.3676	1.2397	180	-1.91	0.0578
trat*periodo	1	1	4	4	-2.6125	1.2397	180	-2.11	0.0365
trat*periodo	1	1	4	5	-2.7255	1.2397	180	-2.20	0.0292
trat*periodo	1	1	4	6	-2.7318	1.2397	180	-2.20	0.0288
trat*periodo	1	2	1	3	-2.1007	1.1460	180	-1.83	0.0684
trat*periodo	1	2	1	4	-2.3707	1.1460	180	-2.07	0.0400
trat*periodo	1	2	1	5	-1.4978	1.1460	180	-1.31	0.1929
trat*periodo	1	2	1	6	-2.1007	1.1460	180	-1.83	0.0684
trat*periodo	1	2	2	1	1.2089	1.2397	180	0.98	0.3308
trat*periodo	1	2	2	2	1.4067	1.2397	180	1.13	0.2580
trat*periodo	1	2	2	3	-1.5543	1.2397	180	-1.25	0.2116
trat*periodo	1	2	2	4	-1.6171	1.2397	180	-1.30	0.1938
trat*periodo	1	2	2	5	-1.7710	1.2397	180	-1.43	0.1549
trat*periodo	1	2	2	6	-2.2451	1.2397	180	-1.81	0.0718
trat*periodo	1	2	3	1	0.7913	1.2397	180	0.64	0.5241
trat*periodo	1	2	3	2	1.0331	1.2397	180	0.83	0.4058
trat*periodo	1	2	3	3	-5.1119	1.2397	180	-4.12	<.0001
trat*periodo	1	2	3	4	-5.6426	1.2397	180	-4.55	<.0001
trat*periodo	1	2	3	5	-8.9678	1.2397	180	-7.23	<.0001
trat*periodo	1	2	3	6	-6.2266	1.2397	180	-5.02	<.0001
trat*periodo	1	2	4	1	1.8966	1.2397	180	1.53	0.1278
trat*periodo	1	2	4	2	0.3454	1.2397	180	0.28	0.7809
trat*periodo	1	2	4	3	-1.6171	1.2397	180	-1.30	0.1938
trat*periodo	1	2	4	4	-1.8620	1.2397	180	-1.50	0.1349
trat*periodo	1	2	4	5	-1.9751	1.2397	180	-1.59	0.1129
trat*periodo	1	2	4	6	-1.9813	1.2397	180	-1.60	0.1117
trat*periodo	1	3	1	4	-0.2700	1.1460	180	-0.24	0.8140
trat*periodo	1	3	1	5	0.6029	1.1460	180	0.53	0.5995
trat*periodo	1	3	1	6	-0.5947	1.1460	180	-0.00	1.0000
trat*periodo	1	3	2	1	3.3096	1.2397	180	2.67	0.0083
trat*periodo	1	3	2	2	3.5074	1.2397	180	2.83	0.0052
trat*periodo	1	3	2	3	0.5464	1.2397	180	0.44	0.6599
trat*periodo	1	3	2	4	0.4836	1.2397	180	0.39	0.6970
trat*periodo	1	3	2	5	0.3297	1.2397	180	0.27	0.7906
trat*periodo	1	3	2	6	-0.1444	1.2397	180	-0.12	0.9074
trat*periodo	1	3	3	1	2.8919	1.2397	180	2.33	0.0208
trat*periodo	1	3	3	2	3.1337	1.2397	180	2.53	0.0123
trat*periodo	1	3	3	3	-3.0113	1.2397	180	-2.43	0.0161
trat*periodo	1	3	3	4	-3.5419	1.2397	180	-2.86	0.0048
trat*periodo	1	3	3	5	-6.8672	1.2397	180	-5.54	<.0001
trat*periodo	1	3	3	6	-4.1260	1.2397	180	-3.33	0.0011
trat*periodo	1	3	4	1	3.9972	1.2397	180	3.22	0.0015
trat*periodo	1	3	4	2	2.4461	1.2397	180	1.97	0.0500
trat*periodo	1	3	4	3	0.4836	1.2397	180	0.39	0.6970
trat*periodo	1	3	4	4	0.2386	1.2397	180	0.19	0.8476
trat*periodo	1	3	4	5	0.1256	1.2397	180	0.10	0.9194
trat*periodo	1	3	4	6	0.1193	1.2397	180	0.10	0.9234
trat*periodo	1	4	1	5	0.8729	1.1460	180	0.76	0.4472

trat*periodo	1	4	1	6	0.2700	1.1460	180	0.24	0.8140
trat*periodo	1	4	2	1	3.5796	1.2397	180	2.89	0.0044
trat*periodo	1	4	2	2	3.7774	1.2397	180	3.05	0.0027
trat*periodo	1	4	2	3	0.8164	1.2397	180	0.66	0.5110
trat*periodo	1	4	2	4	0.7536	1.2397	180	0.61	0.5440
trat*periodo	1	4	2	5	0.5997	1.2397	180	0.48	0.6291
trat*periodo	1	4	2	6	0.1256	1.2397	180	0.10	0.9194
trat*periodo	1	4	3	1	3.1620	1.2397	180	2.55	0.0116
trat*periodo	1	4	3	2	3.4038	1.2397	180	2.75	0.0067
trat*periodo	1	4	3	3	-2.7412	1.2397	180	-2.21	0.0283
trat*periodo	1	4	3	4	-3.2719	1.2397	180	-2.64	0.0090
trat*periodo	1	4	3	5	-6.5971	1.2397	180	-5.32	<.0001
trat*periodo	1	4	3	6	-3.8559	1.2397	180	-3.11	0.0022
trat*periodo	1	4	4	1	4.2673	1.2397	180	3.44	0.0007
trat*periodo	1	4	4	2	2.7161	1.2397	180	2.19	0.0297
trat*periodo	1	4	4	3	0.7536	1.2397	180	0.61	0.5440
trat*periodo	1	4	4	4	0.5087	1.2397	180	0.41	0.6821
trat*periodo	1	4	4	5	0.3956	1.2397	180	0.32	0.7500
trat*periodo	1	4	4	6	0.3894	1.2397	180	0.31	0.7538
trat*periodo	1	5	1	6	-0.6029	1.1460	180	-0.53	0.5995
trat*periodo	1	5	2	1	2.7067	1.2397	180	2.18	0.0303
trat*periodo	1	5	2	2	2.9045	1.2397	180	2.34	0.0202
trat*periodo	1	5	2	3	-0.05652	1.2397	180	-0.05	0.9637
trat*periodo	1	5	2	4	-0.1193	1.2397	180	-0.10	0.9234
trat*periodo	1	5	2	5	-0.2732	1.2397	180	-0.22	0.8258
trat*periodo	1	5	2	6	-0.7473	1.2397	180	-0.60	0.5474
trat*periodo	1	5	3	1	2.2891	1.2397	180	1.85	0.0665
trat*periodo	1	5	3	2	2.5308	1.2397	180	2.04	0.0427
trat*periodo	1	5	3	3	-3.6141	1.2397	180	-2.92	0.0040
trat*periodo	1	5	3	4	-4.1448	1.2397	180	-3.34	0.0010
trat*periodo	1	5	3	5	-7.4701	1.2397	180	-6.03	<.0001
trat*periodo	1	5	3	6	-4.7288	1.2397	180	-3.81	0.0002
trat*periodo	1	5	4	1	3.3943	1.2397	180	2.74	0.0068
trat*periodo	1	5	4	2	1.8432	1.2397	180	1.49	0.1388
trat*periodo	1	5	4	3	-0.1193	1.2397	180	-0.10	0.9234
trat*periodo	1	5	4	4	-0.3642	1.2397	180	-0.29	0.7692
trat*periodo	1	5	4	5	-0.4773	1.2397	180	-0.38	0.7007
trat*periodo	1	5	4	6	-0.4836	1.2397	180	-0.39	0.6970
trat*periodo	1	6	2	1	3.3096	1.2397	180	2.67	0.0083
trat*periodo	1	6	2	2	3.5074	1.2397	180	2.83	0.0052
trat*periodo	1	6	2	3	0.5464	1.2397	180	0.44	0.6599
trat*periodo	1	6	2	4	0.4836	1.2397	180	0.39	0.6970
trat*periodo	1	6	2	5	0.3297	1.2397	180	0.27	0.7906
trat*periodo	1	6	2	6	-0.1444	1.2397	180	-0.12	0.9074
trat*periodo	1	6	3	1	2.8919	1.2397	180	2.33	0.0208
trat*periodo	1	6	3	2	3.1337	1.2397	180	2.53	0.0123
trat*periodo	1	6	3	3	-3.0113	1.2397	180	-2.43	0.0161
trat*periodo	1	6	3	4	-3.5419	1.2397	180	-2.86	0.0048
trat*periodo	1	6	3	5	-6.8672	1.2397	180	-5.54	<.0001
trat*periodo	1	6	3	6	-4.1260	1.2397	180	-3.33	0.0011
trat*periodo	1	6	4	1	3.9972	1.2397	180	3.22	0.0015
trat*periodo	1	6	4	2	2.4461	1.2397	180	1.97	0.0500
trat*periodo	1	6	4	3	0.4836	1.2397	180	0.39	0.6970
trat*periodo	1	6	4	4	0.2386	1.2397	180	0.19	0.8476
trat*periodo	1	6	4	5	0.1256	1.2397	180	0.10	0.9194
trat*periodo	1	6	4	6	0.1193	1.2397	180	0.10	0.9234
trat*periodo	2	1	2	2	0.1978	1.1460	180	0.17	0.8631
trat*periodo	2	1	2	3	-2.7632	1.1460	180	-2.41	0.0169
trat*periodo	2	1	2	4	-2.8260	1.1460	180	-2.47	0.0146
trat*periodo	2	1	2	5	-2.9799	1.1460	180	-2.60	0.0101

