



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

EVALUACIÓN DEL APORTE EXÓGENO DE PROGESTERONA SOBRE LA PRESENCIA DE CUERPO LÚTEO EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN A CORTO PLAZO

ANGEL CAMPERO CRUZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: “**Escribe tu título de tesis**” realizada por el (la) estudiante: “**Escribe tu nombre**” bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA


Dra. María Teresa Sánchez Torres Esqueda

ASESOR


Dr. José Luis Figueroa Velasco

ASESOR


Dr. José Alfredo Martínez Aispuro

ASESOR


Dr. Rafael Nieto Aquino

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, junio de 2022

EVALUACIÓN DEL APORTE EXÓGENO DE PROGESTERONA SOBRE LA PRESENCIA DE CUERPO LÚTEO EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN A CORTO PLAZO

Angel Campero Cruz, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

RESUMEN

Los protocolos de sincronización cortos tienen múltiples ventajas; no obstante, la presencia de cuerpo lúteo en protocolos cortos afecta su respuesta. El objetivo de esta investigación fue evaluar la influencia del aporte exógeno de progesterona mediante dispositivos CIDR en tratamientos de sincronización cortos y convencionales, con y sin la presencia de cuerpo lúteo (CL) al inicio del tratamiento, sobre las variables reproductivas en ovejas. Para ello, se utilizaron 80 ovejas, que se distribuyeron en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2*2 (periodo de sincronización a 6 y 11 días; con y sin cuerpo lúteo); al retirar el CIDR se administraron 400 UI de eCG y las ovejas recibieron monta directa 24 h post retiro del CIDR. El tratamiento corto con CL no presentó respuesta, no obstante, la presentación de estros fue diferente ($p < 0.05$) entre el tratamiento corto sin CL (35 %) comparada con tratamientos convencionales (100 %); similarmente, se encontró diferencia ($p < 0.05$) en el porcentaje de gestación del tratamiento corto sin CL (30 %) comparado con porcentajes de gestación en tratamientos convencionales con y sin CL (85 y 100 %). No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) para las variables inicio, duración y retorno de estro, y prolificidad. La concentración de progesterona al retirar el CIDR fue similar ($p > 0.05$) para todos los tratamientos; sin embargo, el día de presentación de estro la concentración fue mayor ($p < 0.05$) para el tratamiento corto con CL (4.75 ng mL^{-1}) comparado con los demás tratamientos. En conclusión, la presencia o ausencia de CL al inicio de un tratamiento de sincronización convencional no altera la respuesta de las variables reproductivas; no obstante, la respuesta en tratamientos de sincronización cortos se ve afectada si no se administra $\text{PGF}_{2\alpha}$ al final del tratamiento.

Palabras clave: *Estradiol, oleada folicular, progesterona, prostaglandina, reproducción.*

EVALUATION OF THE EXOGENOUS PROGESTERONE CONTRIBUTION ON THE PRESENCE OF THE CORPUS LUTEUM IN SHORT-TERM SYNCHRONIZATION PROTOCOLS

Angel Campero Cruz, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

ABSTRACT

The short protocols of synchronization have multiple advantages; nevertheless, the presence of corpus luteum in short protocols affects its response. The objective of this research was to evaluate the influence of the exogenous progesterone contribution by CIDR devices in short and conventional synchronization protocols, with and without the presence of a corpus luteum (CL) at the beginning of the treatment, on the reproductive variables in sheep. For this, 80 ewes were used, which were distributed in a completely randomized design with factorial arrangement 2*2 (6 and 11-day synchronization period, with and without a corpus luteum); at CIDR removal, 400 IU of eCG were administered and the sheep received natural mating 24 h post removal of the CIDR. The short treatment with CL did not show estrous response, however the onset of estrus was different ($p < 0.05$) between the short treatment without CL (35 %) compared with conventional protocols (100 %); likewise, a difference ($p < 0.05$) was found in the percentage of pregnancy of the short treatment without CL (30 %) compared to gestation percentages in conventional treatments with and without CL (85 and 100 %). No differences were found ($p > 0.05$) for the onset, duration and return to estrus, and prolificity. Progesterone concentration at CIDR removal was similar ($p > 0.05$) for all treatments; however, the day of estrus presentation was greater ($p < 0.05$) for short treatment with CL (4.75 ng mL^{-1}) compared to the other treatments. In conclusion, the presence or absence of CL at the beginning of a conventional synchronization treatment does not alter the response of the reproductive variables; however, the response in short synchronization treatment is affected if $\text{PGF}_{2\alpha}$ is not administered at the end of the treatment.

Keywords: Estradiol, follicular wave, progesterone, prostaglandin, reproduction.

Esta tesis es dedicada a mi familia: con amor para mi esposa **Lizeth Pérez Villegas** y mi hija **Annia Campero Pérez** quienes son mi impulso para seguir adelante, por todo el apoyo y paciencia que me brindan.

Con admiración y respeto a mis padres **Angel Campero Calva** y **Andrea Elizabeth Cruz Lazcano** por todo el apoyo a lo largo de toda mi vida académica, por el esfuerzo realizado para sacarme a flote día con día y por todos los consejos recibidos en cada etapa a lo largo de mi vida.

Con aprecio a mi hermano **Luis David Campero Cruz** quien es una persona muy importante en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** que me permitió lograr una meta más en mi vida.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por haber financiado mis estudios de maestría y la presente investigación. Y al **Colegio de Postgraduados campus Montecillo** por aceptarme para seguir superándome en el ámbito académico y científico, así como darme la oportunidad de convivir con grandes amigos. En especial a los **docentes y personal administrativo del posgrado de ganadería**, quienes me brindaron su apoyo incondicional para culminar mi formación.

A mi consejera, la **Dra. Ma. Teresa Sánchez Torres Esqueda** quien es pilar fundamental de este proyecto; por compartir su conocimiento; por estar siempre al pendiente de mi formación; así como por el apoyo y confianza otorgada, muchas gracias.

A mis asesores, los **Dres. José Luis Figueroa Velasco; José Alfredo Martínez Aispuro y Rafael Nieto Aquino** por su paciencia, confianza, enseñanza, consejos y amistad que en todo momento me brindaron, muchas gracias.

Al **M.V.Z. José Luis Cordero Mora** por su compromiso con la investigación y el conocimiento que compartió en la granja experimental, así como en la vida.

Al **Dr. David Hernández Sánchez** por su colaboración en la revisión de la presente tesis.

Al **M.C. Mario Cárdenas León** por su participación en los análisis de hormonas sanguíneas en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán.

A mis padres **Andrea E. Cruz Lazcano y Angel Campero Calva** quienes están al pendiente de mi en todo momento y me brindan sabiduría para salir adelante en la vida, quedo enormemente agradecido con ellos.

A la **Ing. Lizeth Pérez Villegas** por acompañarme en las decisiones tomadas para salir adelante juntos, por su esfuerzo y valentía, muchas gracias.

A mis compañeros de postgrado **Israel, Susana, Daniel** con quienes tuve una relación más estrecha, por su apoyo, consejos y amistad brindada; así como a los **alumnos de prácticas**

profesionales dentro de ellos a Luis Felipe quienes fueron soporte dentro de actividades experimentales para la presente investigación.

Nuevamente a todos los **docentes** que formaron parte en mi preparación académica, gracias por todos los conocimientos adquiridos a través de su esfuerzo y por todos los consejos otorgados.

MUCHAS GRACIAS

ANGEL CAMPERO CRUZ

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE CUADROS	xi
I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Perspectiva de la ovinocultura	3
2.1.1 Situación internacional de la producción ovina.....	3
2.1.2 Producción ovina en México	5
2.2 Anatomía ovárica	8
2.2.1 Crecimiento y desarrollo folicular	8
2.2.1.1 Dinámica folicular	10
2.2.1.2 Ovulación.....	12
2.2.2 Cuerpo lúteo	13
2.2.2.1 Luteinización	15
2.2.2.2 Luteólisis.....	16
2.3 Fisiología reproductiva de la oveja.....	18
2.3.1 Estacionalidad reproductiva	18
2.3.2 Eje Hipotálamo-hipófisis-gonadal.....	20
2.3.3 Ciclo estral.....	20
2.4 Endocrinología de la reproducción	22
2.4.1 Principales hormonas que intervienen en la reproducción	22
2.4.1.1 Hormona Liberadora de Gonadotropinas	22
2.4.1.2 Gonadotropinas.....	23
2.4.1.3 Progesterona	24
2.4.1.4 Estradiol.....	25
2.4.1.5 Prostaglandinas.....	26
2.5 Manipulación del ciclo estral	26
2.5.1 Control de la fase lútea.....	27
2.5.2 CIDR- Dispositivo de liberación controlada de droga	28

2.5.3 Protocolos de sincronización convencionales vs cortos	28
III. JUSTIFICACIÓN	30
IV. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	32
4.1 Objetivo general	32
4.2 Objetivos específicos	32
V. MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1 Localización del área de estudio	33
5.2 Animales experimentales	33
5.3 Alimentación de animales	33
5.4 Tratamientos.....	34
5.5 Procedimiento de sincronización de estros	34
5.5.1 Presincronización	34
5.5.2 Sincronización de estros	35
5.6 Detección de estros y monta natural	35
5.7 Diagnostico de gestación y partos.....	36
5.8 Muestreo y análisis hormonal	36
5.9 Variables de respuesta.....	37
5.10 Análisis estadístico.....	37
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
VII. CONCLUSIONES.....	49
VIII. RECOMENDACIONES	50
IX. LITERATURA CITADA	51
ANEXOS	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Producción global de carne ovina en canal..	3
Figura 2. Principales países productores de carne en canal ovina..	4
Figura 3. Importaciones de carne en canal ovina por continente.....	4
Figura 4. Principales países exportadores de carne en canal ovina.	5
Figura 5. Inventario ovino nacional, estados con mayor número de cabezas.....	6
Figura 6. Producción de carne en canal ovina, principales estados productores.	7
Figura 7. Anatomía del ovario y sus principales estructuras.	8
Figura 8. Esquematización del crecimiento y desarrollo folicular a lo largo del tiempo antes de ovular.	9
Figura 9. Desarrollo folicular ovárico durante un ciclo estral en ovinos.....	11
Figura 10. Ejemplo del desarrollo de una oleada folicular..	12
Figura 11. Descripción del ciclo estral de la oveja.	21
Figura 12. Presincronización para el control de la vida lútea y protocolos de sincronización de estro.....	35
Figura 13. Distribución de inicio de estros después del retiro del CIDR y aplicación de eCG.	41
Figura 14. Concentración de P4 por factores y su interacción en diferentes eventos fisiológicos.	45
Figura 15. Concentración de E2 por factores y su interacción durante la fase folicular del experimento.....	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Designación de los tratamientos sobre un diseño factorial 2x2.....	34
Cuadro 2. Respuesta de las variables reproductivas en ovejas con y sin cuerpo lúteo al inicio de la sincronización utilizando tratamientos cortos y convencionales	40

I. INTRODUCCION

En la actualidad los protocolos de sincronización se basan en manipular la fase lútea del ciclo estral simulando la función lútea con progesterona (P_4) o sus análogos, o acortándola por medio de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) y sus análogos; en conjunto con la aplicación de hormonas gonadotrópicas como la gonadotropina coriónica equina (eCG). Sin embargo, el avance tecnológico ha permitido entender la fisiología ovárica; por lo que modificar los protocolos es oportuno para ser eficientes, considerando la salud y bienestar animal, seguridad alimentaria e impacto ambiental que genere la aplicación de estos tratamientos (Gonzalez-Bulnes *et al.* 2020).

En los protocolos convencionales el periodo de sincronización se basaba en la duración de la vida media del CL durante el ciclo estral; se insertaban dispositivos intravaginales con P_4 o análogos durante 12 a 14 d y una aplicación de eCG al retirar el dispositivo (Abecia *et al.* 2012). No obstante, los periodos de sincronización largos comprometen la fertilidad, ya que desarrollan folículos preovulatorios de menor calidad debido a bajas concentraciones de estradiol (E_2), lo que resulta en una función lútea y viabilidad embrionaria deficientes (Gonzalez-Bulnes *et al.* 2005).

Entre las estrategias para sincronizar estro destacan los tratamientos con dispositivos CIDR que se administran durante periodos cortos (5 a 7 d), con los cuales se obtiene hasta 100 % de presentación de estros y un 80 % de gestación mediante monta natural (Martinez-Ros *et al.* 2018c). Los tratamientos de sincronización cortos facilitan la reutilización del CIDR por periodos de 6 d y permiten obtener 58.5 % de gestación al utilizar inseminación artificial intrauterina (dos Santos-Neto *et al.* 2015) o 65 % de gestación con sólo una monta directa (Swelum *et al.* 2018), lo cual es considerable al disminuir los costos de producción. Los tratamientos de sincronización cortos en ovejas presentan respuesta similar a los tratamientos a largo plazo (o convencionales), en inicio de estro y pico preovulatorio de LH; por lo tanto, se pueden implementar en programas de inseminación artificial (Martinez-Ros *et al.* 2019).

Los tratamientos de sincronización cortos aceleran el recambio folicular y hacen posible que ovule un folículo dominante más joven y sano (Menchaca y Rubianes 2004). Durante el desarrollo folicular preovulatorio altas concentraciones de P_4 mejoran la calidad de los ovocitos, incrementa la fertilización y calidad del embrión (Cuadro *et al.* 2018; Menchaca *et al.* 2018). La luteinización incrementa el flujo sanguíneo permitiendo la distribución de nutrientes, hormonas y

factores de crecimiento, lo que favorece las características morfológicas y de competencia en el desarrollo de ovocitos (Argudo *et al.* 2020). Además, Penitente-Filho *et al.* (2015) plantean que ovarios con CL y posiblemente el uso de P₄ de manera exógena producen ovocitos de mejor calidad, incrementa fertilidad y producción de embriones. No obstante, la sincronización del estro en ovejas con ovarios sin presencia de CL, el número de folículos aumenta, lo cual incrementa la concentración sérica de E₂ durante los días 4 a 5 y 12 a 16 del ciclo estral, en relación al desarrollo del folículo dominante de la oleada folicular (Shabankareh *et al.* 2010). De manera experimental es importante determinar la concentración hormonal en sangre de los animales cuando se utilizan tratamientos de sincronización para asegurar concentraciones necesarias y lograr desarrollo folicular, ovulación agrupada y porcentajes de gestación aceptables (Franco y Uribe, 2012).

Ante los diversos factores que influyen sobre los tratamientos de sincronización, es necesario evaluar la respuesta al estro (presentación, inicio, duración) para incrementar la fertilidad. Iniciar un tratamiento de sincronización corto (aporte exógeno) con presencia de CL (aporte endógeno) incrementará los niveles de P₄, lo cual permitiría obtener ovocitos de mejor calidad e incrementar la fertilidad; sin embargo, el mismo incremento en la concentración de P₄ y la permanencia del CL comprometen la respuesta al estro. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el aporte exógeno de P₄ mediante dispositivos CIDR en tratamientos de sincronización cortos (6 d) y convencionales (11 d); con y sin cuerpo lúteo, sobre las variables reproductivas en ovejas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Perspectiva de la ovinocultura

La oveja doméstica (*Ovis aries*) es descendiente del muflón asiático (*Ovis orientalis*) (Rezaie *et al.* 2010). Es uno de los animales de mayor importancia económica, cultural y social, su producción es destinada principalmente para la obtención de carne, leche, lana y piel; sin embargo, existen características esenciales para aumentar la productividad como la fertilidad, crecimiento corporal, peso, calidad de la canal, porcentaje de grasa, producción de leche, calidad de lana, tipo de cuerno, color de pelaje las cuales son de interés económico (Gebreselassie *et al.* 2020).

2.1.1 Situación internacional de la producción ovina

La producción mundial de carne ovina se ha mantenido con ligeras variaciones desde el 2018 hasta el 2021. En 2021 la producción mundial de carne en canal ovina fue de 16, 464, 000 toneladas, de las cuales se produjeron 9, 879, 000 en Asia, 3, 658, 000 en África, 135, 000 en América Central, 342, 000 en Sudamérica, 87, 000 en Norte América, 1, 206, 000 en Europa, y 1, 157, 000 en Oceanía; más del 80 % de la producción mundial es producida en dos continentes, Asia y África (Figura 1) (FAO, 2021).