trat*periodo	2	1	2	6	-3.4540	1.1460	180	-3.01	0.0030
trat*periodo	2	1	3	1	-0.4176	1.2397	180	-0.34	0.7366
trat*periodo	2	1	3	2	-0.1758	1.2397	180	-0.14	0.8874
trat*periodo	2	1	3	3	-6.3208	1.2397	180	-5.10	<.0001
trat*periodo	2	1	3	4	-6.8515	1.2397	180	-5.53	<.0001
trat*periodo	2	1	3	5	-10.1767	1.2397	180	-8.21	<.0001
trat*periodo	2	1	3	6	-7.4355	1.2397	180	-6.00	<.0001
trat*periodo	2	1	4	1	0.6877	1.2397	180	0.55	0.5798
trat*periodo	2	1	4	2	-0.8635	1.2397	180	-0.70	0.4870
trat*periodo	2	1	4	3	-2.8260	1.2397	180	-2.28	0.0238
trat*periodo	2	1	4	4	-3.0709	1.2397	180	-2.48	0.0142
trat*periodo	2	1	4	5	-3.1840	1.2397	180	-2.57	0.0110
trat*periodo	2	1	4	6	-3.1902	1.2397	180	-2.57	0.0109
trat*periodo	2	2	2	3	-2.9610	1.1460	180	-2.58	0.0106
trat*periodo	2	2	2	4	-3.0238	1.1460	180	-2.64	0.0091
trat*periodo	2	2	2	5	-3.1777	1.1460	180	-2.77	0.0061
trat*periodo	2	2	2	6	-3.6518	1.1460	180	-3.19	0.0017
trat*periodo	2	2	3	1	-0.6154	1.2397	180	-0.50	0.6202
trat*periodo	2	2	3	2	-0.3737	1.2397	180	-0.30	0.7634
trat*periodo	2	2	3	3	-6.5186	1.2397	180	-5.26	<.0001
trat*periodo	2	2	3	4	-7.0493	1.2397	180	-5.69	<.0001
trat*periodo	2	2	3	5	-10.3746	1.2397	180	-8.37	<.0001
trat*periodo	2	2	3	6	-7.6333	1.2397	180	-6.16	<.0001
trat*periodo	2	2	4	1	0.4898	1.2397	180	0.40	0.6932
trat*periodo	2	2	4	2	-1.0613	1.2397	180	-0.86	0.3931
trat*periodo	2	2	4	3	-3.0238	1.2397	180	-2.44	0.0157
trat*periodo	2	2	4	4	-3.2687	1.2397	180	-2.64	0.0091
trat*periodo	2	2	4	5	-3.3818	1.2397	180	-2.73	0.0070
trat*periodo	2	2	4	6	-3.3881	1.2397	180	-2.73	0.0069
trat*periodo	2	3	2	4	-0.06280	1.1460	180	-0.05	0.9564
trat*periodo	2	3	2	5	-0.2167	1.1460	180	-0.19	0.8503
trat*periodo	2	3	2	6	-0.6908	1.1460	180	-0.60	0.5474
trat*periodo	2	3	3	1	2.3456	1.2397	180	1.89	0.0601
trat*periodo	2	3	3	2	2.5874	1.2397	180	2.09	0.0383
trat*periodo	2	3	3	3	-3.5576	1.2397	180	-2.87	0.0046
trat*periodo	2	3	3	4	-4.0883	1.2397	180	-3.30	0.0012
trat*periodo	2	3	3	5	-7.4135	1.2397	180	-5.98	<.0001
trat*periodo	2	3	3	6	-4.6723	1.2397	180	-3.77	0.0002
trat*periodo	2	3	4	1	3.4509	1.2397	180	2.78	0.0059
trat*periodo	2	3	4	2	1.8997	1.2397	180	1.53	0.1272
trat*periodo	2	3	4	3	-0.06280	1.2397	180	-0.05	0.9597
trat*periodo	2	3	4	4	-0.3077	1.2397	180	-0.25	0.8042
trat*periodo	2	3	4	5	-0.4208	1.2397	180	-0.34	0.7347
trat*periodo	2	3	4	6	-0.4270	1.2397	180	-0.34	0.7309
trat*periodo	2	4	2	5	-0.1539	1.1460	180	-0.13	0.8933
trat*periodo	2	4	2	6	-0.6280	1.1460	180	-0.55	0.5844
trat*periodo	2	4	3	1	2.4084	1.2397	180	1.94	0.0536
trat*periodo	2	4	3	2	2.6502	1.2397	180	2.14	0.0339
trat*periodo	2	4	3	3	-3.4948	1.2397	180	-2.82	0.0054
trat*periodo	2	4	3	4	-4.0255	1.2397	180	-3.25	0.0014
trat*periodo	2	4	3	5	-7.3507	1.2397	180	-5.93	<.0001
trat*periodo	2	4	3	6	-4.6095	1.2397	180	-3.72	0.0003
trat*periodo	2	4	4	1	3.5137	1.2397	180	2.83	0.0051
trat*periodo	2	4	4	2	1.9625	1.2397	180	1.58	0.1152
trat*periodo	2	4	4	3	6.89E-14	1.2397	180	0.00	1.0000
trat*periodo	2	4	4	4	-0.2449	1.2397	180	-0.20	0.8436
trat*periodo	2	4	4	5	-0.3580	1.2397	180	-0.29	0.7731
trat*periodo	2	4	4	6	-0.3642	1.2397	180	-0.29	0.7692
trat*periodo	2	5	2	6	-0.4741	1.1460	180	-0.41	0.6796
trat*periodo	2	5	3	1	2.5622	1.2397	180	2.07	0.0402

trat*periodo	2	5	3	2	2.8040	1.2397	180	2.26	0.0249
trat*periodo	2	5	3	3	-3.3410	1.2397	180	-2.69	0.0077
trat*periodo	2	5	3	4	-3.8716	1.2397	180	-3.12	0.0021
trat*periodo	2	5	3	5	-7.1969	1.2397	180	-5.81	<.0001
trat*periodo	2	5	3	6	-4.4557	1.2397	180	-3.59	0.0004
trat*periodo	2	5	4	1	3.6675	1.2397	180	2.96	0.0035
trat*periodo	2	5	4	2	2.1164	1.2397	180	1.71	0.0895
trat*periodo	2	5	4	3	0.1539	1.2397	180	0.12	0.9014
trat*periodo	2	5	4	4	-0.09106	1.2397	180	-0.07	0.9415
trat*periodo	2	5	4	5	-0.2041	1.2397	180	-0.16	0.8694
trat*periodo	2	5	4	6	-0.2104	1.2397	180	-0.17	0.8654
trat*periodo	2	6	3	1	3.0364	1.2397	180	2.45	0.0153
trat*periodo	2	6	3	2	3.2782	1.2397	180	2.64	0.0089
trat*periodo	2	6	3	3	-2.8668	1.2397	180	-2.31	0.0219
trat*periodo	2	6	3	4	-3.3975	1.2397	180	-2.74	0.0068
trat*periodo	2	6	3	5	-6.7227	1.2397	180	-5.42	<.0001
trat*periodo	2	6	3	6	-3.9815	1.2397	180	-3.21	0.0016
trat*periodo	2	6	4	1	4.1417	1.2397	180	3.34	0.0010
trat*periodo	2	6	4	2	2.5905	1.2397	180	2.09	0.0381
trat*periodo	2	6	4	3	0.6280	1.2397	180	0.51	0.6131
trat*periodo	2	6	4	4	0.3831	1.2397	180	0.31	0.7577
trat*periodo	2	6	4	5	0.2700	1.2397	180	0.22	0.8278
trat*periodo	2	6	4	6	0.2638	1.2397	180	0.21	0.8318
trat*periodo	3	1	3	2	0.2418	1.1460	180	0.21	0.8331
trat*periodo	3	1	3	3	-5.9032	1.1460	180	-5.15	<.0001
trat*periodo	3	1	3	4	-6.4339	1.1460	180	-5.61	<.0001
trat*periodo	3	1	3	5	-9.7591	1.1460	180	-8.52	<.0001
trat*periodo	3	1	3	6	-7.0179	1.1460	180	-6.12	<.0001
trat*periodo	3	1	4	1	1.1053	1.2397	180	0.89	0.3738
trat*periodo	3	1	4	2	-0.4459	1.2397	180	-0.36	0.7195
trat*periodo	3	1	4	3	-2.4084	1.2397	180	-1.94	0.0536
trat*periodo	3	1	4	4	-2.6533	1.2397	180	-2.14	0.0337
trat*periodo	3	1	4	5	-2.7663	1.2397	180	-2.23	0.0269
trat*periodo	3	1	4	6	-2.7726	1.2397	180	-2.24	0.0265
trat*periodo	3	2	3	3	-6.1450	1.1460	180	-5.36	<.0001
trat*periodo	3	2	3	4	-6.6756	1.1460	180	-5.83	<.0001
trat*periodo	3	2	3	5	-10.0009	1.1460	180	-8.73	<.0001
trat*periodo	3	2	3	6	-7.2597	1.1460	180	-6.33	<.0001
trat*periodo	3	2	4	1	0.8635	1.2397	180	0.70	0.4870
trat*periodo	3	2	4	2	-0.6877	1.2397	180	-0.55	0.5798
trat*periodo	3	2	4	3	-2.6502	1.2397	180	-2.14	0.0339
trat*periodo	3	2	4	4	-2.8951	1.2397	180	-2.34	0.0206
trat*periodo	3	2	4	5	-3.0081	1.2397	180	-2.43	0.0162
trat*periodo	3	2	4	6	-3.0144	1.2397	180	-2.43	0.0160
trat*periodo	3	3	3	4	-0.5307	1.1460	180	-0.46	0.6439
trat*periodo	3	3	3	5	-3.8559	1.1460	180	-3.36	0.0009
trat*periodo	3	3	3	6	-1.1147	1.1460	180	-0.97	0.3320
trat*periodo	3	3	4	1	7.0085	1.2397	180	5.65	<.0001
trat*periodo	3	3	4	2	5.4573	1.2397	180	4.40	<.0001
trat*periodo	3	3	4	3	3.4948	1.2397	180	2.82	0.0054
trat*periodo	3	3	4	4	3.2499	1.2397	180	2.62	0.0095
trat*periodo	3	3	4	5	3.1369	1.2397	180	2.53	0.0123
trat*periodo	3	3	4	6	3.1306	1.2397	180	2.53	0.0124
trat*periodo	3	4	3	5	-3.3253	1.1460	180	-2.90	0.0042
trat*periodo	3	4	3	6	-0.5840	1.1460	180	-0.51	0.6109
trat*periodo	3	4	4	1	7.5391	1.2397	180	6.08	<.0001
trat*periodo	3	4	4	2	5.9880	1.2397	180	4.83	<.0001
trat*periodo	3	4	4	3	4.0255	1.2397	180	3.25	0.0014
trat*periodo	3	4	4	4	3.7806	1.2397	180	3.05	0.0026
trat*periodo	3	4	4	5	3.6675	1.2397	180	2.96	0.0035

trat*periodo	3	4	4	6	3.6612	1.2397	180	2.95	0.0036
trat*periodo	3	5	3	6	2.7412	1.1460	180	2.39	0.0178
trat*periodo	3	5	4	1	10.8644	1.2397	180	8.76	<.0001
trat*periodo	3	5	4	2	9.3132	1.2397	180	7.51	<.0001
trat*periodo	3	5	4	3	7.3507	1.2397	180	5.93	<.0001
trat*periodo	3	5	4	4	7.1058	1.2397	180	5.73	<.0001
trat*periodo	3	5	4	5	6.9928	1.2397	180	5.64	<.0001
trat*periodo	3	5	4	6	6.9865	1.2397	180	5.64	<.0001
trat*periodo	3	6	4	1	8.1232	1.2397	180	6.55	<.0001
trat*periodo	3	6	4	2	6.5720	1.2397	180	5.30	<.0001
trat*periodo	3	6	4	3	4.6095	1.2397	180	3.72	0.0003
trat*periodo	3	6	4	4	4.3646	1.2397	180	3.52	0.0005
trat*periodo	3	6	4	5	4.2516	1.2397	180	3.43	0.0007
trat*periodo	3	6	4	6	4.2453	1.2397	180	3.42	0.0008
trat*periodo	4	1	4	2	-1.5512	1.1460	180	-1.35	0.1776
trat*periodo	4	1	4	3	-3.5137	1.1460	180	-3.07	0.0025
trat*periodo	4	1	4	4	-3.7586	1.1460	180	-3.28	0.0012
trat*periodo	4	1	4	5	-3.8716	1.1460	180	-3.38	0.0009
trat*periodo	4	1	4	6	-3.8779	1.1460	180	-3.38	0.0009
trat*periodo	4	2	4	3	-1.9625	1.1460	180	-1.71	0.0885
trat*periodo	4	2	4	4	-2.2074	1.1460	180	-1.93	0.0557
trat*periodo	4	2	4	5	-2.3205	1.1460	180	-2.02	0.0444
trat*periodo	4	2	4	6	-2.3267	1.1460	180	-2.03	0.0438
trat*periodo	4	3	4	4	-0.2449	1.1460	180	-0.21	0.8310
trat*periodo	4	3	4	5	-0.3580	1.1460	180	-0.31	0.7551
trat*periodo	4	3	4	6	-0.3642	1.1460	180	-0.32	0.7510
trat*periodo	4	4	4	5	-0.1130	1.1460	180	-0.10	0.9215
trat*periodo	4	4	4	6	-0.1193	1.1460	180	-0.10	0.9172
trat*periodo	4	5	4	6	-0.00628	1.1460	180	-0.01	0.995

Experimento 2

data progest;					604	1	4	4.9612
input animal trat periodo conc;					604	1	5	4.4588
cards;					604	1	6	4.396
600	1	1		7.8186	604	1	7	1.1618
600	1	2		5.1496	605	1	1	16.2966
600	1	3		8.5722	605	1	2	7.4732
600	1	4		11.0842	605	1	3	5.9346
600	1	5		20.9752	605	1	4	16.2966
600	1	6		11.9006	605	1	5	7.536
600	1	7		18.7772	605	1	6	9.1374
602	1	1		4.5844	605	1	7	12.4344
602	1	2		0.4396	606	1	1	11.0842
602	1	3		0.8478	606	1	2	9.2944
602	1	4		1.5072	606	1	3	9.2944
602	1	5		2.7318	606	1	4	15.4488
602	1	6		2.7318	606	1	5	12.56
602	1	7		0.3768	606	1	6	18.4946
603	1	1		6.751	606	1	7	12.9368
603	1	2		5.7148	.			
603	1	3		4.1762	.			
603	1	4		9.9852	.			
603	1	5		16.8304	.			
603	1	6		3.14	.			
603	1	7		5.2438	645	4	1	1.0048
604	1	1		4.396	645	4	2	0.4396
604	1	2		1.256	645	4	3	1.0362
604	1	3		1.4444	645	4	4	0.4396

645	4	5	1.3502	655	4	1	9.0746
645	4	6	1.0362	655	4	2	2.9202
645	4	7	1.1932	655	4	3	4.5216
646	4	1	12.9996	655	4	4	11.0842
646	4	2	8.5094	655	4	5	9.7026
646	4	3	22.3254	655	4	6	19.0284
646	4	4	25.905	655	4	7	20.41
646	4	5	25.3712	656	4	1	8.5094
646	4	6	3.0458	656	4	2	12.1832
646	4	7	8.792	656	4	3	23.4244
649	4	1	3.1086	656	4	4	8.9804
649	4	2	7.85	656	4	5	7.9442
649	4	3	3.5796	656	4	6	4.6786
649	4	4	7.0336	656	4	7	19.8762
649	4	5	3.2656	proc print			
649	4	6	0.5024	proc mixed;			
649	4	7	5.5892	class animal trat periodo;			
651	4	1	8.164	model coc= trat periodo tratperiodo;			
651	4	2	7.7872	random animal (trat);			
651	4	3	1.0048	repeated periodosub=animal trat;			
651	4	4	5.5264	lsmeans trat;			
651	4	5	5.1496	lsmeans tratperiodo/pdiff;			
651	4	6	3.2656	lsmeans perido;			
651	4	7	3.6424	run;			

Salida de SAS

Esta salida nos indica el número de observaciones que tenemos y los datos proporcionados al SAS.