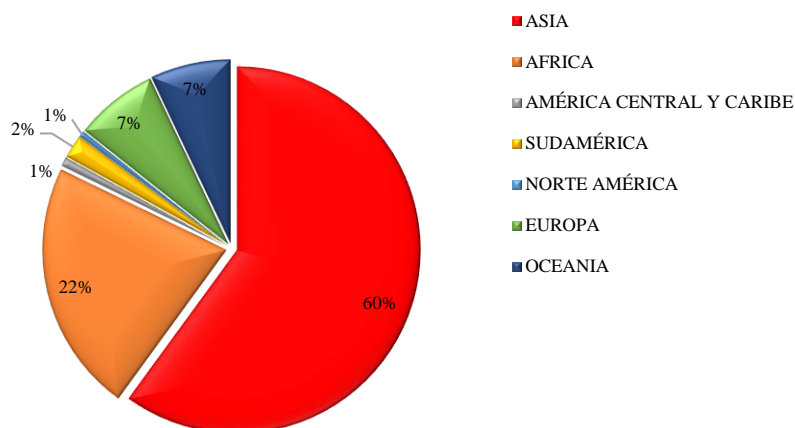


Figura 1. Producción global de carne ovina en canal (FUENTE: FAO, 2021).

El principal país productor es China y produce el 30.4 % de la producción mundial de carne ovina, le siguen India, Pakistán, Australia y la Unión Europea; México fluctúa en el lugar número

17 a nivel mundial en la producción de carne ovina con un aporte del 0.6 % de la producción global (Figura 2) (FAO, 2021).

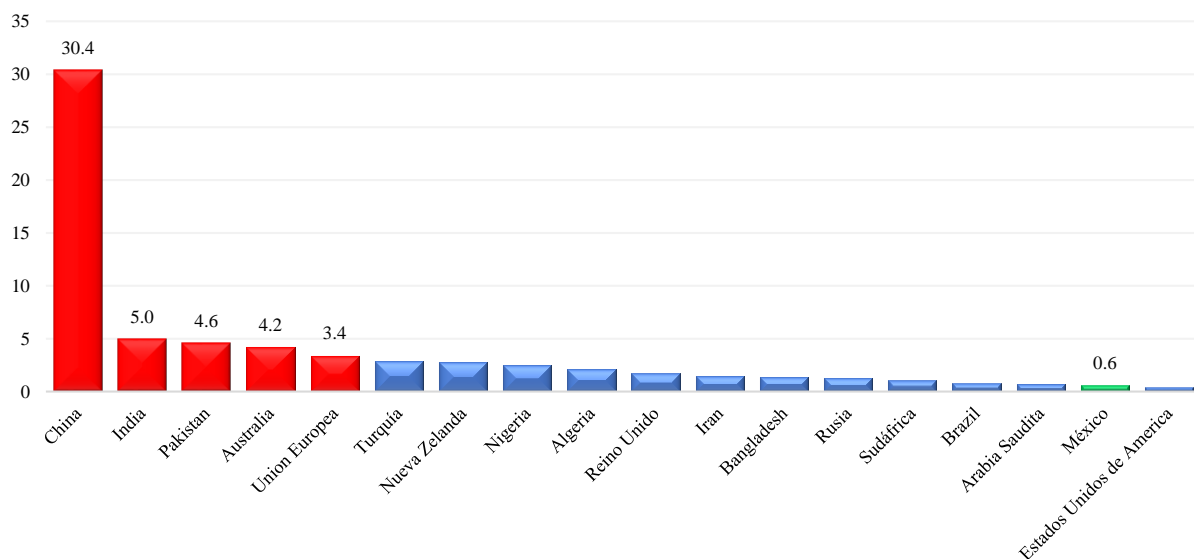


Figura 2. Principales países productores de carne en canal ovina (FUENTE: FAO, 2021).

Las importaciones para 2021 fueron de 1, 050, 000 toneladas de carne en canal ovina, de las cuales Asia fue el mayor importador, siguiéndole Europa y Norte América, cubriendo el 95 % del total de las importaciones y el resto por los demás continentes como se muestra en la Figura 3 (FAO, 2021).

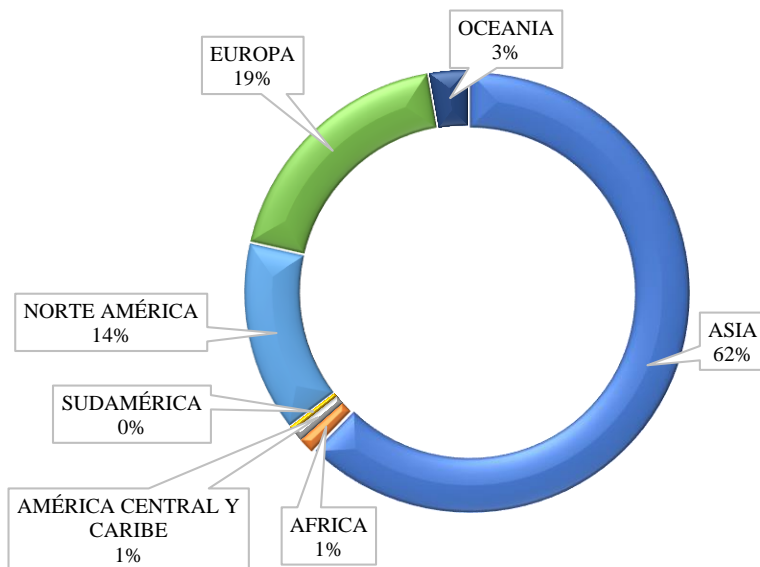


Figura 3. Importaciones de carne en canal ovina por continente (FUENTE: FAO, 2021).

Las exportaciones de carne de canal ovina en el mundo para el 2021 fueron de 1, 069, 000 toneladas, de estas la mayoría fueron exportadas por Australia y Nueva Zelanda cubriendo el 79 % del total de las exportaciones; existen otras regiones con importancia en la exportación de carne ovina como se muestra en la Figura 4 (FAO, 2021).

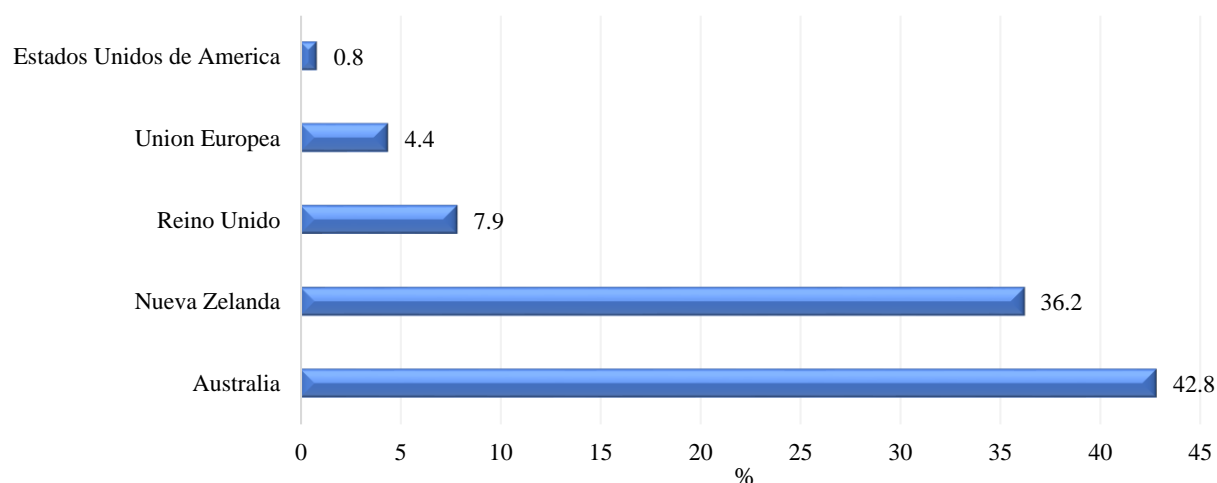


Figura 4. Principales países exportadores de carne en canal ovina (FUENTE: FAO, 2021).

Se prevé que el consumo de carne de ovina irá descendiendo a largo plazo por el incremento en el consumo de carne de aves de corral, si bien la carne ovina es considerada un componente premium y es nicho de mercado en algunos países desarrollados; el consumo per cápita de carne ovina en 2020 a nivel mundial fue de 1.8 kg (OCDE/FAO, 2021).

2.1.2 Producción ovina en México

Según el Consejo Mexicano de la Carne A.C., al cierre del 2020 fluctuamos en la posición número 6° del ranking mundial de consumo per cápita de carne, con un consumo de 69 kg de carne anual, con un crecimiento del 0.8 % que está por encima de la media de los líderes mundiales con 0.6 % al año (COMECARNE, 2021).

Al cierre del 2020 el inventario de cabezas de ganado ovino fue de 8, 725, 882; los estados con mayor inventario son Estado de México, Hidalgo, Veracruz, Puebla y Zacatecas (Figura 5) (SIAP, 2020a). De esta población ovina, se sacrificaron 3, 167, 710 cabezas y se obtuvieron 65, 150 toneladas de carne en canal, que resultan en un valor de la producción de 4, 934, 927 mil pesos, lo que representa el 1.4 % del valor de la producción de carne en canal de las diferentes

especies pecuarias consumidas en México, considerando a bovinos, porcinos, caprinos y aves de corral (SIAP, 2020b).

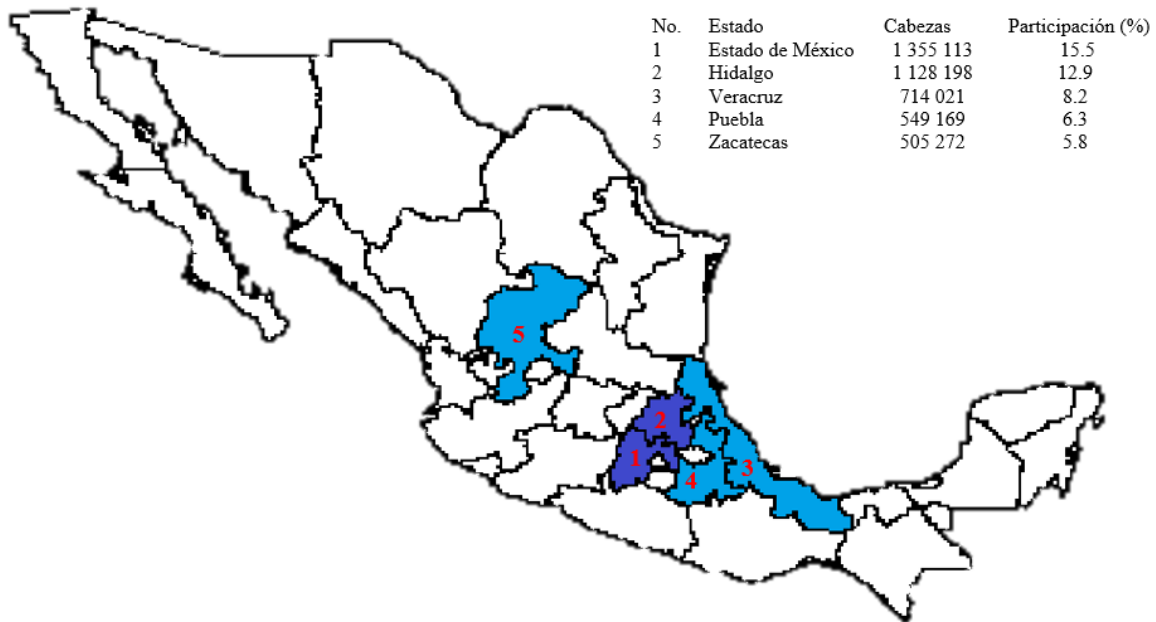


Figura 5. Inventario ovino nacional, estados con mayor número de cabezas (FUENTE: SIAP, 2020a).

Para 2021, la producción de carne en canal incrementó a 65, 891 toneladas; los principales estados productores de carne de canal ovina fueron Estado de México, Hidalgo, Veracruz, Jalisco y Puebla donde se produjo el 47.1 % del total de la producción (Figura 6) y lo demás en el resto del país (SIAP, 2021).

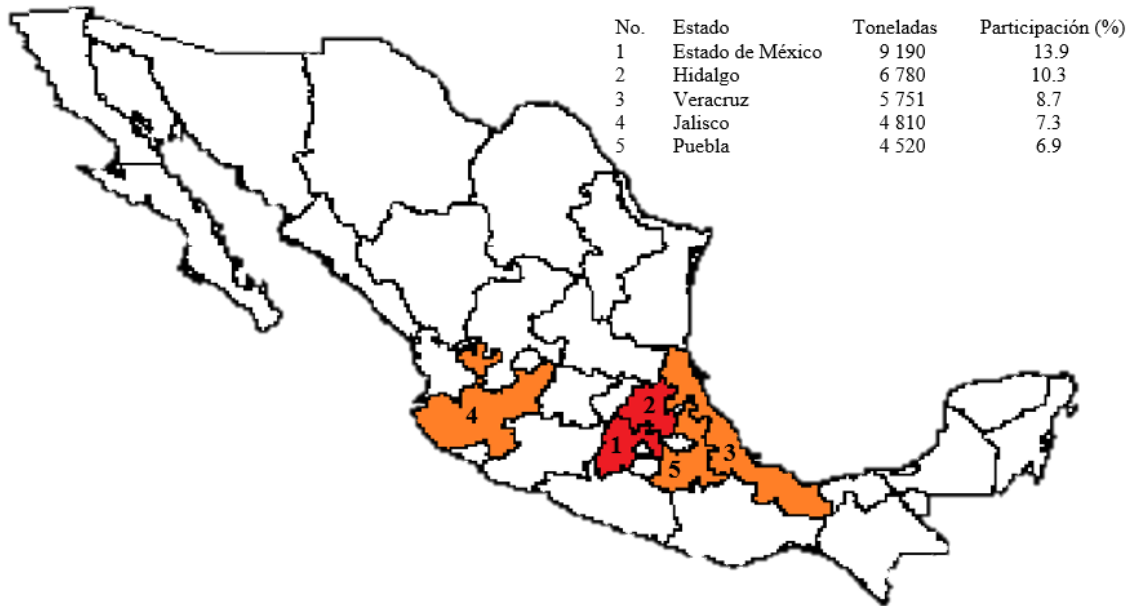


Figura 6. Producción de carne en canal ovina, principales estados productores (FUENTE: SIAP, 2021).

El principal platillo que se elabora a partir de los ovinos en México es la barbacoa; el consumo per cápita de carne de ovino en México para 2019 fue de 567 g, con un incremento de 0.39 % a través de 1970 a 2019; en el año de 2004 se registró el mayor consumo con alrededor de 1 kg por persona (Bobadilla-Soto *et al.* 2021).

La producción ovina en México se realiza principalmente bajo sistemas de pastoreo tradicionales, donde no se utilizan tecnologías y la productividad es baja. En la producción nacional se distinguen tres regiones: la norte donde se utilizan razas de lana y razas cárnicas con sistemas tecnificados, la región centro donde prevalecen cruza de la raza Suffolk, Hampshire y razas de pelo que se desarrollan bajo pastoreo de agostaderos o terrenos agrícolas para aprovechar algunos esquilmos, y la región sur donde destacan las razas de pelo como Pelibuey, Black Belly, Dorper y Katahdin (Hernández-Marín *et al.* 2017).

La producción ovina nacional no satisface su demanda: para 2019 el 9.6 % del consumo nacional se importó. En la actualidad la importación de ganado en pie es menor que la importación de carne: se importaron 7, 752 cabezas principalmente de EUA, Australia y Nueva Zelanda; mientras que de carne se importaron 6, 782 toneladas provenientes de Australia, Nueva Zelanda y en menor cantidad de EUA y Chile (Bobadilla-Soto *et al.* 2021).

Una característica de la carne de ovino es que es mejor pagada que la de otras especies y su precio se mantiene estable a través de todo el año. Para 2019 el precio en pie fluctuó en 1.79 USD por kg; la producción es estacional con un incremento en los meses de junio a diciembre, lo cual disminuye los precios del mercado en pie y en canal, pero también disminuye las importaciones (Bobadilla-Soto *et al.* 2021).

2.2 Anatomía ovárica

El ovario es una estructura con la función de producir gametos y hormonas, por ello a través del ciclo reproductivo sufre cambios en su estructura, se encuentra recubierto de una capa de tejido conectivo llamada túnica albugínea, la cual le confiere estructura; esta se encuentra recubierta por una capa de células llamada epitelio germinal (Figura 7) (Senger, 2003). Debajo de la túnica albugínea se encuentra la corteza ovárica que es donde se encuentran las diferentes estructuras como: ovocitos, folículos (primarios, secundarios y antrales) y cuerpos lúteos; los cuerpos lúteos en degradación o conocidos como cuerpos “albicans” (Figura 7) (Senger, 2003); mientras que en la parte central del ovario se encuentra la médula, donde se encuentran los nervios, vasculatura y vasos linfáticos (Figura 7) (Bravo-Benítez *et al.* 2021).