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.PROGEST
Dependent Variable	conc
Covariance Structure	Variance Components
Subject Effect	animal(trat)
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Parameter
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Containment

Class Level Information

Class	Levels	Values
animal	40	600 602 603 604 605 606 607 608 609 612 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 626 627 628 630 631 632 633 634 635 637 639 641 643 644 645 646 649 651 655 656
trat	4	1 2 3 4
periodo	7	1 2 3 4 5 6 7

Dimensions

Covariance Parameters	2
Columns in X	40
Columns in Z	40
Subjects	1
Max Obs Per Subject	280
Observations Used	280
Observations Not Used	0
Total Observations	280

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	1692.17879339	
1	1	1604.92005573	0.00000000

Convergence criteria met.

The Mixed Procedure

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Subject	Estimate
animal(trat)		17.3969
periodo	animal(trat)	19.9883

Fit Statistics

Res Log Likelihood	-802.5
Akaike's Information Criterion	-804.5
Schwarz's Bayesian Criterion	-806.1
-2 Res Log Likelihood	1604.9

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num		Den		F Value	Pr > F
	DF	DF	DF	DF		
trat	3	36	1.39	0.2627		
periodo	6	216	3.29	0.0040		
trat*periodo	18	216	1.10	0.3515		

Comparación entre medias de periodo por tratamiento en las hembras

Least Squares Means

Effect	trat	periodo	Standard		DF	t Value	Pr > t
			Estimate	Error			

trat	1		8.1609	1.4231	36	5.73	<.0001
trat	2		5.4537	1.4231	36	3.83	0.0005
trat	3		4.8724	1.4231	36	3.42	0.0016
trat	4		7.8984	1.4231	36	5.55	<.0001
trat*periodo	1	1	9.8816	1.9335	216	5.11	<.0001
trat*periodo	1	2	5.3663	1.9335	216	2.78	0.0060
trat*periodo	1	3	5.4479	1.9335	216	2.82	0.0053
trat*periodo	1	4	10.4939	1.9335	216	5.43	<.0001
trat*periodo	1	5	9.9915	1.9335	216	5.17	<.0001
trat*periodo	1	6	8.2613	1.9335	216	4.27	<.0001
trat*periodo	1	7	7.6836	1.9335	216	3.97	<.0001
trat*periodo	2	1	8.2142	1.9335	216	4.25	<.0001
trat*periodo	2	2	5.4510	1.9335	216	2.82	0.0053
trat*periodo	2	3	7.0085	1.9335	216	3.62	0.0004
trat*periodo	2	4	5.2281	1.9335	216	2.70	0.0074
trat*periodo	2	5	5.0460	1.9335	216	2.61	0.0097
trat*periodo	2	6	3.8967	1.9335	216	2.02	0.0451
trat*periodo	2	7	3.3315	1.9335	216	1.72	0.0863
trat*periodo	3	1	8.7386	1.9335	216	4.52	<.0001
trat*periodo	3	2	3.2782	1.9335	216	1.70	0.0914
trat*periodo	3	3	5.1119	1.9335	216	2.64	0.0088
trat*periodo	3	4	3.5199	1.9335	216	1.82	0.0701
trat*periodo	3	5	4.1793	1.9335	216	2.16	0.0318
trat*periodo	3	6	3.8120	1.9335	216	1.97	0.0499
trat*periodo	3	7	5.4667	1.9335	216	2.83	0.0051
trat*periodo	4	1	9.6210	1.9335	216	4.98	<.0001
trat*periodo	4	2	8.0824	1.9335	216	4.18	<.0001
trat*periodo	4	3	7.1561	1.9335	216	3.70	0.0003
trat*periodo	4	4	8.7009	1.9335	216	4.50	<.0001
trat*periodo	4	5	8.3838	1.9335	216	4.34	<.0001
trat*periodo	4	6	4.9329	1.9335	216	2.55	0.0114
trat*periodo	4	7	8.4121	1.9335	216	4.35	<.0001
periodo		1	9.1139	0.9668	216	9.43	<.0001
periodo		2	5.5445	0.9668	216	5.74	<.0001
periodo		3	6.1811	0.9668	216	6.39	<.0001
periodo		4	6.9857	0.9668	216	7.23	<.0001
periodo		5	6.9002	0.9668	216	7.14	<.0001
periodo		6	5.2257	0.9668	216	5.41	<.0001
periodo		7	6.2235	0.9668	216	6.44	<.0001

El siguiente son lo promedios de cada tratamiento por periodo de los cuales se utilizaron los valores de interés por tratamiento.

Differences of Least Squares Means

Effect	trat	periodo	_trat	_periodo	Standard		t Value	Pr > t	
					Estimate	Error			
trat*periodo	1	1	1	2	4.5153	1.9994	216	2.26	0.0249
trat*periodo	1	1	1	3	4.4337	1.9994	216	2.22	0.0276
trat*periodo	1	1	1	4	-0.6123	1.9994	216	-0.31	0.7597
trat*periodo	1	1	1	5	-0.1099	1.9994	216	-0.05	0.9562
trat*periodo	1	1	1	6	1.6202	1.9994	216	0.81	0.4186
trat*periodo	1	1	1	7	2.1980	1.9994	216	1.10	0.2729
trat*periodo	1	1	2	1	1.6673	2.7344	216	0.61	0.5427
trat*periodo	1	1	2	2	4.4305	2.7344	216	1.62	0.1066

trat*periodo	1	1	2	3	2.8731	2.7344	216	1.05	0.2946
trat*periodo	1	1	2	4	4.6535	2.7344	216	1.70	0.0902
trat*periodo	1	1	2	5	4.8356	2.7344	216	1.77	0.0784
trat*periodo	1	1	2	6	5.9848	2.7344	216	2.19	0.0297
trat*periodo	1	1	2	7	6.5500	2.7344	216	2.40	0.0175
trat*periodo	1	1	3	1	1.1430	2.7344	216	0.42	0.6764
trat*periodo	1	1	3	2	6.6034	2.7344	216	2.41	0.0166
trat*periodo	1	1	3	3	4.7697	2.7344	216	1.74	0.0825
trat*periodo	1	1	3	4	6.3616	2.7344	216	2.33	0.0209
trat*periodo	1	1	3	5	5.7022	2.7344	216	2.09	0.0382
trat*periodo	1	1	3	6	6.0696	2.7344	216	2.22	0.0275
trat*periodo	1	1	3	7	4.4148	2.7344	216	1.61	0.1079
trat*periodo	1	1	4	1	0.2606	2.7344	216	0.10	0.9242
trat*periodo	1	1	4	2	1.7992	2.7344	216	0.66	0.5112
trat*periodo	1	1	4	3	2.7255	2.7344	216	1.00	0.3200
trat*periodo	1	1	4	4	1.1806	2.7344	216	0.43	0.6663
trat*periodo	1	1	4	5	1.4978	2.7344	216	0.55	0.5844
trat*periodo	1	1	4	6	4.9486	2.7344	216	1.81	0.0717
trat*periodo	1	1	4	7	1.4695	2.7344	216	0.54	0.5915
trat*periodo	1	2	1	3	-0.08164	1.9994	216	-0.04	0.9675
trat*periodo	1	2	1	4	-5.1276	1.9994	216	-2.56	0.0110
trat*periodo	1	2	1	5	-4.6252	1.9994	216	-2.31	0.0216
trat*periodo	1	2	1	6	-2.8951	1.9994	216	-1.45	0.1491
trat*periodo	1	2	1	7	-2.3173	1.9994	216	-1.16	0.2477
trat*periodo	1	2	2	1	-2.8480	2.7344	216	-1.04	0.2988
trat*periodo	1	2	2	2	-0.08478	2.7344	216	-0.03	0.9753
trat*periodo	1	2	2	3	-1.6422	2.7344	216	-0.60	0.5488
trat*periodo	1	2	2	4	0.1382	2.7344	216	0.05	0.9597
trat*periodo	1	2	2	5	0.3203	2.7344	216	0.12	0.9069
trat*periodo	1	2	2	6	1.4695	2.7344	216	0.54	0.5915
trat*periodo	1	2	2	7	2.0347	2.7344	216	0.74	0.4576
trat*periodo	1	2	3	1	-3.3724	2.7344	216	-1.23	0.2188
trat*periodo	1	2	3	2	2.0881	2.7344	216	0.76	0.4459
trat*periodo	1	2	3	3	0.2543	2.7344	216	0.09	0.9260
trat*periodo	1	2	3	4	1.8463	2.7344	216	0.68	0.5003
trat*periodo	1	2	3	5	1.1869	2.7344	216	0.43	0.6647
trat*periodo	1	2	3	6	1.5543	2.7344	216	0.57	0.5703
trat*periodo	1	2	3	7	-0.1005	2.7344	216	-0.04	0.9707
trat*periodo	1	2	4	1	-4.2547	2.7344	216	-1.56	0.1212
trat*periodo	1	2	4	2	-2.7161	2.7344	216	-0.99	0.3217
trat*periodo	1	2	4	3	-1.7898	2.7344	216	-0.65	0.5135
trat*periodo	1	2	4	4	-3.3347	2.7344	216	-1.22	0.2240
trat*periodo	1	2	4	5	-3.0175	2.7344	216	-1.10	0.2710
trat*periodo	1	2	4	6	0.4333	2.7344	216	0.16	0.8742
trat*periodo	1	2	4	7	-3.0458	2.7344	216	-1.11	0.2666
trat*periodo	1	3	1	4	-5.0460	1.9994	216	-2.52	0.0123
trat*periodo	1	3	1	5	-4.5436	1.9994	216	-2.27	0.0240
trat*periodo	1	3	1	6	-2.8134	1.9994	216	-1.41	0.1608
trat*periodo	1	3	1	7	-2.2357	1.9994	216	-1.12	0.2647
trat*periodo	1	3	2	1	-2.7663	2.7344	216	-1.01	0.3128
trat*periodo	1	3	2	2	-0.00314	2.7344	216	-0.00	0.9991
trat*periodo	1	3	2	3	-1.5606	2.7344	216	-0.57	0.5688
trat*periodo	1	3	2	4	0.2198	2.7344	216	0.08	0.9360
trat*periodo	1	3	2	5	0.4019	2.7344	216	0.15	0.8833
trat*periodo	1	3	2	6	1.5512	2.7344	216	0.57	0.5711
trat*periodo	1	3	2	7	2.1164	2.7344	216	0.77	0.4398
trat*periodo	1	3	3	1	-3.2907	2.7344	216	-1.20	0.2301
trat*periodo	1	3	3	2	2.1697	2.7344	216	0.79	0.4284
trat*periodo	1	3	3	3	0.3360	2.7344	216	0.12	0.9023
trat*periodo	1	3	3	4	1.9280	2.7344	216	0.71	0.4815

trat*periodo	1	3	3	5	1.2686	2.7344	216	0.46	0.6432
trat*periodo	1	3	3	6	1.6359	2.7344	216	0.60	0.5503
trat*periodo	1	3	3	7	-0.01884	2.7344	216	-0.01	0.9945
trat*periodo	1	3	4	1	-4.1731	2.7344	216	-1.53	0.1284
trat*periodo	1	3	4	2	-2.6345	2.7344	216	-0.96	0.3364
trat*periodo	1	3	4	3	-1.7082	2.7344	216	-0.62	0.5328
trat*periodo	1	3	4	4	-3.2530	2.7344	216	-1.19	0.2355
trat*periodo	1	3	4	5	-2.9359	2.7344	216	-1.07	0.2842
trat*periodo	1	3	4	6	0.5150	2.7344	216	0.19	0.8508
trat*periodo	1	3	4	7	-2.9642	2.7344	216	-1.08	0.2796
trat*periodo	1	4	1	5	0.5024	1.9994	216	0.25	0.8018
trat*periodo	1	4	1	6	2.2325	1.9994	216	1.12	0.2654
trat*periodo	1	4	1	7	2.8103	1.9994	216	1.41	0.1613
trat*periodo	1	4	2	1	2.2796	2.7344	216	0.83	0.4054
trat*periodo	1	4	2	2	5.0428	2.7344	216	1.84	0.0665
trat*periodo	1	4	2	3	3.4854	2.7344	216	1.27	0.2038
trat*periodo	1	4	2	4	5.2658	2.7344	216	1.93	0.0554
trat*periodo	1	4	2	5	5.4479	2.7344	216	1.99	0.0476
trat*periodo	1	4	2	6	6.5971	2.7344	216	2.41	0.0167
trat*periodo	1	4	2	7	7.1623	2.7344	216	2.62	0.0094
trat*periodo	1	4	3	1	1.7553	2.7344	216	0.64	0.5216
trat*periodo	1	4	3	2	7.2157	2.7344	216	2.64	0.0089
trat*periodo	1	4	3	3	5.3820	2.7344	216	1.97	0.0503
trat*periodo	1	4	3	4	6.9739	2.7344	216	2.55	0.0115
trat*periodo	1	4	3	5	6.3145	2.7344	216	2.31	0.0219
trat*periodo	1	4	3	6	6.6819	2.7344	216	2.44	0.0153
trat*periodo	1	4	3	7	5.0271	2.7344	216	1.84	0.0674
trat*periodo	1	4	4	1	0.8729	2.7344	216	0.32	0.7499
trat*periodo	1	4	4	2	2.4115	2.7344	216	0.88	0.3788
trat*periodo	1	4	4	3	3.3378	2.7344	216	1.22	0.2235
trat*periodo	1	4	4	4	1.7929	2.7344	216	0.66	0.5127
trat*periodo	1	4	4	5	2.1101	2.7344	216	0.77	0.4412
trat*periodo	1	4	4	6	5.5609	2.7344	216	2.03	0.0432
trat*periodo	1	4	4	7	2.0818	2.7344	216	0.76	0.4473
trat*periodo	1	5	1	6	1.7301	1.9994	216	0.87	0.3878
trat*periodo	1	5	1	7	2.3079	1.9994	216	1.15	0.2497
trat*periodo	1	5	2	1	1.7772	2.7344	216	0.65	0.5164
trat*periodo	1	5	2	2	4.5404	2.7344	216	1.66	0.0983
trat*periodo	1	5	2	3	2.9830	2.7344	216	1.09	0.2765
trat*periodo	1	5	2	4	4.7634	2.7344	216	1.74	0.0829
trat*periodo	1	5	2	5	4.9455	2.7344	216	1.81	0.0719
trat*periodo	1	5	2	6	6.0947	2.7344	216	2.23	0.0269
trat*periodo	1	5	2	7	6.6599	2.7344	216	2.44	0.0157
trat*periodo	1	5	3	1	1.2529	2.7344	216	0.46	0.6473
trat*periodo	1	5	3	2	6.7133	2.7344	216	2.46	0.0149
trat*periodo	1	5	3	3	4.8796	2.7344	216	1.78	0.0757
trat*periodo	1	5	3	4	6.4715	2.7344	216	2.37	0.0188
trat*periodo	1	5	3	5	5.8121	2.7344	216	2.13	0.0347
trat*periodo	1	5	3	6	6.1795	2.7344	216	2.26	0.0248
trat*periodo	1	5	3	7	4.5247	2.7344	216	1.65	0.0994
trat*periodo	1	5	4	1	0.3705	2.7344	216	0.14	0.8923
trat*periodo	1	5	4	2	1.9091	2.7344	216	0.70	0.4858
trat*periodo	1	5	4	3	2.8354	2.7344	216	1.04	0.3009
trat*periodo	1	5	4	4	1.2905	2.7344	216	0.47	0.6374
trat*periodo	1	5	4	5	1.6077	2.7344	216	0.59	0.5572
trat*periodo	1	5	4	6	5.0585	2.7344	216	1.85	0.0657
trat*periodo	1	5	4	7	1.5794	2.7344	216	0.58	0.5641
trat*periodo	1	6	1	7	0.5778	1.9994	216	0.29	0.7729
trat*periodo	1	6	2	1	0.04710	2.7344	216	0.02	0.9863
trat*periodo	1	6	2	2	2.8103	2.7344	216	1.03	0.3052