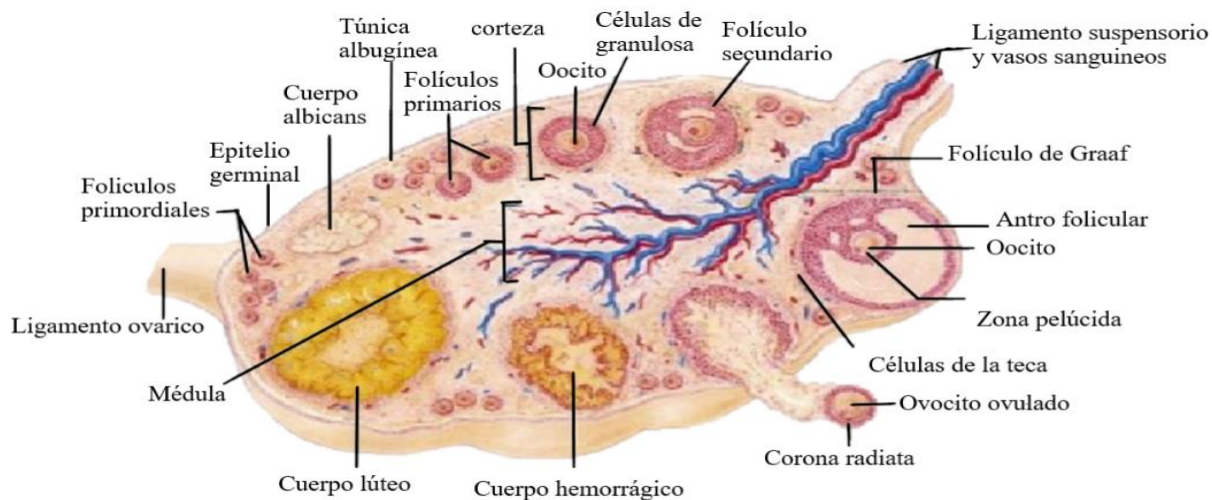


Figura 7. Anatomía del ovario y sus principales estructuras (Fuente: Adaptado de Vantman y Vega, 2010).

2.2.1 Crecimiento y desarrollo folicular

En los mamíferos, la hembra cuenta con una reserva de ovocitos que han interrumpido su crecimiento en folículos primordiales, para ser ovulados durante su vida reproductiva. En ovinos

los folículos primordiales comienzan su formación durante el desarrollo fetal a partir del día 70 (Fortune, 2002).

Con el desarrollo prepuberal los ovarios sufren una gran reducción de folículos primordiales: ovinos pre púber contienen cerca de 40 a 300 mil folículos primordiales (Scaramuzzi *et al.* 1993) de los cuales, con algunas variaciones raciales en la adultez, la oveja posee entre 12 y 86 mil folículos primordiales; de estos, entre 100 y 400 folículos se encuentran en crecimiento y solo 10 a 40 son visibles (Rubianes, 2005).

Un estudio del transcriptoma de células de la granulosa identificó una diferencia marcada de genes expresados entre ovejas adultas y corderas, que explica la posible razón de los defectos en desarrollo en folículos y ovocitos de las corderas; además se identificó que los genes FABP4 y PLA2G4A expresados en células de la granulosa se relacionan con funciones de apoptosis y síntesis de ácido araquidónico (Tian *et al.* 2022).

El desarrollo folicular ovárico es un proceso dinámico complejo que ocurre junto al ciclo estral, caracterizado por una proliferación marcada y una diferenciación de las células foliculares, proporcionando un medio ambiente óptimo para la maduración del ovocito y su preparación para la fertilización después de la ovulación (Armstrong y Webb, 1997). El proceso gradual de desarrollo y diferenciación de un folículo, desde una estructura primordial hasta el folículo preovulatorio dura hasta 6 meses, como se muestra en la Figura 8.

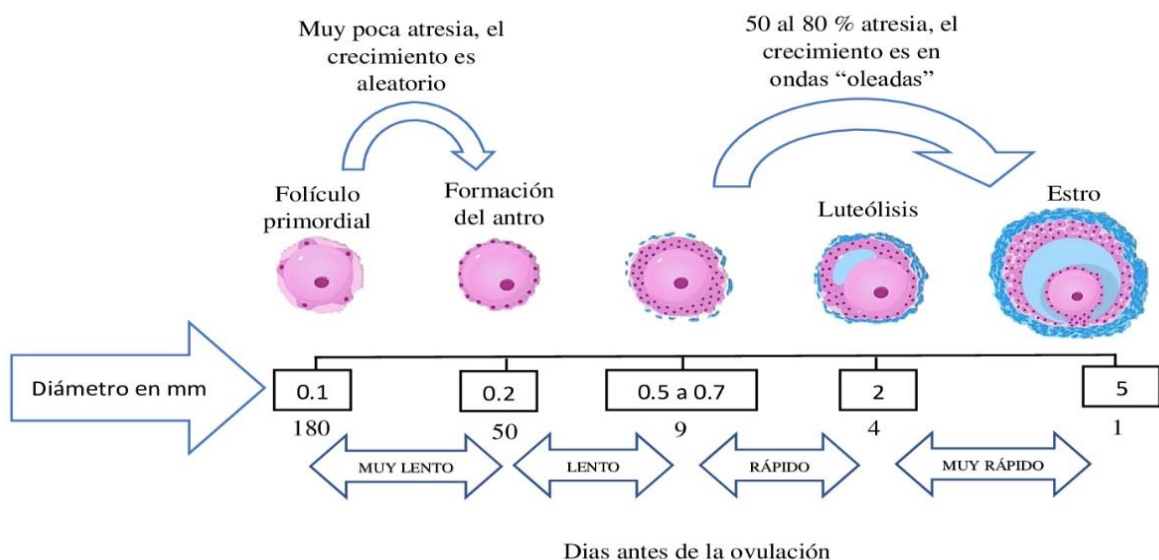


Figura 8. Esquematación del crecimiento y desarrollo folicular a lo largo del tiempo antes de ovular. (Fuente: Adaptado de Downing y Scaramuzzi, 1991).

Un folículo primordial lo conforma un ovocito de crecimiento estático hasta antes del nacimiento, se encuentra en fase del diploteno de la profase I de la meiosis, está rodeado de una sola capa de células escamosas de la pre granulosa (Nilsson y Skinner, 2001). Cuando un grupo de folículos salen de la reserva pasan de ser folículos primordiales a ser folículos primarios en transición; las células escamosas que lo rodeaban se transforman en células cuboideas de granulosa y empiezan a proliferar (Hirshfield, 1991). Los folículos secundarios contienen varias capas de células de la granulosa que comienzan a secretar el líquido que formará el antro folicular y a su vez un mucopolisacárido que formará la zona prelucida que protege al ovocito; además se rodea por células de la teca (Filipiak *et al.* 2016). El folículo antral se caracteriza por la formación total del antro, gran proliferación de células de granulosa y formación de la teca interna y externa (Filipiak *et al.* 2016).

2.2.1.1 Dinámica folicular

La dinámica folicular es el proceso de crecimiento y regresión folicular para el desarrollo del folículo ovulatorio, este es continuo e independiente de la fase del ciclo estral, el cual se lleva a cabo desde su estado primordial (100 μ m) hasta su ovulación (>5 mm) o mayormente a sufrir atresia; se lleva a cabo en dos fases anterior y posterior a la formación del antro (Uribe-Velásquez *et al.* 2009).

El desarrollo folicular ovárico durante un ciclo estral sigue un patrón de oleadas foliculares, donde en cada una se encuentran implicados tres eventos fisiológicos: reclutamiento, selección y dominancia. Para que se lleve a cabo el proceso existen relaciones endocrinas, parácrinas y autócrinas dentro del ovario y un intercambio endocrino entre ovarios e hipófisis (Espinoza-Villavicencio *et al.* 2007). Cada oleada se caracteriza por el crecimiento de un *pool* de folículos, de los cuales existirá uno que siga creciendo (dominante) y otros que sufrirán atresia por inhibición de su desarrollo (subordinados); se han reportado de 2 a 4 oleadas foliculares durante un ciclo estral (Uribe-Velásquez *et al.* 2009). La aparición de ondas foliculares en ovinos durante el ciclo estral se muestra en la Figura 9, la cual es controlada por cambios en la concentración circulante de hormonas (Bartlewski *et al.* 2011).

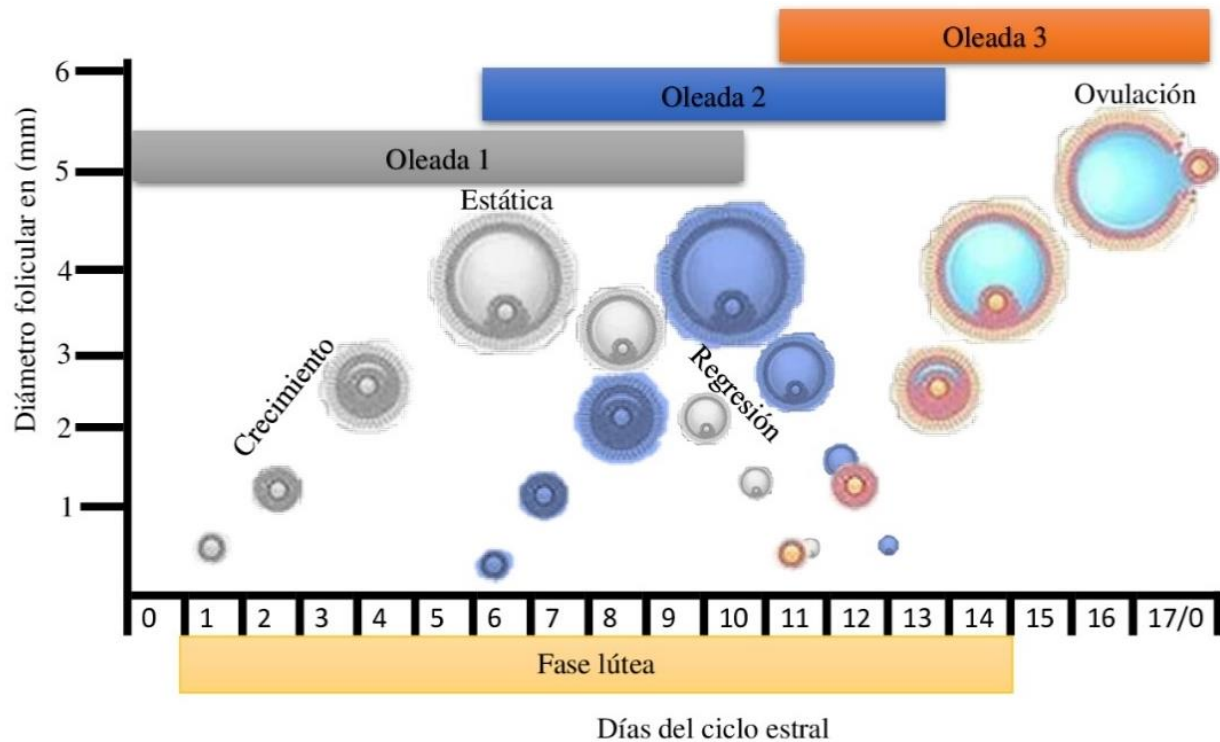


Figura 9. Desarrollo folicular ovárico durante un ciclo estral en ovinos (Fuente: Adaptado de Bartlewski *et al.* 2011).

El reclutamiento folicular se refiere a un grupo de folículos sensibles a gonadotropinas de los cuales un folículo es seleccionado para continuar con su crecimiento y convertirse en dominante, este se encarga de promover la atresia en los demás folículos de la misma cohorte; dependiendo si el CL del ciclo estral presente retrocede o no, el folículo dominante se vuelve atrésico o es ovulado (Viñoles, 2003). Sólo folículos mayores a 2 mm podrán ser reclutados (Uribe-Velásquez *et al.* 2009).

Durante la selección el incremento de FSH hace que el grupo de folículos que responden a gonadotropinas se vuelvan dependientes de estas hormonas; además, el mismo grupo de folículos secretan inhibina para reducir la concentración de FSH, lo cual ayuda con la selección del folículo dominante. La LH le confiere la capacidad al folículo seleccionado para seguir desarrollándose, incrementando la secreción de estradiol, androstenediona e inhibina para alcanzar su tamaño máximo (Viñoles, 2003).

La dominancia en ovinos es un tema discutido debido a que algunas razas pueden ovular más de un ovocito; los folículos ovulatorios se pueden desarrollar del grupo de folículos de la última onda folicular o de la penúltima; el folículo dominante y el mayor subordinado pueden

alcanzar diámetros de 5 a 7 y de 3 a 5 mm (Uribe-Velásquez *et al.* 2009). El proceso que sigue la dinámica folicular se muestra en la Figura 10.

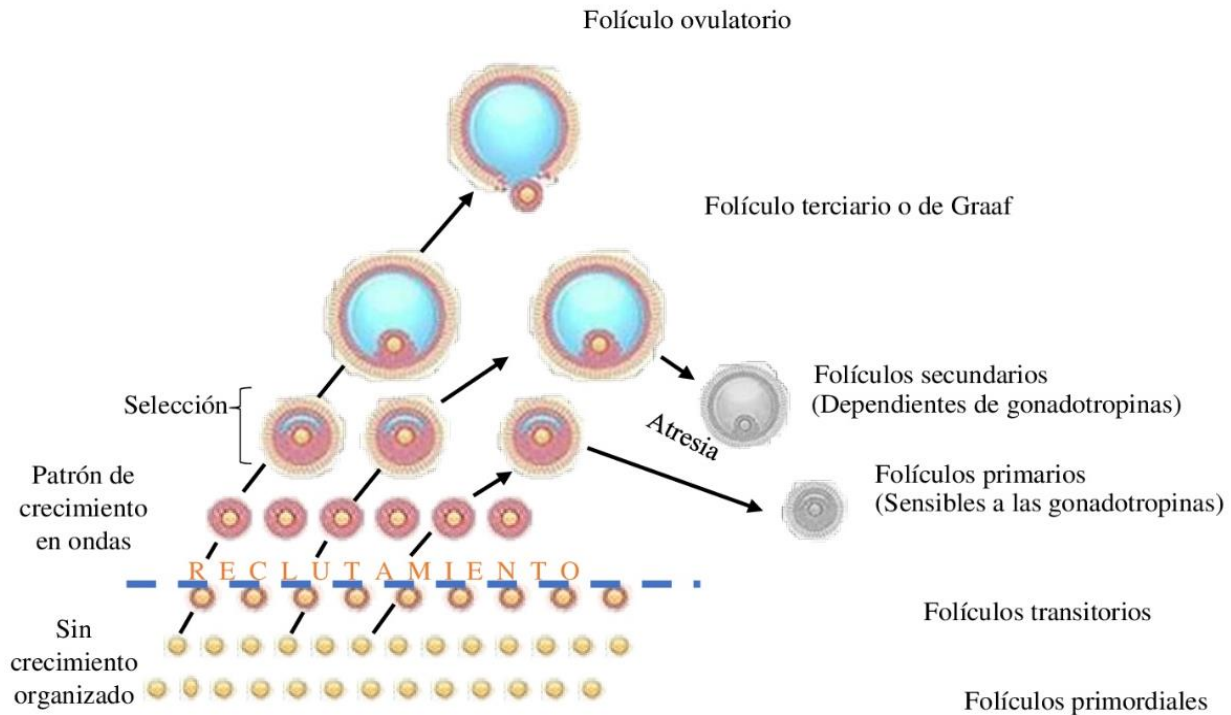


Figura 10. Ejemplo del desarrollo de una oleada folicular (Fuente: Adaptado de Scaramuzzi *et al.* 1993, según Viñoles, 2003).

2.2.1.2 Ovulación

La ovulación es un proceso biológico por el cual un oocito maduro y las células somáticas que lo rodean son liberados de la superficie ovárica hacia el infundíbulo para su posterior fertilización (Richards *et al.* 2008). Durante el estro la hembra es receptiva al macho; al inicio de esta fase aparece un pico en la concentración sérica de E_2 , la cual generará la descarga preovulatoria de LH ocasionando la ovulación (Atuesta y Gonella, 2011).

Existe influencia ambiental y de los tratamientos hormonales sobre el pico preovulatorio de LH y la ovulación; los tratamientos con progestágenos no modifican significativamente el tiempo de ovulación; sin embargo, la aplicación de PMSG provoca un inicio más temprano de la presentación del estro (30 h después de su aplicación) y esto acelera el pico preovulatorio de LH a las 45.4 h; estados fisiológicos como la lactancia retrasan el pico de LH, mientras que la presencia permanente del macho acelera el pico de LH de 6 a 8 h (Signoret y Cognie, 1975). Incrementos en

la concentración de P₄ sérica al final del diestro pueden disminuir la incidencia de ovulaciones de la penúltima ola del ciclo estral en ovejas de prolificidad alta, pero reduce las ovulaciones de ovejas moderadamente prolíficas (Bartlewski *et al.* 2017).

El mecanismo de la foliculogénesis que se genera de manera endocrina entre el sistema nervioso central y el ovario, así como los reguladores parácrinos intraováricos son bien conocidos; sin embargo, existe influencia de mecanismos genéticos que controlan el número de folículos que ovulan en cada ciclo como los genes de fecundidad del Sistema Proteína Morfogénica Ósea (BMP) (Fabre *et al.* 2006). Estudios recientes tratan de dilucidar diferentes mecanismos genéticos para modificar el tamaño de la camada en diferentes razas de ovejas, encontrando vías relacionadas con: secreción de hormonas (FSH y LH), placenta y letalidad embrionaria, foliculogénesis, señalización de LH, ovulación y maduración folicular preovulatoria, estrógeno y crecimiento folicular (Xu *et al.* 2018).

2.2.2 Cuerpo lúteo

El CL es una glándula endocrina transitoria que se forma a partir de la liberación del ovocito cuando este es liberado del folículo ovulatorio; su principal función es la de producir P₄ con el fin de establecer y mantener la preñez (Olivera-Angel *et al.* 2007; Bravo-Benítez *et al.* 2021), además de regular la ciclicidad (Uribe-Velásquez *et al.* 2011a).

Pokharel *et al.* (2020) realizaron el transcriptoma de ARNm total del CL durante el periodo de implantación de la gestación y encontraron la expresión de 21, 287 genes, de los cuales se encontró que durante la gestación temprana algunos genes son activados en el CL para incrementar la fertilidad como la tiorredoxina tipo 1 (TXNL1) asociado a la diapausa embrionaria, y Lectinas de tipo inmunoglobulina que se unen al ácido siálico (SIGLECS) que se expresan en células inmunitarias ayudando con la preimplantación embrionaria; además, la síntesis de P₄ parece tener una elevada expresión de genes en el CL, como la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR) para el transporte de colesterol libre, el gen de la familia Cytochrome P450 Subfamilia un miembro 1 (CYP11A1) que actúa en la escisión de la cadena lateral de colesterol y el gen codificante para 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa/ Δ -5-4 isomerasa (HSD3B1) para convertir pregnenolona a P₄; existe influencia por parte de factores externos en la expresión de genes con

importancia para la fertilidad, como la raza (razas prolíficas, no prolíficas y sus cruza), la dieta (flushing), clima y factores estresantes.

La presencia del CL en el ovario tiene un efecto positivo sobre la población folicular mostrando mayor número de folículos medianos y grandes (Ali y Derar, 2021). La P₄ desempeña varias funciones dentro de la actividad reproductiva de hembras mamíferas como: estimulación del folículo dominante, luteinización de las células de la granulosa, promueve la competencia de los ovocitos, establece la receptividad uterina y mantiene la gestación (Fair y Lonergan, 2012). No obstante, Almeeni *et al.* (2020) encontraron un efecto negativo sobre la presencia de CL en ovarios ovinos al recolectar ovocitos, ya que disminuyó la cantidad y calidad de estos; sin embargo, el porcentaje de maduración *in vitro* fue la misma al presentar o no CL. Rubianes *et al.* (1996) reportan que durante la primera oleada folicular el incremento de P₄ de manera exógena afecta el crecimiento del folículo dominante. Abreu *et al.* (2018) reportaron concentraciones altas y bajas de P₄ en vacas primíparas, y encontraron un aumento en la frecuencia de pulsos de LH y concentración de E₂; sin embargo, esto no afectó la competencia del desarrollo de ovocitos.

La sincronización con progestágenos en el sexto día del ciclo estral en ovejas suprime el tamaño del folículo más grande de la oleada folicular durante el periodo del tratamiento (12 d), lo cual altera el pico de LH y la ovulación después de retirada la esponja; este efecto es más pronunciado que cuando se inserta el dispositivo en los días 0 y 12, ya que existe un aporte de P₄ mayor al tener ambas fuentes de P₄ endógena y exógena (Leyva *et al.* 1998).

Graña-Baumgartner *et al.* (2020) describen un efecto local del CL ipsilateral a la ovulación sobre el oviducto y cuerno uterino donde se transfirieron embriones, donde el CL actúa de manera positiva, ya que encontraron que existe una mayor cantidad de embriones viables dentro de los primeros 6 d después de la fertilización, así como concentraciones de P₄ cinco veces mayores y concentración de E₂ más bajas, mayor concentración de adiponectina, favoreciendo la decidualización endometrial, así como diferencia en la expresión de genes codificantes para factores de crecimiento.

El tratamiento con GnRH y hCG en el día 4 post inseminación ayuda a generar cuerpos lúteos accesorios; sin embargo, sólo la hCG logra incrementar la concentración de P₄ sérica como tratamiento para soporte de la gestación (Fernandez *et al.* 2018).

2.2.2.1 Luteinización

Poco antes de la ovulación el ovocito continúa con su proceso de meiosis y se luteinizan las células foliculares, comienza la diferenciación de células lúteas grandes (LLC) a partir de las células de granulosa y células lúteas pequeñas (SLC) a partir de las células de la teca (Rosales y Guzmán, 2008). Se denomina luteinización a la diferenciación de las células de granulosa cuando adquieren la capacidad de producir P₄ a partir de colesterol y pierden la capacidad de producir estradiol por la inhibición de la síntesis de enzima aromatasa (Olivera-Angel *et al.* 2007). Las SLC son principalmente esteroideogénicas mientras que las LLC además secretan péptidos reguladores (Sangha *et al.* 2002). La rápida formación del CL se debe a que durante la luteinización las SLC sufren hiperplasia y miden cerca de 12 a 20 µm; estas contienen receptores para LH o AMPc para incrementar la síntesis de P₄; mientras que las LLC sufren hipertrofia son de un tamaño > a 20 µm pero aunque tienen receptores para LH no responden a esta para sintetizar P₄ sino que responden a GH, estas son responsables del 80 % de la producción de P₄ (Schams y Berisha, 2004; Robinson *et al.* 2009; Uribe-Velásquez *et al.* 2011a).

El proceso angiogénico surge a partir del folículo de Graff. La membrana basal del folículo impide la entrada de los vasos sanguíneos; pero después de la ovulación, células de la teca y vasos sanguíneos se sitúan hacia dentro en el área de la granulosa: sangre y plasma forman un coágulo rico en fibrina (Bravo-Benítez *et al.* 2021).

La función lútea está controlada por diferentes factores luteotróficos, entre ellos gonadotropinas (principalmente la LH) y hormona del crecimiento (GH); en menor medida PGF_{2α} y estrógenos (Uribe-Velásquez *et al.* 2011a). Los receptores de FSH (FSHR) se expresan en folículos ováricos pero también en el CL en células esteroideogénicas y no esteroideogénicas en diferentes etapas de vida lútea; aunque la función de estos receptores no es clara durante la fase lútea, el tratamiento *in vivo* con FSH mejoró la expresión de este receptor y ARNm en tejidos lúteos dependiendo de la fase lútea en la que se encuentre y de la dieta que reciba la oveja, lo cual indica un papel regulador de FSH en la función lútea (Grazul-Bilska *et al.* 2020).

El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF- α) producido en células lúteas tempranas actúa de forma parácrina para promover la angiogénesis; de manera local, factores de crecimiento similares a la insulina (IGF -1, -2) en sinergia con la LH, promueven la producción de

los VEGF- α (Bravo-Benítez *et al.* 2021); así como los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF -1, -2) desempeñan un papel sobre el control luteal (Uribe-Velásquez *et al.* 2011a).

2.2.2.2 Luteólisis

En el proceso de luteólisis se distinguen dos fases: la funcional por la pérdida de la capacidad de producir P₄, y la estructural por la pérdida de integridad celular (Olivera-Angel *et al.* 2007; Uribe-Velásquez *et al.* 2011a). La luteólisis es inducida principalmente por la PGF_{2 α} y en segundo plano se encuentran rutas que actúan de manera simultánea mediadas por calcio, citoquinas, especies reactivas de oxígeno y endotelinas (Olivera-Angel *et al.* 2007). Hernández-Cerón y Zarco (1998) mencionan que para que la luteólisis se realice adecuadamente se necesita de una correcta función de retroalimentación positiva en las hormonas que intervienen (estradiol, oxitocina, PGF_{2 α}); es fundamental el patrón frecuencia, amplitud y concentración de PGF_{2 α} ; además, para que se desencadene luteólisis en condiciones naturales tienen que pasar al menos 10 d de exposición a P₄, momento en el que sufre refractoriedad debido al agotamiento de los receptores en útero.

La apoptosis o muerte programada de células lúteas sigue varias vías de señalización en respuesta a la hormona PGF_{2 α} , la cual se conoce que desencadena muerte celular principalmente por acción vasoconstrictora disminuyendo el paso de nutrientes, oxígeno y colesterol que conllevarán a una disminución funcional; sin embargo, esta hormona incrementa la expresión de factores proapoptóticos como Bax, permite la expresión de p53 e incrementa actividad de caspasas iniciadoras (caspasa 8 y 9) y efectora (caspasa 3), así como expresión de receptores de muerte como el factor de necrosis tumoral (RTNF- α), Fas L e interferón γ (IFN- γ) (Rosales y Guzmán, 2008).

La principal característica de la apoptosis es eliminar células sin inducir una respuesta inflamatoria local que pueda dañar células adyacentes; las características de una célula apoptótica son pérdida de volumen celular y picnosis; sin embargo, muchos organelos se mantienen intactos hasta el final de la muerte celular. Existen mecanismos de autodestrucción: los llamados “genes de muerte” (p53, c-myc, bax, bcl-x short, c-fos y bad). No obstante, otras vías son anti apoptóticas, como la secreción de P₄; pero si disminuye se activan los procesos apoptóticos. La interacción célula-célula también regula la apoptosis, debido a que esta se asocia con la pérdida de sitios de

adhesión; ahí cumplen un papel fundamental las moléculas de adhesión celular (CAM), integrinas, inmunoglobulinas, selectinas, y cadherinas (Rolaki *et al.* 2005).

La integridad estructural y funcional del CL está determinada por diversos tipos de células que contribuyen y responden a la acción de citoquinas. El ligando de quimiocinas (CXCL12) y su receptor (CXCR4) son moduladores de la inflamación y la supervivencia celular en CL, ya que la expresión de estas aumenta conforme avanza la gestación y podría ser que estas células estén relacionadas con el establecimiento y supervivencia del CL (McIntosh *et al.* 2022).

Las células inmunes desempeñan un papel importante durante la luteólisis: los macrófagos y linfocitos T son células que ayudan con la ingestión de restos celulares resultantes de la muerte de células lúteas; además, los macrófagos pueden regular la proliferación, diferenciación y apoptosis celular durante la foliculogénesis, restructuración del tejido en la ovulación y formación del CL, desempeñando un papel en la esteroidogénesis, vascularización y remodelación del tejido (Uribe-Velásquez *et al.* 2011a).

La mifepristona (RU486) es un agente luteolítico, al igual que la $PGF_{2\alpha}$; ambas activan la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2) en el CL ovino para disminuir la síntesis de P_4 . Se sabe que el útero no es el único órgano que sintetiza $PGF_{2\alpha}$, el CL también lo hace; sin embargo, no se ha esclarecido cual es la vía que sigue la P_4 para proteger al CL de su autodestrucción a mitad del ciclo (Smallman *et al.* 2021).

La oxitocina es un nonapéptido hormonal liberado de las células magnocelulares de los núcleos paraventricular y supraóptico del hipotálamo, la cual es transportada y liberada desde la neurohipófisis hacia el sistema circulatorio; tiene acción sobre el control de la ciclicidad estral y esteroidogénesis ovárica: su función y regulación depende de esteroides y mecanismos genómicos (Gimpl y Fahrenholz, 2001). La expresión del gen oxitocina neurofisina I (OXT-NPI) en las ovejas se encuentra regulado principalmente por el cuerpo lúteo (Ivell *et al.* 1990).

La oxitocina (OXT) desempeña un papel sobre el patrón de liberación de $PGF_{2\alpha}$ para generar luteólisis sólo al final del ciclo estral después de 7 a 10 d de exposición a P_4 ; el estradiol del folículo ovulatorio del nuevo ciclo genera la secreción de $PGF_{2\alpha}$ y activa los receptores de OXT en el endometrio provocando la liberación de más $PGF_{2\alpha}$. La OXT se comporta de manera

sinérgica con $\text{PGF}_{2\alpha}$ generando un pulso simultáneo de estas dos hormonas durante la luteólisis; la administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$ puede estimular la secreción de OXT luteínica (Crowe, 2022).

2.3 Fisiología reproductiva de la oveja

2.3.1 Estacionalidad reproductiva

La estacionalidad reproductiva en los mamíferos es un mecanismo de adaptación como estrategia para minimizar el impacto ambiental y que las crías puedan sobrevivir en temporadas donde la temperatura, humedad y alimento sean idóneas (Malpaux *et al.* 1996).

El ciclo reproductivo anual de la oveja es regulado por la amplitud del fotoperiodo (Arroyo, 2011). La captación de luz a través del ojo en la retina se transforma en una señal eléctrica que es enviada hacia el hipotálamo; la señal llega al núcleo supraquiasmático y este transfiere la señal al núcleo paraventricular para llegar al cerebro posterior al ganglio cervical superior, donde la señal eléctrica se transforma en señal química (noradrenalina). La noradrenalina es captada por sus receptores α y β adrenérgicos de los pinealocitos y se sintetiza N-acetil-transferasa, enzima necesaria para la síntesis de melatonina a partir del aminoácido triptófano (Arendt, 1998). Este proceso se activa al disminuir la cantidad de horas luz a través del día (Arroyo *et al.* 2006). Factores como la raza y la ubicación geográfica influyen sobre la actividad reproductiva estacional, siendo así, hembras de origen septentrional en México y aquellas que se desarrollaron en latitudes mayores a 35° mostrarán estacionalidad reproductiva (Arroyo, 2011).

Durante el anestro estacional el patrón de secreción de melatonina aumenta la sensibilidad del hipotálamo a la concentración de E_2 inhibiendo así la secreción de GnRH; este efecto se lleva a cabo en el núcleo A15 dopaminérgico del área retroquiasmática lateral del hipotálamo, a través del sistema dopaminérgico como intermediario entre E_2 y GnRH (Arroyo *et al.* 2006).

Las feromonas estimulan el comportamiento socio sexual de procesos reproductivos. La interacción macho-hembra en ovejas incrementa la pulsatilidad de LH en ambos sexos, influyendo sobre la endocrinología; en la hembra incluso la lesión del órgano vomeronasal permite la estimulación, confirmando la acción de otras señales sensoriales (Signoret, 1991). Por lo que pareciera que las señales sociales en épocas específicas del año (transición) son de interés para inducir la actividad reproductiva (Arroyo, 2011).

La kisspeptina es un neuropéptido codificado por el gen *Kiss1* expresado en neuronas del hipotálamo, específicamente en el área preóptica y núcleo arcuato; estas últimas se encargan de estimular la secreción de GnRH en ovejas. La kisspeptina es el principal vínculo entre los esteroides gonadales y las neuronas que sintetizan GnRH; la kisspeptina es capaz de activar el eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal en periodo no reproductivo (Caraty *et al.* 2010). Además, se ha descubierto la secreción de hormona del crecimiento (GH) por parte de Kisspeptina en ovejas en ayuno corto, esto regulado a través del neuropéptido Y (NPY) y somatostatina, siempre y cuando se encuentre presente también grelina, proponiendo que el eje reproductivo responde a niveles cambiantes de señales metabólicas con el fin de no interrumpir procesos reproductivos como la ovulación o gestación (Foradori *et al.* 2017).

Por otro lado, la hormona Inhibidora de Gonadotropinas (GnIH) ejerce un efecto supresor sobre la síntesis y secreción de GnRH a través de las neuronas de GnRH y en la hipófisis donde tiene sus receptores; además, GnIH inhibe también el comportamiento reproductivo; su activación está mediada de manera neuroendocrina pero también se encuentra regulada por factores ambientales (fotoperiodo, estrés, interacción social, temperatura) e internos (melatonina, glucocorticoides) (Tsutsui *et al.* 2022).

Las neuronas del núcleo arcuato expresan kisspeptina, neuroquinina B (NKB) y dinorfina (KNDy), un péptido opioide endógeno. Las neuronas KNDy controlan la retroalimentación positiva y negativa de esteroides durante la secreción pulsátil de GnRH y LH, y actúan probablemente mediante remodelación de entradas glutamatérgicas sobre la retroalimentación positiva de estradiol para generar el pico preovulatorio de GnRH/LH (Porter *et al.* 2021).

Existen factores nutricionales que regulan la reproducción en ovinos, por lo que una nutrición inadecuada puede prolongar el anestro estacional (Arroyo, 2011). Algunos metabolitos que regulan la secreción de GnRH son: glucosa, ácidos grasos volátiles, aminoácidos y ácidos grasos no esterificados; y reguladores endócrinos: IGF-I, GH, colesistoquinina (CCK), NPY, los péptidos opioides endógenos (POEs) y su relación con la insulina (Keisler y Luci, 1996), además de la leptina, un péptido relacionado con el tejido adiposo capaz de modificar el apetito y la secreción de GnRH (Blache *et al.* 2000).