trat*periodo	1	6	2	3	1.2529	2.7344	216	0.46	0.6473
trat*periodo	1	6	2	4	3.0332	2.7344	216	1.11	0.2685
trat*periodo	1	6	2	5	3.2154	2.7344	216	1.18	0.2409
trat*periodo	1	6	2	6	4.3646	2.7344	216	1.60	0.1119
trat*periodo	1	6	2	7	4.9298	2.7344	216	1.80	0.0728
trat*periodo	1	6	3	1	-0.4773	2.7344	216	-0.17	0.8616
trat*periodo	1	6	3	2	4.9832	2.7344	216	1.82	0.0698
trat*periodo	1	6	3	3	3.1494	2.7344	216	1.15	0.2507
trat*periodo	1	6	3	4	4.7414	2.7344	216	1.73	0.0844
trat*periodo	1	6	3	5	4.0820	2.7344	216	1.49	0.1369
trat*periodo	1	6	3	6	4.4494	2.7344	216	1.63	0.1052
trat*periodo	1	6	3	7	2.7946	2.7344	216	1.02	0.3079
trat*periodo	1	6	4	1	-1.3596	2.7344	216	-0.50	0.6195
trat*periodo	1	6	4	2	0.1790	2.7344	216	0.07	0.9479
trat*periodo	1	6	4	3	1.1053	2.7344	216	0.40	0.6865
trat*periodo	1	6	4	4	-0.4396	2.7344	216	-0.16	0.8724
trat*periodo	1	6	4	5	-0.1225	2.7344	216	-0.04	0.9643
trat*periodo	1	6	4	6	3.3284	2.7344	216	1.22	0.2248
trat*periodo	1	6	4	7	-0.1507	2.7344	216	-0.06	0.9561
trat*periodo	1	7	2	1	-0.5307	2.7344	216	-0.19	0.8463
trat*periodo	1	7	2	2	2.2325	2.7344	216	0.82	0.4151
trat*periodo	1	7	2	3	0.6751	2.7344	216	0.25	0.8052
trat*periodo	1	7	2	4	2.4555	2.7344	216	0.90	0.3702
trat*periodo	1	7	2	5	2.6376	2.7344	216	0.96	0.3358
trat*periodo	1	7	2	6	3.7868	2.7344	216	1.38	0.1675
trat*periodo	1	7	2	7	4.3520	2.7344	216	1.59	0.1129
trat*periodo	1	7	3	1	-1.0550	2.7344	216	-0.39	0.7000
trat*periodo	1	7	3	2	4.4054	2.7344	216	1.61	0.1086
trat*periodo	1	7	3	3	2.5717	2.7344	216	0.94	0.3480
trat*periodo	1	7	3	4	4.1636	2.7344	216	1.52	0.1293
trat*periodo	1	7	3	5	3.5042	2.7344	216	1.28	0.2014
trat*periodo	1	7	3	6	3.8716	2.7344	216	1.42	0.1582
trat*periodo	1	7	3	7	2.2168	2.7344	216	0.81	0.4184
trat*periodo	1	7	4	1	-1.9374	2.7344	216	-0.71	0.4794
trat*periodo	1	7	4	2	-0.3988	2.7344	216	-0.15	0.8842
trat*periodo	1	7	4	3	0.5275	2.7344	216	0.19	0.8472
trat*periodo	1	7	4	4	-1.0174	2.7344	216	-0.37	0.7102
trat*periodo	1	7	4	5	-0.7002	2.7344	216	-0.26	0.7981
trat*periodo	1	7	4	6	2.7506	2.7344	216	1.01	0.3156
trat*periodo	1	7	4	7	-0.7285	2.7344	216	-0.27	0.7902
trat*periodo	2	1	2	2	2.7632	1.9994	216	1.38	0.1684
trat*periodo	2	1	2	3	1.2058	1.9994	216	0.60	0.5471
trat*periodo	2	1	2	4	2.9861	1.9994	216	1.49	0.1368
trat*periodo	2	1	2	5	3.1683	1.9994	216	1.58	0.1145
trat*periodo	2	1	2	6	4.3175	1.9994	216	2.16	0.0319
trat*periodo	2	1	2	7	4.8827	1.9994	216	2.44	0.0154
trat*periodo	2	1	3	1	-0.5244	2.7344	216	-0.19	0.8481
trat*periodo	2	1	3	2	4.9361	2.7344	216	1.81	0.0724
trat*periodo	2	1	3	3	3.1023	2.7344	216	1.13	0.2578
trat*periodo	2	1	3	4	4.6943	2.7344	216	1.72	0.0875
trat*periodo	2	1	3	5	4.0349	2.7344	216	1.48	0.1415
trat*periodo	2	1	3	6	4.4023	2.7344	216	1.61	0.1089
trat*periodo	2	1	3	7	2.7475	2.7344	216	1.00	0.3161
trat*periodo	2	1	4	1	-1.4067	2.7344	216	-0.51	0.6075
trat*periodo	2	1	4	2	0.1319	2.7344	216	0.05	0.9616
trat*periodo	2	1	4	3	1.0582	2.7344	216	0.39	0.6991
trat*periodo	2	1	4	4	-0.4867	2.7344	216	-0.18	0.8589
trat*periodo	2	1	4	5	-0.1696	2.7344	216	-0.06	0.9506
trat*periodo	2	1	4	6	3.2813	2.7344	216	1.20	0.2315
trat*periodo	2	1	4	7	-0.1978	2.7344	216	-0.07	0.9424

trat*periodo	2	2	2	3	-1.5574	1.9994	216	-0.78	0.4369
trat*periodo	2	2	2	4	0.2229	1.9994	216	0.11	0.9113
trat*periodo	2	2	2	5	0.4051	1.9994	216	0.20	0.8396
trat*periodo	2	2	2	6	1.5543	1.9994	216	0.78	0.4378
trat*periodo	2	2	2	7	2.1195	1.9994	216	1.06	0.2903
trat*periodo	2	2	3	1	-3.2876	2.7344	216	-1.20	0.2306
trat*periodo	2	2	3	2	2.1729	2.7344	216	0.79	0.4277
trat*periodo	2	2	3	3	0.3391	2.7344	216	0.12	0.9014
trat*periodo	2	2	3	4	1.9311	2.7344	216	0.71	0.4808
trat*periodo	2	2	3	5	1.2717	2.7344	216	0.47	0.6423
trat*periodo	2	2	3	6	1.6391	2.7344	216	0.60	0.5495
trat*periodo	2	2	3	7	-0.01570	2.7344	216	-0.01	0.9954
trat*periodo	2	2	4	1	-4.1699	2.7344	216	-1.52	0.1287
trat*periodo	2	2	4	2	-2.6313	2.7344	216	-0.96	0.3370
trat*periodo	2	2	4	3	-1.7050	2.7344	216	-0.62	0.5336
trat*periodo	2	2	4	4	-3.2499	2.7344	216	-1.19	0.2359
trat*periodo	2	2	4	5	-2.9328	2.7344	216	-1.07	0.2847
trat*periodo	2	2	4	6	0.5181	2.7344	216	0.19	0.8499
trat*periodo	2	2	4	7	-2.9610	2.7344	216	-1.08	0.2801
trat*periodo	2	3	2	4	1.7804	1.9994	216	0.89	0.3742
trat*periodo	2	3	2	5	1.9625	1.9994	216	0.98	0.3274
trat*periodo	2	3	2	6	3.1117	1.9994	216	1.56	0.1211
trat*periodo	2	3	2	7	3.6769	1.9994	216	1.84	0.0673
trat*periodo	2	3	3	1	-1.7301	2.7344	216	-0.63	0.5276
trat*periodo	2	3	3	2	3.7303	2.7344	216	1.36	0.1739
trat*periodo	2	3	3	3	1.8966	2.7344	216	0.69	0.4887
trat*periodo	2	3	3	4	3.4885	2.7344	216	1.28	0.2034
trat*periodo	2	3	3	5	2.8291	2.7344	216	1.03	0.3020
trat*periodo	2	3	3	6	3.1965	2.7344	216	1.17	0.2437
trat*periodo	2	3	3	7	1.5417	2.7344	216	0.56	0.5735
trat*periodo	2	3	4	1	-2.6125	2.7344	216	-0.96	0.3404
trat*periodo	2	3	4	2	-1.0739	2.7344	216	-0.39	0.6949
trat*periodo	2	3	4	3	-0.1476	2.7344	216	-0.05	0.9570
trat*periodo	2	3	4	4	-1.6925	2.7344	216	-0.62	0.5366
trat*periodo	2	3	4	5	-1.3753	2.7344	216	-0.50	0.6155
trat*periodo	2	3	4	6	2.0755	2.7344	216	0.76	0.4487
trat*periodo	2	3	4	7	-1.4036	2.7344	216	-0.51	0.6083
trat*periodo	2	4	2	5	0.1821	1.9994	216	0.09	0.9275
trat*periodo	2	4	2	6	1.3314	1.9994	216	0.67	0.5062
trat*periodo	2	4	2	7	1.8966	1.9994	216	0.95	0.3439
trat*periodo	2	4	3	1	-3.5105	2.7344	216	-1.28	0.2006
trat*periodo	2	4	3	2	1.9499	2.7344	216	0.71	0.4765
trat*periodo	2	4	3	3	0.1162	2.7344	216	0.04	0.9661
trat*periodo	2	4	3	4	1.7082	2.7344	216	0.62	0.5328
trat*periodo	2	4	3	5	1.0488	2.7344	216	0.38	0.7017
trat*periodo	2	4	3	6	1.4161	2.7344	216	0.52	0.6051
trat*periodo	2	4	3	7	-0.2386	2.7344	216	-0.09	0.9305
trat*periodo	2	4	4	1	-4.3929	2.7344	216	-1.61	0.1096
trat*periodo	2	4	4	2	-2.8543	2.7344	216	-1.04	0.2977
trat*periodo	2	4	4	3	-1.9280	2.7344	216	-0.71	0.4815
trat*periodo	2	4	4	4	-3.4728	2.7344	216	-1.27	0.2054
trat*periodo	2	4	4	5	-3.1557	2.7344	216	-1.15	0.2497
trat*periodo	2	4	4	6	0.2952	2.7344	216	0.11	0.9141
trat*periodo	2	4	4	7	-3.1840	2.7344	216	-1.16	0.2455
trat*periodo	2	5	2	6	1.1492	1.9994	216	0.57	0.5660
trat*periodo	2	5	2	7	1.7144	1.9994	216	0.86	0.3921
trat*periodo	2	5	3	1	-3.6926	2.7344	216	-1.35	0.1783
trat*periodo	2	5	3	2	1.7678	2.7344	216	0.65	0.5186
trat*periodo	2	5	3	3	-0.06594	2.7344	216	-0.02	0.9808
trat*periodo	2	5	3	4	1.5260	2.7344	216	0.56	0.5774