2.3.2 Eje Hipotálamo-hipófisis-gonadal

La regulación de la actividad sexual se realiza en el organismo por el sistema hipotálamo-hipófisis-ovárico (Echeverría, 2006), a través de las interacciones entre FSH, LH, P₄ y E₂ (Franco y Uribe-Velázquez, 2012). La P₄ es la encargada de regular los ciclos estrales durante el periodo reproductivo; la P₄ disminuye la secreción de GnRH a nivel del área preóptica (POA) del hipotálamo, ejerciendo este efecto de manera indirecta posiblemente por acción del ácido gamma amino butírico (GABA) (Arroyo *et al.* 2006) y los POEs que se sintetizan en el núcleo A12 (Arroyo *et al.* 2009). Durante la fase folicular, el E₂ ejerce su efecto a nivel del núcleo ventromedial del hipotálamo medio basal para incrementar la secreción de GnRH y LH provocando la conducta estral y la ovulación (Arroyo *et al.* 2006).

2.3.3 Ciclo estral

El ciclo estral se define como el intervalo entre dos estros; se caracteriza por importantes cambios morfológicos y de comportamiento, interconectados a una dinámica neuroendocrina. Desde el punto de vista biológico, el ciclo estral permite la foliculogénesis, la ovulación, la formación del CL y posible fecundación (Bearden y Fuquay, 1982).

Las ovejas son poliéstricas estacionales con ovulación espontánea; su ciclo estral es regulado por una retroalimentación hormonal producida por el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, el cual tiene una duración promedio de 16 a 17 d (Bazer, 2020). El día 0 se considera como el día de receptividad sexual e inicio del ciclo estral, el cual tiene una duración promedio de 30 h (Bazer, 2020). Se distinguen dos fases en función de las hormonas que predominan: la fase lútea que comprende el metaestro y diestro donde la P₄ alcanza valores $\geq 1 \text{ ng mL}^{-1}$, la que será sintetizada y secretada por un CL maduro funcional; la fase folicular la comprende el proestro y el estro donde la concentración de P₄ alcanza niveles basales y la síntesis de E₂ por parte de las células de granulosa aumenta la concentración basal (Arroyo, 2011).

Las fases del ciclo estral son: proestro, estro, metaestro y diestro. Como ya se mencionó, el ciclo sexual se puede dividir en dos fases: la fase folicular con una duración de 3-4 días promedio, y la fase luteínica que dura 13 días (Figura 11) (Evans *et al.* 1997).

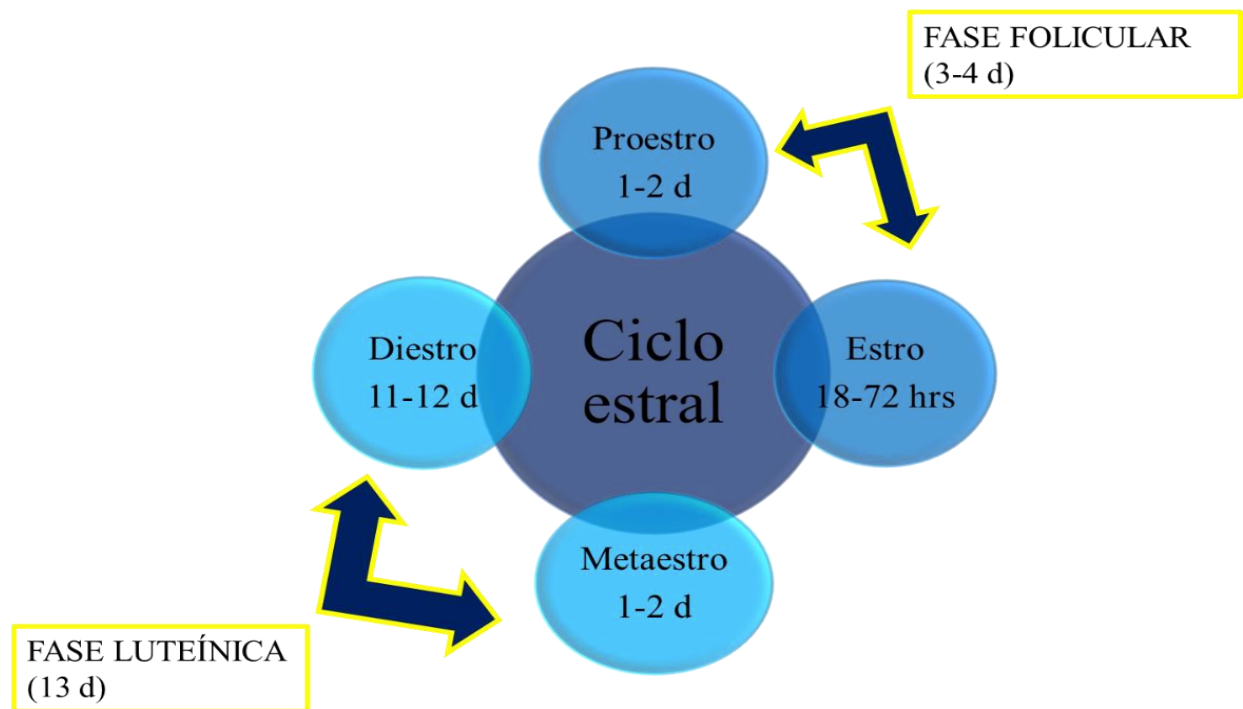


Figura 11. Descripción del ciclo estral de la oveja.

El estro dura alrededor de 30 h en las ovejas; es designado como el día 0, que corresponde al día de inicio de la receptividad sexual para el apareamiento, e inicio del ciclo estral (Bazer, 2020). La disminución de P_4 permite que el folículo ovulatorio en crecimiento secreta E_2 , provocando cambios conductuales, en ovejas la aceptación del apareamiento es el signo más fácilmente notorio del estro (Atuesta y Gonella, 2011). En esta especie, la ovulación ocurre generalmente 24 horas después de la liberación preovulatoria de gonadotropinas, con rango de variación de 21 a 31 horas de iniciado el estro (Murdoch, 1985).

Durante el metaestro se lleva a cabo la luteinización de las células de la granulosa y de la teca para formar el CL, este proceso comienza en el folículo ovulatorio desde antes de la ovulación con el incremento de las gonadotropinas, siendo el pico de LH el que genere la ovulación y e inicie el proceso de luteinización, lo que provoca cambios morfológicos, endocrinos y enzimáticos (Hernández-Cerón y Zarco, 1998; Atuesta y Gonella, 2011).

El diestro se caracteriza como un periodo del ciclo donde el cuerpo lúteo es totalmente funcional (Bearden y Fuquay, 1982). En la oveja esta fase dura de 12 a 14 días; si no se encuentran embriones viables el CL regresa rápidamente bajo la influencia de prostaglandinas ($PGF_{2\alpha}$), y la oveja reinicia su ciclo (Bazer, 2020).

Durante el proestro, al desaparecer el CL en los siguientes dos a tres días, hay una disminución en la concentración de P₄, lo que permite que se eleve la secreción de gonadotropinas aumentando la síntesis y secreción de estrógenos, que a su vez actúa sobre el eje hipotálamo hipofisiario y estimula la descarga preovulatoria de gonadotropinas, la cual desencadena el nuevo proceso ovulatorio (Murdoch, 1985).

2.4 Endocrinología de la reproducción

2.4.1 Principales hormonas que intervienen en la reproducción

Las principales hormonas involucradas en este proceso son: la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), la hormona luteinizante (LH), la hormona folículo estimulante (FSH), el estradiol 17 β (E₂), la progesterona (P₄) y las prostaglandinas F_{2 α} (PGF_{2 α}) (Baird et al. 1976).

De acuerdo con su estructura química, las hormonas pueden clasificarse en: esteroides, derivados de aminoácidos, proteínas, polipéptidos, glicoproteínas y derivados de ácidos grasos (Squires, 2003). El origen glandular es otra clasificación para las hormonas que intervienen en la reproducción: hormonas hipotalámicas, hormonas pituitarias, hormonas gonadales (Senger, 2003). Si se toma en cuenta el criterio funcional, se les considera: glandulares, neurosecretoras, tróficas, tisulares o sustancias mediadoras (Echeverría, 2006).

2.4.1.1 Hormona Liberadora de Gonadotropinas

Es considerado el neuropéptido más importante en la reproducción; es un decapeptido con peso molecular de 1, 183 dáltones (Da). Su principal función es provocar la liberación de FSH y LH del lóbulo anterior de la hipófisis (Lozano-González *et al.* 2012).

Se segrega en el hipotálamo y se transporta por el sistema portal hipofisiario, lo cual es esencial para la secreción de LH en la glándula pituitaria, describiéndose que la secreción pulsátil de GnRH coincide con la secreción pulsátil de LH (Skinner *et al.* 1995). La elevación de GnRH termina mucho tiempo después que la de LH (Evans *et al.* 1997).

El principal detonador de la activación del sistema neurosecretor de GnRH está a cargo de una elevación preovulatoria de E₂ que provoca un aumento en la secreción pulsátil y amplitud de GnRH (Caraty *et al.* 1989), mientras que la P₄ actúa de forma contraria disminuyendo el número

de pulsos y secreción de GnRH en la fase lútea (Arroyo *et al.* 2006). Sin embargo, las células secretoras de GnRH no contienen receptores para esteroides ováricos, por lo que al parecer el control de la secreción de pulsos de GnRH se realiza de manera indirecta y se sugiere la participación de neurotransmisores como dopamina, GABA y POEs como intermediarios en el mecanismo neurosecretor (Arroyo *et al.* 2006).

Actualmente se sabe que la señal básica para estimular los pulsos de GnRH es iniciada por una red de neuronas KNDy en el núcleo ARC que contienen kisspeptina, neuroquinina B y dinorfina; la neuroquinina B estimula la liberación de kisspeptina sobre las terminales secretoras de GnRH en la eminencia media; posteriormente las neuronas de dinorfina que expresan los receptores opioides kappa interrumpen la liberación de kisspeptina de las neuronas KNDy, finalizando la secreción pulsátil de GnRH (Naitana y Ledda, 2020).

2.4.1.2 Gonadotropinas

Son glicoproteínas producidas en el lóbulo anterior de la hipófisis; se componen de dos cadenas polipeptídicas que contienen carbohidratos en cada cadena, comparten la sub unidad α de la cadena mientras que la sub unidad β es específica de cada hormona para ejercer un efecto diferente (Recabarren, 2006). La sub unidad α la comprende una cadena de 92 AA mientras que la sub unidad β de FSH y LH la comprenden 111 y 121 AA respectivamente; esto le confiere la especificidad biológica a cada una. Ambas hormonas actúan sobre el ovario desempeñando una acción sobre la esteroidogénesis y gametogénesis (Kaiser, 2011).

La síntesis y secreción de ambas gonadotropinas se regulan al contrarrestar las entradas hipotalámicas estimulantes (GnRH) por medio de esteroides sexuales gonadales o por factores locales como activinas, inhibinas y folistatina (Beg y Ginther, 2006; Kaiser, 2011). Dependiendo de la variación en la frecuencia de pulsos de GnRH se activan diferentes cascadas de señalización y mecanismos transcripcionales para la síntesis de FSH o LH (Stamatiades y Kaiser, 2018).

La hormona folículo estimulante (FSH) tiene sus receptores en las células de la granulosa del folículo. Tiene como función estimular el crecimiento y la maduración del folículo ovárico (Oussaid *et al.* 1999). La secreción de E₂ esta mediada por las gonadotropinas: la presencia de LH en células de la teca producen testosterona, mientras que la FSH es la encargada de regular la síntesis de la enzima aromatasa en células de la granulosa para aromatizar la testosterona en E₂

(Habeeb y Anne Kutzler, 2021). Los niveles basales de FSH plasmáticos van de 1 a 2 ng/mL⁻¹ (Franco y Uribe-Velázquez, 2012); sin embargo, existen picos de entre 3 y 4 ng/mL⁻¹ que corresponden al inicio de una nueva onda folicular con una duración de 2 d (Duggavathi *et al.* 2005). Durante los estadios antrales, los folículos se vuelven dependientes de gonadotropinas (> 2 mm); la FSH es necesaria para la proliferación de células de granulosa y crecimiento folicular (Salveti *et al.* 2010).

La hormona luteinizante (LH) es una glucoproteína de 30 000 Da con una vida media de 30 minutos (Kochman y Gajewska, 1996). Cuando el folículo dominante adquiere un tamaño de 3 a 5 mm expresa receptores para LH en células de granulosa y teca, comienza la síntesis de inhibina y E₂ (Franco y Uribe-Velázquez, 2012). Las características de secreción de LH (concentración, amplitud y frecuencia) varían a lo largo del ciclo y son dependientes de P₄ (suprimen) y E₂ (estimulan) alterando la frecuencia de pulsos (Duggavathi *et al.* 2005). La ovulación es variable entre razas y se presenta después del pico de LH a las 14 h (Bartlewski *et al.* 2011). Según Franco y Uribe-Velázquez (2012) la concentración de LH durante la fase lútea va de 0.2 a 0.7 ng/mL⁻¹ y durante la fase folicular de 0.5 a 5 ng/mL⁻¹; la P₄ endógena o exógena puede disminuir la concentración plasmática de LH inhibiendo la ovulación y el cambio en la dinámica folicular provocando un quiste folicular (Salveti *et al.* 2010).

2.4.1.3 Progesterona

Es una hormona esteroidea derivada del colesterol, el cual es catalizado a pregnenolona mediante separación de la cadena lateral de colesterol, por el complejo enzimático citocromo P450 (P450_{scc}) localizado en el interior de la membrana de la mitocondria celular del folículo; posteriormente en el retículo endoplásmico liso es convertida a P₄ por la enzima 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa/Δ-5-4 isomerasa (3βHSD) (Payne y Hales, 2004). El neuropéptido orexina A parece tener un papel sobre la síntesis de P₄ al regular la expresión de StAR, 3βHSD y P450 (Li *et al.* 2019).

La P₄ es secretada por las células del CL, las glándulas adrenales y la placenta (Lozano-González *et al.* 2012; Bravo-Benítez *et al.* 2021). Cumple con varias funciones dentro de la actividad reproductiva: inhibe el comportamiento sexual al impedir la liberación de gonadotropinas, promueve el desarrollo del endometrio para la implantación, mantiene la

gestación y activa el desarrollo alveolar de la glándula mamaria (Baird *et al.* 1976). La P₄ y el interferón tau son los reguladores de la síntesis de proteínas endometriales de desarrollo e implantación de blastocistos (GlyCAM-1, galectina-15 y osteopontina) (Spencer *et al.* 2004). Algunos estudios recomiendan la administración de P₄ de manera exógena durante el periodo pre implantación para favorecer la concepción e implantación, al acelerar la proliferación de células trofoectodérmicas (Hoskins *et al.* 2021). Al final de la gestación, la disminución de P₄ es importante para que se lleve a cabo la lactogénesis y el nacimiento; esta disminución depende de varios factores como el tamaño de camada, pero el nivel de ingesta energético cumple una función importante (Banchero *et al.* 2015).

La P₄ puede ser sintetizada como neuroesteroide por las células gliales del cerebro a través de sus precursores circulantes; existe evidencia de que la P₄ y su metabolito alopregnanolona protege al cerebro de muerte celular causada por hipoxia por oclusión del cordón umbilical del feto durante el último trimestre de gestación; además, en roedores se ha descubierto que también promueve la mielinización durante el desarrollo fetal o la regeneración de mielina en el cerebro adulto (Schumacher *et al.* 2020).

La actividad lútea se confirma cuando se encuentran valores plasmáticos de P₄ por encima de 1 ng/mL⁻¹; a través del ciclo estral se pueden encontrar las siguientes concentraciones (ng/mL⁻¹): día 0-2: 0.5 a 1; día 3-5: 2 a 4; día 6-12: 5 a 7; día 13-16: 1 a 3; durante la gestación la concentración puede variar entre 5 y 15 ng/mL⁻¹ (Franco y Uribe-Velázquez, 2012).

2.4.1.4 Estradiol

Posteriormente a la producción de P₄, la unión de LH a sus receptores en células de la teca convierten la P₄ en andrógenos por medio de reacciones catalíticas, para que posteriormente estos andrógenos sean transformados en células de la granulosa y finalmente por medio de la enzima aromatasa (P450_{arom}) se transforme en estrona y E₂ (Payne y Hales, 2004).

Fortune y Quirk (1988) mencionan al folículo ovárico como el principal productor de estrógenos y que la presencia de las células de la teca y de la granulosa son necesarias para la producción folicular de 17β-estradiol. La secreción de estradiol se eleva después del descenso en la concentración de P₄ desencadenando el pico preovulatorio de LH y para posteriormente disminuir rápidamente a niveles basales (Goodman, 1994).

Durante la fase folicular las concentraciones de E_2 van de 5 a 7 pg/mL^{-1} con picos de 13 a 16 pg/mL^{-1} (Franco y Uribe-Velázquez, 2012). La característica principal del estro son estos incrementos en la concentración de E_2 que no solo actúa a nivel folicular con el desarrollo de células de granulosa, sino que también es importante para facilitar el transporte espermático, fertilización e implantación (Fatet *et al.* 2011).

2.4.1.5 Prostaglandinas

Los prostanoides son metabolitos resultantes del ácido araquidónico que siguen la ruta metabólica de las ciclooxigenasas. La prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) pertenece a este grupo y es de gran importancia para el control del ciclo estral ya que es la encargada de inducir luteólisis al final del diestro o la gestación; estructuralmente es un ácido graso insaturado compuesto por 20 átomos de carbono que contiene un anillo ciclopentano y dos cadenas laterales; su mecanismo de acción es a través de receptores de membrana que activan la proteína G específica y esto desencadena AMPc que provoca la liberación de Ca por medio de fosfatidil inositol; estas son rápidamente metabolizadas por pulmón e hígado (Echeverría, 2006).

La $\text{PGF}_{2\alpha}$ y análogos sintéticos son utilizados ampliamente en el control del ciclo estral. El análogo sintético de mayor uso es 16-amiloxiprostaglandina (ICI 80996, Cloprostenol) el cual es 100 veces más potente que $\text{PGF}_{2\alpha}$: se ha informado de dosis bajas de 50 μg son efectivas para inducir la luteólisis; sin embargo, se recomienda una dosis de 125 μg ; el ONO 1052 (Delprostenate) es otro análogo utilizado en la sincronización de estros de ovejas con dosis efectivas desde 35 μg ; el Dinoprost es una prostaglandina con dosis efectivas desde 10 mg; en cualquiera de los casos la respuesta a estro es mayor a si se realiza doble administración (Fierro *et al.* 2013).

Dosis altas de P_4 en cualquier día de la fase lútea se asocian a una reducción en la sensibilidad a dosis reducidas de cloprostenol (7.5 a 25 μg) y esto puede causar variabilidad en la respuesta a dosis reducidas de cloprostenol (Granados-Villarreal *et al.* 2017).

2.5 Manipulación del ciclo estral

Es importante recordar que el uso de hormonas no corrige la infertilidad causada por deficiencias alimentarias, por mal manejo o enfermedades sistémicas: el funcionamiento normal

del sistema reproductivo depende del estado nutricional, manejo y estructuras que interactúan en ese proceso (Echeverría, 2006).

Los protocolos de sincronización de estro son tecnologías reproductivas que se aplican en especies animales para controlar los partos, lograr destetes homogéneos, usar la mano de obra y las instalaciones eficientemente; además, facilitan la aplicación de otras tecnologías reproductivas, como inseminación artificial, programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones (Abecia *et al.* 2012).

Existen factores que influyen sobre la respuesta a la sincronización del estro: Se sabe la nutrición y la reproducción se encuentran estrechamente relacionados; es por ello, que algunas estrategias nutricionales como el “flushing” modifican las concentraciones séricas de hormonas metabólicas como insulina, leptina e IGF-I, que influyen sobre la concentración de hormonas reproductivas y generan cambios intraováricos relacionados con la foliculogénesis (Scaramuzzi *et al.* 2006; Viñoles *et al.* 2010). Por lo contrario, la desnutrición o estado corporal bajo pueden repercutir sobre la capacidad reproductiva de las ovejas, al disminuir la tasa de ovulación (Rae *et al.* 2002); o prolongar el anestro estacional (Arroyo, 2011). En la oveja el anestro posparto se genera por la presencia del cordero; lo cual, provoca el retraso de la actividad ovulatoria; este efecto es atribuido a la función de los POEs que actúan como intermediarios entre E₂ y la segregación de GnRH (Arroyo *et al.* 2009).

2.5.1 Control de la fase lútea

Debido a que el CL es la estructura que regula el ciclo estral, la sincronización del ciclo estral se logra con la imitación de la fase lútea del ciclo o lisis del CL (Abecia *et al.* 2012). Es frecuente el uso de dispositivos intravaginales que contienen P₄ natural o sus análogos, los cuales simulan la secreción de P₄ durante la fase lútea del ciclo reproductivo (Lozano-González *et al.* 2012). Al respecto, existe una tendencia de reducir el uso de progestágenos por el efecto negativo que genera en el ambiente y en el tejido animal. Entre las estrategias que favorecen la sincronización de estros disminuyendo ese efecto negativo destaca la aplicación de protocolos que incluyen prostaglandinas (Ávila-Castillo *et al.* 2019). Pero en hembras en anestro estacional la aplicación de PGF_{2α} no da resultado por falta de un cuerpo lúteo funcional (Beck *et al.* 1996).

2.5.2 CIDR- Dispositivo de liberación controlada de droga

El dispositivo CIDR inicialmente se construyó con un elastómero de silicona médica que se impregna con 0.3 g de P₄, moldeado sobre un núcleo de nailon (Wheaton *et al.* 1993); la concentración sérica de P₄ incrementa rápidamente después de su inserción, logrando un pico dentro de las dos primeras horas (Ainsworth y Downey, 1986); y permite generar la mayor concentración sérica de P₄ después de 3 d de su inserto, a partir del cual la concentración sérica disminuye gradualmente (Wheaton *et al.* 1993).

En la actualidad los dispositivos CIDR se encuentran elaborados de un copolímero de acetato de vinilo de polietileno (de Graaff y Grimard, 2018), que contiene partículas sólidas de P₄, distribuidas de manera homogénea y dispersas (Rathbone *et al.* 2002), aplicadas sobre una capa delgada de la columna del polímero (Rathbone *et al.* 1997); la liberación de P₄ por parte del dispositivo implica la disolución de la P₄ sólida en el polímero, y es secretada por difusión a través del polímero hasta llegar al fluido vaginal, posteriormente a la vagina, hasta llegar a la circulación sanguínea del animal (de Graaff y Grimard, 2018), donde terminará uniéndose a sus receptores.

2.5.3 Protocolos de sincronización convencionales vs cortos

Durante las décadas de 1970 y 1980 comenzó la sincronización de estros por medio de dispositivos intravaginales con P₄ (Gonzalez-Bulnes *et al.* 2020). Desde entonces casi todos los protocolos para inducción y sincronización de estro se basaron en la inserción de progestágenos durante 12 a 14 d seguidos de la inyección de eCG (Abecia *et al.* 2012). Actualmente con los nuevos conocimientos se reconsidera la aplicación de tratamientos convencionales basados en esponjas intravaginales que contienen progestágenos, ya que se han reportado incidencia de vaginitis y descargas vaginales fétidas, purulentas o hemorrágicas lo cual compromete la fertilidad, en comparación del uso de dispositivos CIDR, donde no sucede esto (Martinez-Ros *et al.* 2018b).

Algunos informes reportaron fertilidad baja después del tratamiento con progestágenos, atribuida a la deficiencia en transporte y supervivencia de espermatozoides, alteraciones en patrones de LH y alteraciones en la calidad del CL; los bajos niveles de secreción de LH durante los tratamientos, son atribuidos a periodos de sincronización convencionales, donde al final del periodo del tratamiento, los dispositivos liberan cantidades bajas de P₄ y no permiten suprimir por completo la secreción de LH, afectando la calidad de los folículos grandes (Gonzalez-Bulnes *et al.*

2020), obteniendo como consecuencia folículos grandes persistentes con ovocitos envejecidos (Viñoles *et al.* 1999).

Como se mencionó anteriormente, en la actualidad modificar los protocolos de sincronización es posible para mejorar la eficiencia, considerar la salud y bienestar animal, seguridad alimentaria e impacto ambiental que genere la aplicación de estos tratamientos (Gonzalez-Bulnes *et al.* 2020). Los protocolos cortos tienen una duración de 5 a 7 días y se prefiere el uso de dispositivos CIDR (Menchaca *et al.* 2018), que por su cinética de liberación aporta concentraciones altas de P₄ inmediatamente después de su inserción (Gonzalez-Bulnes *et al.* 2020). Las altas concentraciones de P₄ promueven el rápido recambio folicular al reducir la concentración de LH, obteniendo un nuevo folículo preovulatorio de 5 a 7 d después de la inserción del CIDR (Menchaca y Rubianes, 2004). La única limitante es que estos protocolos, al ser más cortos que la vida media de un CL, se tiene que eliminar la posible existencia de un CL con una dosis de PGF_{2α} al retiro del dispositivo (Martinez-Ros *et al.* 2018a).

Los protocolos a corto plazo son igual de efectivos para inducir el celo, la ovulación y CL funcionales (Martinez-Ros *et al.* 2018c) y sólo el inicio de estro puede ser menor (Balan-May *et al.* 2021). La fertilidad suele ser similar o incluso superior (Menchaca *et al.* 2018).

Los protocolos implementados a corto plazo con CIDR o esponjas son igual de efectivos para inducir la ovulación (Martinez-Ros *et al.* 2019); los tratamientos cortos muestran mayor tasa de gestación cuando se sincroniza con dispositivos CIDR en programas de inseminación, incluso es factible reutilizar el dispositivo por 6 d más (dos Santos-Neto *et al.* 2015).

III.JUSTIFICACIÓN

La aplicación de biotecnologías reproductivas como los protocolos de sincronización permiten mejorar la respuesta a las variables reproductivas; sin embargo, existen diversos factores que pueden alterar su respuesta. En la actualidad los avances tecnológicos permiten entender mejor el comportamiento reproductivo de las ovejas, por lo que es posible modificar los protocolos de sincronización no solo para ser eficientes, sino también considerar la salud y bienestar de los animales o el impacto ambiental que genere la aplicación de estas técnicas reproductivas.

Dentro de las ventajas de acortar los protocolos de sincronización se encuentra promover el uso de prácticas relacionadas con el bienestar animal, ya que se disminuye el tipo de exposición a dosis elevadas de P₄ por periodos largos. Existe la tendencia de utilizar dispositivos impregnados con P₄ natural (CIDR) durante periodos cortos, debido a que disminuyen problemas de salud en los animales relacionados con cambios de la microbiota vaginal, alteración del pH vaginal y disminución de flujos purulentos, favoreciendo la fertilidad. Aunado a esto el uso por periodos cortos del dispositivo permite su reutilización con resultados aceptables de fertilidad, disminuyendo los costos de producción. Además, estas prácticas previenen la contaminación al medio ambiente cuando los dispositivos son desechados, ya que el dispositivo contiene una cantidad menor de P₄.

Estudios recientes sugieren que el aporte de P₄ exógena incrementa su concentración sérica rápidamente, generando el pronto recambio folicular de la primera oleada folicular, obteniendo así ovocitos jóvenes de mejor calidad, lo cual aumenta la competencia ovocitaria. Por ello se considera como una alternativa acortar el periodo de sincronización (6 d), lo que permite obtener resultados de fertilidad similares o mayores a los obtenidos en protocolos convencionales (11 a 14 d).

Algunos estudios como los de Cuadro *et al.* (2018) y Menchaca *et al.* (2018) observaron que la presencia del cuerpo lúteo en ovarios en programas de superovulación o fecundación *in vitro*, presentan ovocitos de mejor calidad. Aunque no es del todo claro, los resultados son atribuidos por otras investigaciones (Argudo *et al.* 2020) a procesos angiogénicos durante la luteinización que mejoran la distribución de nutrientes, hormonas y factores de crecimiento, favoreciendo a su vez el desarrollo folicular; esto mejora la calidad embrionaria y fertilidad. Por ello la presencia de CL durante el desarrollo folicular parece ejercer un papel importante.

De acuerdo con los beneficios reportados por las investigaciones, es necesario esclarecer si la concentración de P₄ influye sobre la respuesta de protocolos de sincronización convencionales y cortos, con o sin presencia de cuerpo lúteo, sobre las variables reproductivas en ovejas, con la finalidad de determinar el tratamiento con mejores resultados.

Cabe resaltar que se tomó la decisión de no administrar prostaglandina F_{2α} al finalizar los protocolos de sincronización cortos como recomiendan algunos autores; ya que, si se administraba de manera exógena, se perdería el control de la vida del cuerpo lúteo que se generó con la presincronización, provocando que el aporte de P₄ generado por el cuerpo lúteo maduro o joven disminuyera su concentración, modificando la respuesta que queríamos observar.

IV.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

El aporte exógeno de P₄ mediante dispositivo CIDR más la presencia de cuerpo lúteo al comenzar un protocolo de sincronización corto incrementará los niveles de P₄; lo cual, permitirá el control de una nueva oleada folicular y mejorará la calidad del ovocito; sin embargo, la concentración de P₄ generada y la permanencia del cuerpo lúteo pueden comprometer la respuesta al estro.

4.1 Objetivo general

Evaluar la respuesta reproductiva del aporte exógeno de P₄, al comenzar un protocolo de sincronización de estro con o sin presencia de cuerpo lúteo, durante periodos cortos y convencionales.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta a sincronización de estros (porcentaje de hembras que presentan estro, inicio de estro, duración de estro).
- Determinar la tasa de retorno, el porcentaje de gestación e índice de prolificidad.
- Evaluar la concentración sérica de P₄ durante los tratamientos.
- Evaluar la concentración sérica de estradiol durante los días cercanos al estro.

V.MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización del área de estudio

El experimento se realizó en la granja experimental del Colegio de Postgraduados, localizada en Montecillo, estado de México, a 98° 53' O y 19° 29' N, a 2 250 msnm. El clima es templado subhúmedo con una precipitación media anual de 632.5 mm durante el verano y una temperatura anual entre 12 y 18°C (García, 2004), durante los meses de octubre a noviembre de 2020 (época reproductiva) y revisión de partos en el mes de marzo.

5.2 Animales experimentales

Al principio se utilizaron 100 ovejas, con la finalidad de descartar aquellas que no respondieran a la presincronización para el control de la vida media del cuerpo lúteo; de estas se seleccionaron 80 ovejas, las cuales eran multíparas de la cruce Katahdin × Dorset, con una edad promedio de 3.5 años y condición corporal 3 en escala de 1 a 5. Previamente a comenzar el experimento se comprobó ausencia de gestación con un ultrasonido CHISON, Eco 6 y transductor lineal prostático a 7.5 MHz; además, recibieron el manejo sanitario habitual: desparasitación (Koptisin ovine[®], Chinoin / iverfull[®], Aranda), vitaminas (Vigantol ADE[®], Bayer), vacunación (Bobact 8[®], MSD), esquila y despezuñado.

Los animales fueron manipulados bajo las normas establecidas por el reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el colegio de postgraduados; que se encuentran basadas en la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, referente a especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

5.3 Alimentación de animales

Las ovejas estuvieron estabuladas, recibieron una dieta a base de heno de avena (*Avena sativa*) y heno de alfalfa (*Medicago sativa*) y 300 g de concentrado comercial con 14 % de proteína cruda y 2.4 Mcal kg⁻¹ de energía metabolizable; el agua y minerales estuvieron disponibles a libre acceso en todo momento.

5.4 Tratamientos

Las ovejas se distribuyeron al azar en cuatro tratamientos (n=20), resultado de la combinación factorial de dos periodos de sincronización (6 y 11 d) y con o sin cuerpo lúteo (CL y SCL) (Cuadro 1). Los tratamientos fueron T1: 6 días sin cuerpo lúteo, T2: 6 días con cuerpo lúteo, T3: 11 días sin cuerpo lúteo y T4: 11 días con cuerpo lúteo.

Cuadro 1. Designación de los tratamientos sobre un diseño factorial 2 × 2

tratamientos		Factor cuerpo lúteo	
		Ausencia de CL	Presencia de CL
Factor periodo de sincronización	6 días	6 d SCL	6 d CL
	11 días	11 d SCL	11 d CL

5.5 Procedimiento de sincronización de estros

5.5.1 Presincronización

El control del tiempo de vida del cuerpo lúteo se realizó mediante presincronización en todos los tratamientos, por medio de la aplicación en dos ocasiones de 125 µg de PGF_{2α} (Celosil[®], Schering-Plough) con un intervalo de ocho días, vía intramuscular. En los tratamientos que presentaban cuerpo lúteo las aplicaciones fueron 14 y 6 d antes de la inserción del CIDR; mientras que, para los tratamientos sin cuerpo lúteo las aplicaciones fueron 11 y 3 d antes de la inserción del CIDR (Figura 12).