trat*periodo	2	5	3	5	0.8666	2.7344	216	0.32	0.7516
trat*periodo	2	5	3	6	1.2340	2.7344	216	0.45	0.6522
trat*periodo	2	5	3	7	-0.4208	2.7344	216	-0.15	0.8779
trat*periodo	2	5	4	1	-4.5750	2.7344	216	-1.67	0.0958
trat*periodo	2	5	4	2	-3.0364	2.7344	216	-1.11	0.2680
trat*periodo	2	5	4	3	-2.1101	2.7344	216	-0.77	0.4412
trat*periodo	2	5	4	4	-3.6550	2.7344	216	-1.34	0.1827
trat*periodo	2	5	4	5	-3.3378	2.7344	216	-1.22	0.2235
trat*periodo	2	5	4	6	0.1130	2.7344	216	0.04	0.9671
trat*periodo	2	5	4	7	-3.3661	2.7344	216	-1.23	0.2197
trat*periodo	2	6	2	7	0.5652	1.9994	216	0.28	0.7777
trat*periodo	2	6	3	1	-4.8419	2.7344	216	-1.77	0.0780
trat*periodo	2	6	3	2	0.6186	2.7344	216	0.23	0.8212
trat*periodo	2	6	3	3	-1.2152	2.7344	216	-0.44	0.6572
trat*periodo	2	6	3	4	0.3768	2.7344	216	0.14	0.8905
trat*periodo	2	6	3	5	-0.2826	2.7344	216	-0.10	0.9178
trat*periodo	2	6	3	6	0.08478	2.7344	216	0.03	0.9753
trat*periodo	2	6	3	7	-1.5700	2.7344	216	-0.57	0.5665
trat*periodo	2	6	4	1	-5.7242	2.7344	216	-2.09	0.0375
trat*periodo	2	6	4	2	-4.1856	2.7344	216	-1.53	0.1273
trat*periodo	2	6	4	3	-3.2593	2.7344	216	-1.19	0.2346
trat*periodo	2	6	4	4	-4.8042	2.7344	216	-1.76	0.0803
trat*periodo	2	6	4	5	-4.4871	2.7344	216	-1.64	0.1023
trat*periodo	2	6	4	6	-1.0362	2.7344	216	-0.38	0.7051
trat*periodo	2	6	4	7	-4.5153	2.7344	216	-1.65	0.1001
trat*periodo	2	7	3	1	-5.4071	2.7344	216	-1.98	0.0493
trat*periodo	2	7	3	2	0.05338	2.7344	216	0.02	0.9844
trat*periodo	2	7	3	3	-1.7804	2.7344	216	-0.65	0.5157
trat*periodo	2	7	3	4	-0.1884	2.7344	216	-0.07	0.9451
trat*periodo	2	7	3	5	-0.8478	2.7344	216	-0.31	0.7568
trat*periodo	2	7	3	6	-0.4804	2.7344	216	-0.18	0.8607
trat*periodo	2	7	3	7	-2.1352	2.7344	216	-0.78	0.4357
trat*periodo	2	7	4	1	-6.2894	2.7344	216	-2.30	0.0224
trat*periodo	2	7	4	2	-4.7508	2.7344	216	-1.74	0.0837
trat*periodo	2	7	4	3	-3.8245	2.7344	216	-1.40	0.1633
trat*periodo	2	7	4	4	-5.3694	2.7344	216	-1.96	0.0509
trat*periodo	2	7	4	5	-5.0523	2.7344	216	-1.85	0.0660
trat*periodo	2	7	4	6	-1.6014	2.7344	216	-0.59	0.5587
trat*periodo	2	7	4	7	-5.0805	2.7344	216	-1.86	0.0645
trat*periodo	3	1	3	2	5.4605	1.9994	216	2.73	0.0068
trat*periodo	3	1	3	3	3.6267	1.9994	216	1.81	0.0711
trat*periodo	3	1	3	4	5.2187	1.9994	216	2.61	0.0097
trat*periodo	3	1	3	5	4.5593	1.9994	216	2.28	0.0236
trat*periodo	3	1	3	6	4.9267	1.9994	216	2.46	0.0145
trat*periodo	3	1	3	7	3.2719	1.9994	216	1.64	0.1032
trat*periodo	3	1	4	1	-0.8823	2.7344	216	-0.32	0.7473
trat*periodo	3	1	4	2	0.6563	2.7344	216	0.24	0.8106
trat*periodo	3	1	4	3	1.5826	2.7344	216	0.58	0.5634
trat*periodo	3	1	4	4	0.03768	2.7344	216	0.01	0.9890
trat*periodo	3	1	4	5	0.3548	2.7344	216	0.13	0.8969
trat*periodo	3	1	4	6	3.8057	2.7344	216	1.39	0.1654
trat*periodo	3	1	4	7	0.3266	2.7344	216	0.12	0.9050
trat*periodo	3	2	3	3	-1.8338	1.9994	216	-0.92	0.3601
trat*periodo	3	2	3	4	-0.2418	1.9994	216	-0.12	0.9039
trat*periodo	3	2	3	5	-0.9012	1.9994	216	-0.45	0.6526
trat*periodo	3	2	3	6	-0.5338	1.9994	216	-0.27	0.7897
trat*periodo	3	2	3	7	-2.1886	1.9994	216	-1.09	0.2749
trat*periodo	3	2	4	1	-6.3428	2.7344	216	-2.32	0.0213
trat*periodo	3	2	4	2	-4.8042	2.7344	216	-1.76	0.0803
trat*periodo	3	2	4	3	-3.8779	2.7344	216	-1.42	0.1576