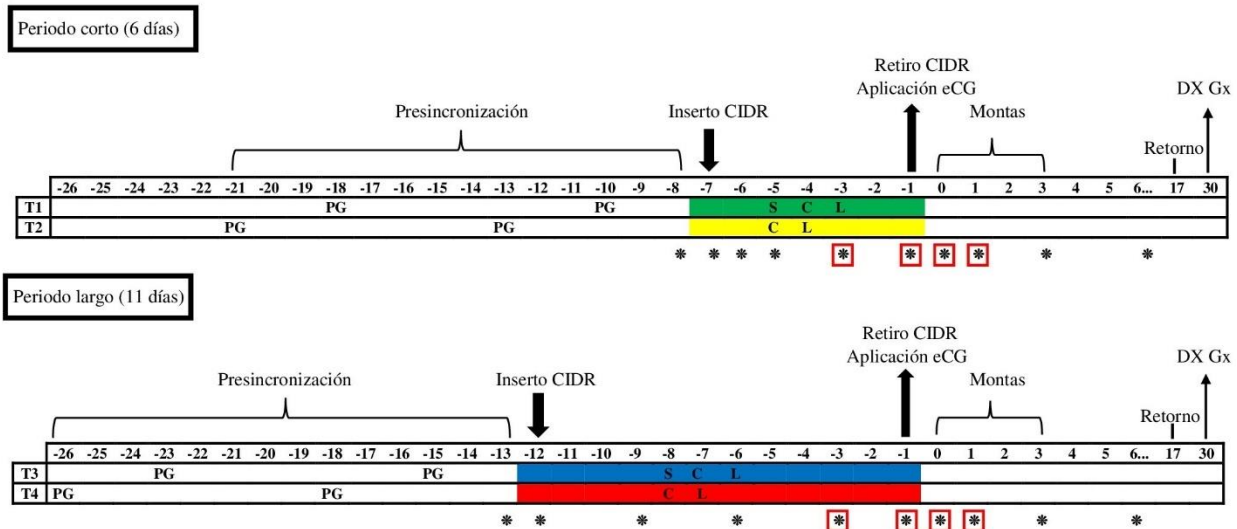


Figura 12. Presincronización para el control de la vida lútea y protocolos de sincronización de estro.

T1= 6 d sin cuerpo lúteo. T2= 6 d con cuerpo lúteo. T3= 11 d sin cuerpo lúteo. T4= 11 d con cuerpo lúteo. CIDR- Dispositivo de liberación controlada de droga. eCG- Gonadotropina coriónica equina. PG-administración prostaglandina F_{2α}. * Muestras en sangre para determinar concentración de P₄. □ Muestras en sangre para determinar E₂.

5.5.2 Sincronización de estros

Posteriormente a la presincronización se administró un dispositivo intravaginal con P₄ (CIDR[®] Ovis, Zoetis) el cual permaneció durante 6 d en los tratamientos cortos y 11 d en los tratamientos convencionales; al momento de retirar el CIDR se administraron 400 UI de eCG (Gonactive[®], Virbac) en todos los tratamientos vía intramuscular en el área perivulvar (Figura 1).

La inserción del CIDR se realizó por medio de un aplicador el cual fue desinfectado con nitrofurazona en pomada. Antes de su inserción las hembras fueron limpiadas y desinfectadas en el área perivulvar con una solución a base de florfenicol. Posteriormente se verificó dos veces por día (8:00 / 18:00 h) que el dispositivo permaneciera *in situ* durante el tiempo designado a cada tratamiento.

5.6 Detección de estros y monta natural

La detección de estro comenzó 24 h posterior al retiro del CIDR, considerando que la oveja se encontraba en estro a partir de que permanecía inmóvil y permitía la monta. La duración del estro se registró a partir de su inicio hasta que las ovejas ya no permitían ser montadas, en intervalos cada 6 h durante 30 min. Cada oveja recibió tres montas con machos de fertilidad

probada: la primera monta a partir de la detección de estro y dos montas más con intervalos de 12 h. Posteriormente, 14 d y hasta el día 17 a partir de la primera monta, se detectó el retorno a estro utilizando los mismos machos, 2 veces por día (8:00 / 17:00 h).

5.7 Diagnóstico de gestación y partos

El diagnóstico de gestación se confirmó 30 d después de las montas, mediante ultrasonografía con el equipo ya mencionado, a través de la detección de vesícula embrionaria y se corroboró a los 60 d de gestación. Para determinar la gestación por ultrasonido los fetos se mostraban ecogénicos, rodeados de líquido amniótico el cual se presentaba anecoico; las ovejas que no presentaban estas imágenes se consideraban no gestantes.

Al término de la gestación se registraron todos los partos; el porcentaje de gestación coincidió con el de fertilidad y fecundidad. Se consideró el total de corderos nacidos (vivos y muertos) por cada oveja para determinar el índice de prolificidad.

5.8 Muestreo y análisis hormonal

Para determinar la concentración de P_4 y E_2 , los muestreos se realizaron en días estratégicos que permitieran determinar información de la respuesta en cada tratamiento, sobre las variables reproductivas (Figura 1). Se eligieron 12 ovejas aleatoriamente en cada tratamiento para coleccionar muestras de sangre mediante venopunción de la yugular (5 mL) a las 08:00 h; las muestras se centrifugaron en tubos de polipropileno a 1500 g a 4 °C durante 20 min (HERMLE Z 383 K, Hermle Labortechnik GmbH, DEU); posteriormente, el suero sanguíneo se separó y se almacenó en microtubos (Axigen™) a -20 °C hasta realizar el análisis hormonal.

La concentración de P_4 en suero se determinó mediante radioinmunoensayo (RIA) con el kit comercial PROGESTERONE [$I-^{125}$] RIA®, con una sensibilidad analítica de 0 a 37.7 ng/ml y un coeficiente de variación intra e inter ensayo de 7.6 y 8.2%, respectivamente. La concentración de E_2 en suero se determinó mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia (ELISA) con el kit comercial DRG Estradiol CLIA®. La sensibilidad analítica fue de 9.7 pg/ml, con un coeficiente de variación intra e inter ensayo de 3.6 y 9.4%, respectivamente. El análisis se realizó en el laboratorio de hormonas proteicas y esteroides del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Departamento de Biología de la Reproducción.

5.9 Variables de respuesta

- Presentación de estro: porcentaje de ovejas que presentaron estro (permaneció inmóvil y aceptó la monta) posterior al retiro del CIDR.
- Inicio de estro: intervalo de horas transcurridas desde el retiro del CIDR hasta presentar la primera manifestación de estro.
- Duración de estro: intervalo de horas transcurridas donde se acepta la monta, resultado de la diferencia del momento en que la hembra rechaza por completo al macho y el inicio del estro.
- Tasa de retorno a estro: porcentaje de ovejas que presentaron estro al siguiente ciclo estral, 14 a 17 d posterior al estro sincronizado.
- Porcentaje de gestación: porcentaje de ovejas que resultaron gestantes después de la monta.
- Prolificidad: se determinó a partir del número de corderos nacidos dividido entre el total de ovejas que paren.
- Concentración de P₄: concentración de P₄ en suero sanguíneo (ng mL⁻¹) durante el periodo experimental.
- Concentración de estradiol: concentración de estradiol en suero sanguíneo (pg mL⁻¹) durante el periodo experimental cerca al estro.

5.10 Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial 2×2 , donde los efectos principales fueron: periodo de sincronización (6 y 11 d) y presencia o no de CL al iniciar el protocolo, respectivamente. Para todos los análisis el nivel de significancia que se consideró fue $\alpha = 0.05$. Cada oveja representó una unidad experimental.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : Variable respuesta de la k-ésima repetición, del i-ésimo periodo de sincronización y de la j-ésima presencia o no de CL.

μ : Media general.

A_i : Efecto del i-ésimo periodo de sincronización, $i= 1, 2$ (6 d y 11 d).

B_j : Efecto de la j-ésima presencia o no de CL, $j= 1, 2$ (sin CL y con CL).

$(AB)_{ij}$: Efecto de la interacción AB al nivel i, j .

ε_{ijk} : Error aleatorio.

Las variables no se distribuyeron normalmente (Shapiro-Wilk), por lo tanto, se utilizaron estadísticos no paramétricos; los resultados se analizaron con una prueba de χ^2 por medio de la prueba de Kruskal-Wallis mediante el PROC NPAR1WAY; para las variables dicotómicas presencia de estro y tasa de gestación al rechazar hipótesis nula, se realizó comparación múltiple de medias a través de prueba Nemenyi.

Para la concentración de P₄ y E₂ se realizó un análisis de mediciones repetidas a través del tiempo por medio del procedimiento PROC MIXED; las medias de mínimos cuadrados se calcularon con la prueba de Tukey-Kramer. El modelo incluyó efectos fijos del tratamiento, día y su interacción. La estructura de covarianza fue modelada usando el efecto de la oveja dentro del tratamiento más el componente del primer orden autorregresiva (progesterona) y el componente simple (estradiol) para contar la correlación entre las mediciones secuenciales dentro del mismo animal.

El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ijk}: \mu + \tau_i + \delta_{ij} + P_j + (\tau P)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : Variable respuesta en observación k (concentración), repetición j , tratamiento i .

μ : Media general.

τ_i : Efecto del i-ésimo tratamiento.

δ_{ij} : Efecto del j-ésimo animal dentro del i-ésimo tratamiento.

P_j : Efecto del k-ésimo periodo.

$(\tau P)_{ij}$: Interacción tratamiento×periodo.

ε_{ijk} : Error aleatorio asociado con la k-ésima medida repetida dentro del j-ésimo animal.

Al descomponer los tratamientos en sus efectos principales e interacciones, el modelo mixto con arreglo factorial utilizado fue:

$$Y_{ijkl}: \mu + A_i + B_j + A * B_{ij} + \delta_{ji} + P_k + (AP)_{ik} + (BP)_{jk} + (A * B * P)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} : Variable de respuesta.

μ : Media general.

A_i : Efecto del factor A al nivel i (periodo de sincronización).

B_j : Efecto del factor B al nivel j (presencia o no de CL).

P_k : Efecto del periodo al nivel k.

δ_{ji} : Error aleatorio dentro de los efectos principales (periodos).

$(AB)_{ij}$, $(AP)_{ik}$, $(BP)_{jk}$, $(ABP)_{ijk}$: Efecto de las interacciones.

ε_{ijkl} : Error aleatorio.

Todos los procedimientos fueron realizados por el paquete estadístico (SAS) 9.0 para Windows 6.2.

VI.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia de estro mostró diferencias ($P<0.05$) por efecto del periodo de sincronización. Los tratamientos cortos presentaron porcentajes de presencia de estro menores con diferencia entre ellos ($P<0.05$), en comparación con tratamientos convencionales (Cuadro 2). En el tratamiento corto con CL solo una oveja de 20 presentó estro (5%).

Cuadro 2. Respuesta de las variables reproductivas en ovejas con y sin cuerpo lúteo al inicio de la sincronización utilizando tratamientos cortos y convencionales

Tratamientos	6d SCL	6d CL	11d SCL	11d CL
Variables				
Presencia de estro (%)	35 (7/20) ^b	5 (1/20) ^c	100 (20/20) ^a	100 (20/20) ^a
Inicio a estro (h) ^{†1}	24.9±0.9	30	31.2±2.6	33.3±3.4
Duración de estro (h) [†]	54.0±3.2	48.0	53.4±3.1	53.7±3.0
Retorno a estro (%)	5 (1/20)	0	0	10 (2/20)
Gestación (%) ²	30 (6/20) ^b	0 ^c	100 (20/20) ^a	85 (17/20) ^a
Prolificidad ³	2.2	0	1.9	1.9

6 d SCL= 6 d sin cuerpo lúteo. 6d CL= 6 d con cuerpo lúteo. 11 d SCL= 11 d sin cuerpo lúteo. 11 d CL= 11 d con cuerpo lúteo.

¹ Tiempo referido al retiro del CIDR. ² Basado en los perfiles de P₄ en suero y ultrasonografía en el día 30. ³ Número de corderos nacidos por oveja parida. ^{a b c} Valores con distinta literal entre columnas son diferentes ($P<0,05$). [†]Medias ± error estándar. Entre paréntesis se presenta el número de animales en cada caso.

La presentación de estro en tratamientos convencionales fue similar a la reportada por Uriol *et al.* (2019) y Martínez-Ros *et al.* (2018c) donde utilizaron CIDR durante 14 d más la aplicación de 400 UI de eCG al momento del retiro, observando 100 y 91 % de presentación de estros, respectivamente. La presencia o ausencia de CL tampoco influyó al evaluar tratamientos de sincronización durante 12 d con CIDR observándose 100 % de presentación de estros para ambos casos (Molina-Mendoza *et al.* 2005), lo cual es similar a lo que se obtuvo en el presente

estudio. Por el contrario, en los tratamientos cortos, el presente estudio difiere con los resultados reportados por Uriol *et al.* (2019) y Martínez-Ros *et al.* (2018c) donde obtuvieron 100 % de presentación de estros utilizando CIDR 5 y 6 d más la aplicación de 400 UI de eCG y una dosis de 5 mg de prostaglandina 2α (PGF $_{2\alpha}$). La diferencia se pudo deber a que en el presente estudio no se aplicó PGF $_{2\alpha}$ al momento de retirar el CIDR; al respecto, Uribe-Velásquez *et al.* (2010) mencionan que la aplicación de PGF $_{2\alpha}$ genera la lisis del CL al unirse con sus receptores en las células lúteas grandes y chicas, lo cual provoca que la concentración plasmática de P $_4$ disminuya. La existencia del CL al final del periodo de sincronización en tratamientos cortos, inhibió la respuesta al estro. Por lo tanto, para que la respuesta de las variables reproductivas no se vea afectada en tratamientos de sincronización cortos, se debe administrar PGF $_{2\alpha}$ al momento de retirar el dispositivo que aporta P $_4$ de manera exógena (Martínez-Ros *et al.* 2018a).

En cuanto al inicio de estro no presentó diferencias entre tratamientos ($P>0.05$) (Cuadro 2). La distribución del inicio de estro se presenta en la Figura 13.

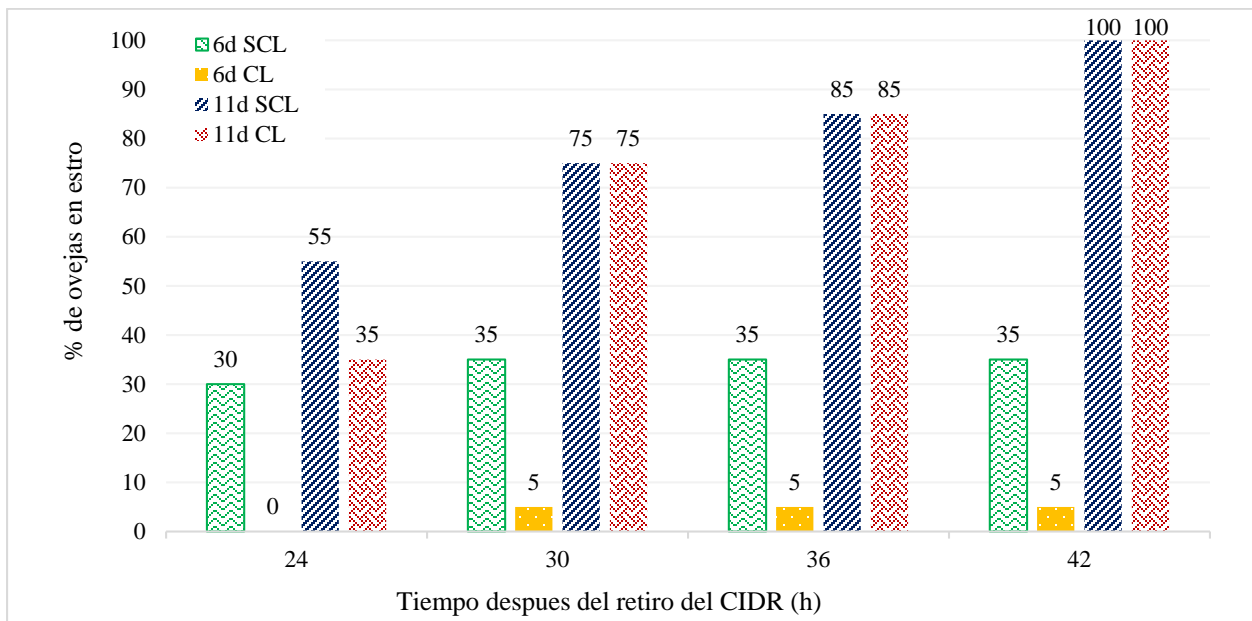


Figura 13. Distribución de inicio de estros después del retiro del CIDR y aplicación de eCG. 6 d SCL= 6 d sin cuerpo lúteo (n=20). 6d CL= 6 d con cuerpo lúteo (n=20). 11 d SCL= 11 d sin cuerpo lúteo (n=20). 11 d CL= 11 d con cuerpo lúteo (n=20).