trat*periodo	3	2	4	4	-5.4228	2.7344	216	-1.98	0.0486
trat*periodo	3	2	4	5	-5.1056	2.7344	216	-1.87	0.0632
trat*periodo	3	2	4	6	-1.6548	2.7344	216	-0.61	0.5457
trat*periodo	3	2	4	7	-5.1339	2.7344	216	-1.88	0.0618
trat*periodo	3	3	3	4	1.5920	1.9994	216	0.80	0.4268
trat*periodo	3	3	3	5	0.9326	1.9994	216	0.47	0.6414
trat*periodo	3	3	3	6	1.3000	1.9994	216	0.65	0.5163
trat*periodo	3	3	3	7	-0.3548	1.9994	216	-0.18	0.8593
trat*periodo	3	3	4	1	-4.5090	2.7344	216	-1.65	0.1006
trat*periodo	3	3	4	2	-2.9704	2.7344	216	-1.09	0.2786
trat*periodo	3	3	4	3	-2.0441	2.7344	216	-0.75	0.4555
trat*periodo	3	3	4	4	-3.5890	2.7344	216	-1.31	0.1907
trat*periodo	3	3	4	5	-3.2719	2.7344	216	-1.20	0.2328
trat*periodo	3	3	4	6	0.1790	2.7344	216	0.07	0.9479
trat*periodo	3	3	4	7	-3.3001	2.7344	216	-1.21	0.2288
trat*periodo	3	4	3	5	-0.6594	1.9994	216	-0.33	0.7419
trat*periodo	3	4	3	6	-0.2920	1.9994	216	-0.15	0.8840
trat*periodo	3	4	3	7	-1.9468	1.9994	216	-0.97	0.3313
trat*periodo	3	4	4	1	-6.1010	2.7344	216	-2.23	0.0267
trat*periodo	3	4	4	2	-4.5624	2.7344	216	-1.67	0.0967
trat*periodo	3	4	4	3	-3.6361	2.7344	216	-1.33	0.1850
trat*periodo	3	4	4	4	-5.1810	2.7344	216	-1.89	0.0595
trat*periodo	3	4	4	5	-4.8639	2.7344	216	-1.78	0.0767
trat*periodo	3	4	4	6	-1.4130	2.7344	216	-0.52	0.6059
trat*periodo	3	4	4	7	-4.8921	2.7344	216	-1.79	0.0750
trat*periodo	3	5	3	6	0.3674	1.9994	216	0.18	0.8544
trat*periodo	3	5	3	7	-1.2874	1.9994	216	-0.64	0.5203
trat*periodo	3	5	4	1	-5.4416	2.7344	216	-1.99	0.0478
trat*periodo	3	5	4	2	-3.9030	2.7344	216	-1.43	0.1549
trat*periodo	3	5	4	3	-2.9767	2.7344	216	-1.09	0.2775
trat*periodo	3	5	4	4	-4.5216	2.7344	216	-1.65	0.0997
trat*periodo	3	5	4	5	-4.2045	2.7344	216	-1.54	0.1256
trat*periodo	3	5	4	6	-0.7536	2.7344	216	-0.28	0.7831
trat*periodo	3	5	4	7	-4.2327	2.7344	216	-1.55	0.1231
trat*periodo	3	6	3	7	-1.6548	1.9994	216	-0.83	0.4088
trat*periodo	3	6	4	1	-5.8090	2.7344	216	-2.12	0.0348
trat*periodo	3	6	4	2	-4.2704	2.7344	216	-1.56	0.1198
trat*periodo	3	6	4	3	-3.3441	2.7344	216	-1.22	0.2227
trat*periodo	3	6	4	4	-4.8890	2.7344	216	-1.79	0.0752
trat*periodo	3	6	4	5	-4.5718	2.7344	216	-1.67	0.0960
trat*periodo	3	6	4	6	-1.1210	2.7344	216	-0.41	0.6822
trat*periodo	3	6	4	7	-4.6001	2.7344	216	-1.68	0.0940
trat*periodo	3	7	4	1	-4.1542	2.7344	216	-1.52	0.1302
trat*periodo	3	7	4	2	-2.6156	2.7344	216	-0.96	0.3399
trat*periodo	3	7	4	3	-1.6893	2.7344	216	-0.62	0.5374
trat*periodo	3	7	4	4	-3.2342	2.7344	216	-1.18	0.2382
trat*periodo	3	7	4	5	-2.9171	2.7344	216	-1.07	0.2873
trat*periodo	3	7	4	6	0.5338	2.7344	216	0.20	0.8454
trat*periodo	3	7	4	7	-2.9453	2.7344	216	-1.08	0.2826
trat*periodo	4	1	4	2	1.5386	1.9994	216	0.77	0.4424
trat*periodo	4	1	4	3	2.4649	1.9994	216	1.23	0.2190
trat*periodo	4	1	4	4	0.9200	1.9994	216	0.46	0.6459
trat*periodo	4	1	4	5	1.2372	1.9994	216	0.62	0.5367
trat*periodo	4	1	4	6	4.6880	1.9994	216	2.34	0.0199
trat*periodo	4	1	4	7	1.2089	1.9994	216	0.60	0.5461
trat*periodo	4	2	4	3	0.9263	1.9994	216	0.46	0.6436
trat*periodo	4	2	4	4	-0.6186	1.9994	216	-0.31	0.7573
trat*periodo	4	2	4	5	-0.3014	1.9994	216	-0.15	0.8803
trat*periodo	4	2	4	6	3.1494	1.9994	216	1.58	0.1167
trat*periodo	4	2	4	7	-0.3297	1.9994	216	-0.16	0.8692

trat*periodo	4	3	4	4	-1.5449	1.9994	216	-0.77	0.4406
trat*periodo	4	3	4	5	-1.2277	1.9994	216	-0.61	0.5398
trat*periodo	4	3	4	6	2.2231	1.9994	216	1.11	0.2674
trat*periodo	4	3	4	7	-1.2560	1.9994	216	-0.63	0.5305
trat*periodo	4	4	4	5	0.3171	1.9994	216	0.16	0.8741
trat*periodo	4	4	4	6	3.7680	1.9994	216	1.88	0.0608
trat*periodo	4	4	4	7	0.2889	1.9994	216	0.14	0.8853
trat*periodo	4	5	4	6	3.4509	1.9994	216	1.73	0.0858
trat*periodo	4	5	4	7	-0.02826	1.9994	216	-0.01	0.9887
trat*periodo	4	6	4	7	-3.4791	1.9994	216	-1.74	0.0833

ANEXO 2

Comparación de medias por tratamiento de inicio y duración del estro del experimento 2

Datos de entrada a programa SAS.

```
DATA SINCR;
OPTIONS NODATE;
INPUT TRAT REP HINI DUES;
CARDS;
1      1      40      44
1      2      44      32
1      3      36      48
1      4      52      8
1      5      52      24
1      6      44      36
1      7      28      44
1      8      48      28
1      9      48      36
1      10     32      40
2      1      48      20
2      2      88      4
3      8      24      16
.
.
.
.
3      9      40      28
3      10     32      44
4      1      52      16
4      2      44      24
4      3      0       0
4      4      0       0
4      5      24      8
4      6      0       0
4      7      0       0
4      8      32      36
4      9      48      20
4      10     0       0
PROC GLM;
CLASSES TRAT;
MODEL HNI=TRAT/SSS3;
MEANS TRA TUKEY LINES
TITLE 'Modelo insaturado para Horas de Inicio';
RUN;
PROC GLM;
CLASSES TRAT;
MODEL DUES= TRATSS3;
MEANS TRAT/TUKEY LIINES;
TITLE 'Modelo insaturado para Duracion de Estro';
RUN;
PROC MEAN MEAN STD STDER;BY TRAT;
VAR HINI DUES;
RUN;
```

Salida de SAS

Esta nos indica el número de observaciones que tenemos y los datos proporcionados al SAS.

Modelo insaturado para Horas de Inicio 1

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4

Number of observations 40

NOTE: Due to missing values, only 34 observations can be used in this analysis.

Modelo insaturado para Horas de Inicio 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: HINI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	932.193464	310.731155	2.60	0.0707
Error	30	3589.688889	119.656296		
Corrected Total	33	4521.882353			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HINI Mean
0.206152	25.47381	10.93875	42.94118

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	932.1934641	310.7311547	2.60	0.0707

A continuación se presentan la comparación de las medias de tratamiento para inicio del estro, usando el programa SAS y la prueba de Tukey.

Modelo insaturado para Horas de Inicio 3

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for HINI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	30
Error Mean Square	119.6563
Critical Value of Studentized Range	3.84540
Minimum Significant Difference	15.036
Harmonic Mean of Cell Sizes	7.826087

NOTE: Cell sizes are not equal.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	50.400	10	2
A			
A	42.400	10	1
A			
A	40.000	5	4
A			
A	36.889	9	3

La siguiente es la salida del procedimiento de duración del estro.

Modelo insaturado para Duracion de Estro 4

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4

Number of observations 40

NOTE: Due to missing values, only 34 observations can be used in this analysis.

Modelo insaturado para Duracion de Estro 5

The GLM Procedure

Dependent Variable: DUES

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	1083.126797	361.042266	3.28	0.0644
Error	30	3302.755556	110.091852		
Corrected Total	33	4385.882353			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DUES Mean
----------	-----------	----------	-----------

0.246958 36.25446 10.49247 28.94118

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	1083.126797	361.042266	3.28	0.0644

A continuación se presentan la comparación de las medias de tratamiento para duración del estro, usando el programa SAS y la prueba de Tukey.

Modelo insaturado para Duracion de Estro 6

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for DUES

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	30
Error Mean Square	110.0919
Critical Value of Studentized Range	3.84540
Minimum Significant Difference	14.423
Harmonic Mean of Cell Sizes	7.826087

NOTE: Cell sizes are not equal.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	34.000	10	1
A			
A	33.778	9	3
A			
A	23.600	10	2
A			
A	20.800	5	4

Modelo insaturado para Duracion de Estro 7

----- TRAT=1 -----

The MEANS Procedure

Variable	Mean	Std Dev	Std Error
HINI	42.4000000	8.2623645	2.6127891
DUES	34.0000000	11.8133634	3.7357135

----- TRAT=2 -----

Variable	Mean	Std Dev	Std Error
HINI	50.4000000	14.6302578	4.6264938
DUES	23.6000000	8.7330789	2.7616420

----- TRAT=3 -----

Variable	Mean	Std Dev	Std Error
HINI	36.8888889	7.9442502	2.6480834
DUES	33.7777778	10.7909427	3.5969809

----- TRAT=4 -----

Variable	Mean	Std Dev	Std Error
HINI	40.0000000	11.6619038	5.2153619
DUES	20.8000000	10.3537433	4.6303348