El mayor agrupamiento ocurrió a las 24 h para el tratamiento 11d SCL con 55 % (11/20) de las ovejas en estro. A partir de las 30 h del retiro del CIDR la mayor parte de las ovejas iniciaron estro en los tratamientos convencionales. En el tratamiento corto sin CL el porcentaje máximo de ovejas que iniciaron estro se registró a las 24 h sin cambios las siguientes horas. El inicio de estro

reportado por Molina-Mendoza *et al.* (2005) al presentar o no CL (32 ± 0.7 ; 36 ± 3 h, respectivamente) durante la sincronización con tratamientos convencionales fue similar a la obtenida en el presente estudio. El inicio de la conducta estral del presente estudio fue menor a lo reportado por Martínez-Ros *et al.* (2018c) con tratamientos cortos (42.5 ± 5.9 h), pero similar con tratamientos convencionales (30.9 ± 9.5 h); al respecto mencionan que la aplicación de eCG induce un inicio del estro más pronto; sin embargo, el periodo de sincronización influye en la respuesta a esta variable, ya que su tratamiento convencional presentó celo más pronto que sus tratamientos con periodos de sincronización cortos. No obstante, Uriol *et al.* (2019), reportan un inicio de estro similar entre tratamientos convencionales (34.0 ± 5.0 h) y tratamientos cortos (39.2 ± 4.0 h) al administrar eCG, sin encontrar efecto por el periodo de sincronización, lo cual es similar a lo obtenido en el presente estudio. López *et al.* (2021) al evaluar tratamientos cortos utilizando progestágenos y diferentes dosis de eCG, atribuyen un menor intervalo en el inicio de estro cuando se utilizan dosis altas (400 UI) de eCG (37.1 ± 12.0 h).

La duración de estro entre tratamientos fue similar ($P > 0.05$) para todos los tratamientos (Cuadro 2). La duración del estro en tratamientos convencionales del presente estudio, fue similar a la obtenida por Arroyo-Ledezma *et al.* (2013) quienes reportan duración de estro de 54.2 ± 2.6 h, al utilizar CIDR durante 11d más la aplicación de 400 UI de eCG, contrario a lo reportado por Rodríguez-Sánchez *et al.* (2020) al reutilizar CIDR en tratamientos convencionales de 12 d más la aplicación de 200 UI de eCG (35.2 ± 3.5 h). Ávila-Castillo *et al.* (2019) observaron menor duración del estro (31.5 ± 1.0 h) a lo obtenido en el presente estudio, al sincronizar durante un periodo corto utilizando progestágenos y $\text{PGF}_{2\alpha}$. De acuerdo con Gastelum-Delgado *et al.* (2015) las ovejas pueden presentar alteraciones en la duración del estro relacionados con factores ambientales como fotoperiodo y temperatura; en meses de alta actividad reproductiva los estros suelen ser más largos (36 a 48 h).

No hubo diferencia entre los tratamientos ($P > 0.05$) en la tasa de retorno a estro durante los 17 d posteriores a la presentación de estro; a pesar de que un número considerable de ovejas no presentaron celo en los tratamientos cortos (Cuadro 2). El porcentaje de retorno a estros obtenido en tratamientos convencionales es similar a los reportados por otros autores: Martínez-Ros *et al.* (2018b) reportan 20 % de tasa de retorno; Rodríguez-Sánchez *et al.* (2020) obtuvieron 6.25 % de tasa de retorno, ambos utilizando monta natural. La incidencia de la baja tasa de retorno en

tratamientos convencionales del presente trabajo probablemente sea atribuida al método de cubrición (monta natural, 3 servicios), ya que esta práctica incrementa la fertilidad (Fernández-Abella *et al.* 2006). Por el contrario, en tratamientos cortos donde se esperaba una respuesta elevada de retorno a estro, debido a que la mayoría de las ovejas no respondieron al estro sincronizado; la baja tasa de retorno podría estar relacionada con la elevada concentración de P₄ durante los días cercanos a la presentación del estro (días -1 al 3 del protocolo experimental; Figura 14). Esto reduce la frecuencia de pulsos de LH y evita la ovulación (Uribe-Velásquez *et al.* 2011b); además, inhibe la retroalimentación positiva de E₂ afectando el desarrollo folicular, dando como resultado la formación de quistes foliculares ováricos (Hatler *et al.* 2008). De acuerdo con lo descrito, la concentración elevada de P₄ y baja de E₂ provocaron desórdenes reproductivos que afectaron no sólo la respuesta reproductiva y ovárica al momento de presentar estro, si no también afectó la respuesta de retorno al estro en el tratamiento corto con CL. La concentración elevada de E₂ durante el desarrollo folicular puede afectar la capacidad de respuesta del CL hacia PGF_{2α} (Colazo *et al.* 2002). En el tratamiento corto SCL a pesar de que se llevó a cabo la retroalimentación entre P₄ y E₂, la permanencia del CL después del retiro del CIDR y un efecto negativo del E₂ pudieron evitar el pico preovulatorio de LH, lo que provocó desórdenes reproductivos y probablemente la presentación de quistes foliculares que evitaron que las ovejas retornaran a estro.

El porcentaje de gestación fue diferente ($P < 0.05$) entre tratamientos por efecto del periodo de sincronización. Los tratamientos cortos obtuvieron bajos porcentajes de gestación con diferencia entre ellos ($P < 0.05$), mientras que los tratamientos convencionales obtuvieron elevados porcentajes de gestación (Cuadro 2). El porcentaje de gestación del presente experimento fue similar a lo reportado por Martínez-Ros *et al.* (2018c) en tratamientos convencionales, quienes reportan 83.3 % de gestación utilizando CIDR 14 d más 400 UI de eCG mediante monta natural. Molina-Mendoza *et al.* (2005) obtuvieron el 83.3 y 77.8 % de gestación en tratamientos convencionales con y sin presencia de CL, por lo que al parecer la variación en la concentración de P₄ secretada por el CL en combinación con el aporte exógeno de P₄ no presentaron un efecto marcado sobre la fertilidad, lo cual coincide con lo obtenido en el presente estudio. Sin embargo, en tratamientos cortos se obtuvieron menores porcentajes de gestación a los reportados por Martínez-Ros *et al.* (2018c) (80 %) quienes utilizaron CIDR 6 d más 400 UI de eCG y una aplicación de 5 mg de PGF_{2α}; seguramente la diferencia en porcentajes de gestación obtenidos en

la presente investigación se deba a la falta de aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ para llevar a cabo luteólisis y permita la ovulación. A pesar de ello, Swelum *et al.* (2018) al sincronizar ovejas Awassi por 6 d utilizando CIDR (nuevo y reutilizado) más la aplicación de 300 UI de eCG al momento del retiro con monta natural obtuvieron porcentajes de gestación (55 y 65 %) mayores al tratamiento corto sin presencia de CL de la presente investigación; esta respuesta indica que pudieran intervenir otros factores en la respuesta de retroalimentación positiva y negativa de los esteroides gonadales para permitir el desarrollo folicular, ovulación y gestación. Entre ellos pudieran estar: raza, medio ambiente, nutrición, factores estresantes, estación del año e incluso etapa del ciclo estral en que se realice la sincronización. Por su parte Soriano *et al.* (2018) no encontraron diferencia ($P>0.05$) en porcentaje de gestación en tratamientos cortos y convencionales (61.11 y 66.66 %), al utilizar CIDR durante 6 y 12 d más 300 UI de eCG y una dosis de 0.075 mg $\text{PGF}_{2\alpha}$; los resultados son considerables al haber utilizado inseminación artificial intrauterina como método de reproducción, lo cual, indica que la gestación no se ve afectada por la duración del periodo de sincronización, siempre y cuando prevenga la lisis del CL al finalizar el tratamiento de sincronización.

El índice de prolificidad fue similar ($P>0.05$) para los tratamientos convencionales y el tratamiento corto sin CL, con un índice de prolificidad mayor a 1.9 (Cuadro 2). Los resultados son similares a los reportados por Uriol *et al.* (2019) quienes obtuvieron 1.8 y 1.7 de índice de prolificidad en tratamientos cortos y convencionales, respectivamente, al sincronizar durante 5 y 14 d más la aplicación de 400 UI de eCG y 5 mg $\text{PGF}_{2\alpha}$ solo en el tratamiento corto. El índice de prolificidad obtenido en el tratamiento corto sin CL fue mayor a lo reportado por Swelum *et al.* (2018) (1.2) quienes utilizaron CIDR por 6 d y al momento del retiro aplicaron 300 UI de eCG. Según López *et al.* (2021) al evaluar diferentes dosis de eCG (100, 250 y 400 UI) en tratamientos de sincronización cortos, la mejor respuesta reproductiva se obtuvo con la dosis más alta, ya que incrementó la prolificidad de 1.2 a 2.3; este resultado es similar a lo obtenido en el presente estudio en el tratamiento corto sin CL. Martínez-Ros *et al.* (2018c) indican que la administración de eCG al término de tratamientos cortos o convencionales aseguran la ovulación, sin embargo el éxito de la ovulación sin eCG dependerá más del periodo de sincronización; lo cual refiere a la importancia del equilibrio en los sistemas de retroalimentación de esteroides gonadales que a su vez controlan la secreción de gonadotropinas las cuales intervienen en la respuesta a esta variable. Según Abecia *et al.* (2011) la eCG permite un mejor reclutamiento y maduración de folículos y ovocitos.

La mayor concentración de P₄ sérica durante la permanencia del CIDR fue de 9.92 y 4.83 ng mL⁻¹ para tratamientos convencionales con y sin CL, respectivamente; mientras que para para tratamientos cortos fue de 8.09 y 4.94 ng mL⁻¹ con y sin CL, respectivamente. La concentración sérica de P₄ al momento del retiro del CIDR, no presentó diferencias en los factores o en su interacción a través del tiempo (P>0.05) (11d CL: 4.65; 11d SCL: 3.12; 6d CL: 4.95; 6d SCL: 4.28 ng mL⁻¹). A pesar de ello, al evaluar cada factor por la interacción con el tiempo se encontraron diferencias (P<0.05) en el inicio del estro y 24 h posteriores a este (muestrs 7 y 8); la concentración de P₄ fue mayor para los tratamientos de sincronización cortos y con presencia de CL (Figura 14).

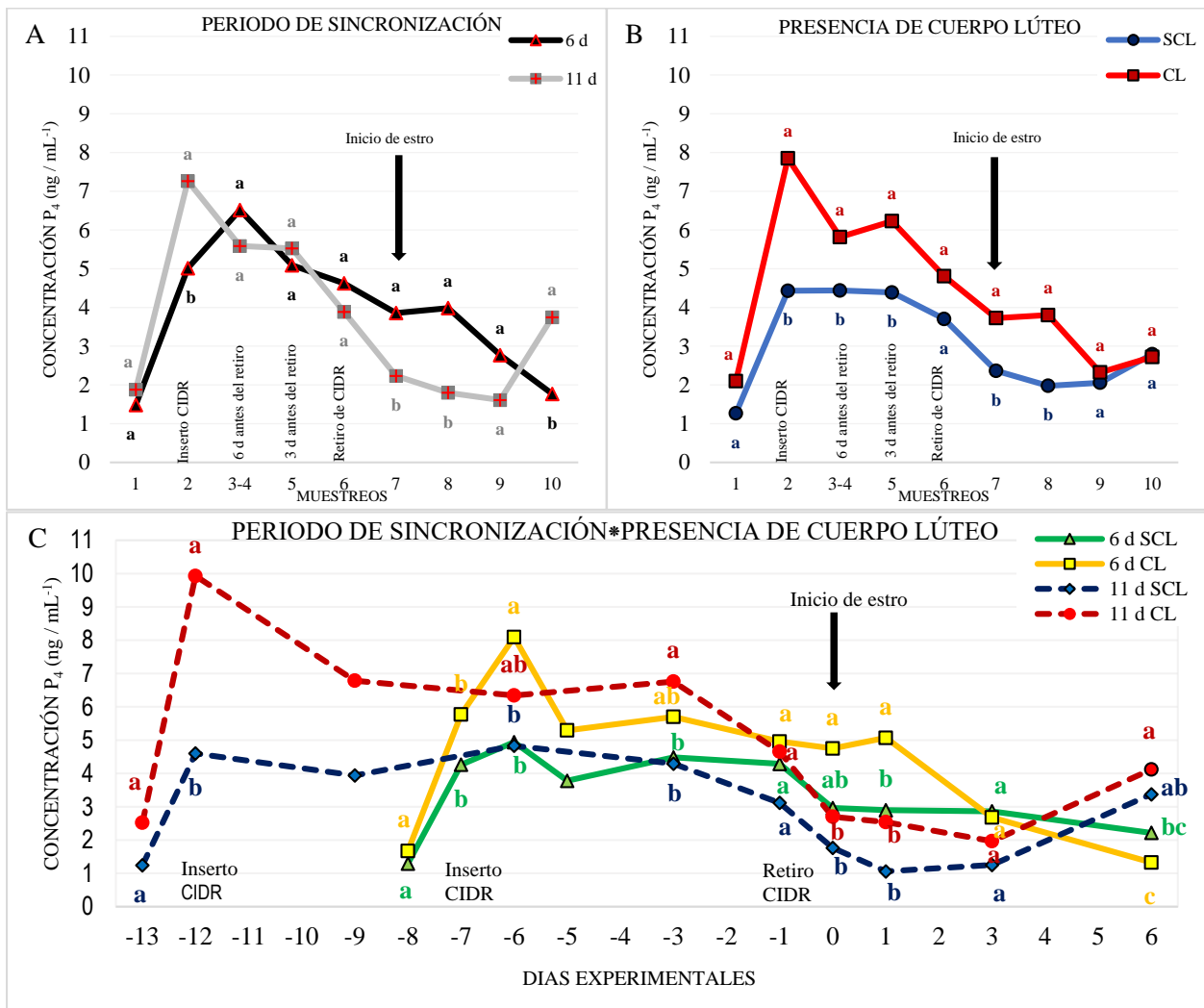


Figura 14. Concentración de P₄ por factores y su interacción en diferentes eventos fisiológicos. 6 d SCL= 6 d sin cuerpo lúteo. 6d CL= 6 d con cuerpo lúteo. 11 d SCL= 11 d sin cuerpo lúteo. 11 d CL= 11 d con cuerpo lúteo. ^{a b c}Medias con distinta literal son diferentes (P<0.05).

Los resultados máximos de P₄ obtenidos en tratamientos de sincronización convencionales son similares a los reportados por Molina-Mendoza *et al.* (2005) quienes obtuvieron 8.6 y 4.14 ng mL⁻¹ seis días después del inserto del CIDR, en tratamientos convencionales con y sin presencia de CL; no obstante, al momento de retirar el CIDR las concentraciones de P₄ fueron diferentes (CL: 2.29 SCL: 2.21 ng mL⁻¹) a las obtenidas en el presente estudio (CL: 4.65 SCL: 3.12 ng mL⁻¹). Esto pudo influir sobre la concentración basal (<1 ng mL⁻¹) que obtuvieron 24 h después del retiro del CIDR, lo cual concuerda con lo reportado por Uribe-Velásquez *et al.* (2010). A pesar de que en los tratamientos convencionales del presente estudio no obtuvieron la concentración basal <1 ng mL⁻¹ el día del estro, esto no afectó la respuesta de las variables reproductivas. Según Uribe-Velásquez *et al.* (2008), la concentración de P₄ incrementa después de la ovulación al iniciar la fase lútea, resultado de la actividad lútea y de los folículos grandes luteinizados.

Los tratamientos convencionales presentaron un incremento en la concentración de P₄ del día 3 al 6 después del celo, a diferencia de los tratamientos cortos donde la P₄ apenas empezaba a descender, posiblemente por el inicio de un proceso luteolítico (Figura 14). En tratamientos de sincronización cortos (CIDR nuevo más 300 UI de eCG), Swelum *et al.* (2018) reportan concentraciones de P₄ similares a las obtenidas en tratamientos cortos del presente estudio, en su tercer día de tratamiento (5.9 ng mL⁻¹) y al retirar el CIDR (5.4 ng mL⁻¹); no obstante, 48 h después del retiro del CIDR la concentración de P₄ obtenida en el presente estudio fue mayor (3.98 ng mL⁻¹) comparada con la que reportan esos autores (2.4 ng mL⁻¹), lo cual pudo ocasionar que su tasa de gestación fuera mayor a la del presente estudio.

La concentración sérica de E₂ presentó diferencias (P<0.05) en los factores sin interactuar con el tiempo durante toda la fase folicular sincronizada (muestréos 5 al 8); la concentración fue mayor en tratamientos convencionales y cuando no se presentaba CL (Figura 15). La interacción de los factores a través del tiempo, presentó diferencia (P<0.05) durante todos los muestréos del tratamiento periodo corto con CL en la concentración media de E₂, la cual se mantuvo por debajo de los demás tratamientos (Figura 15).

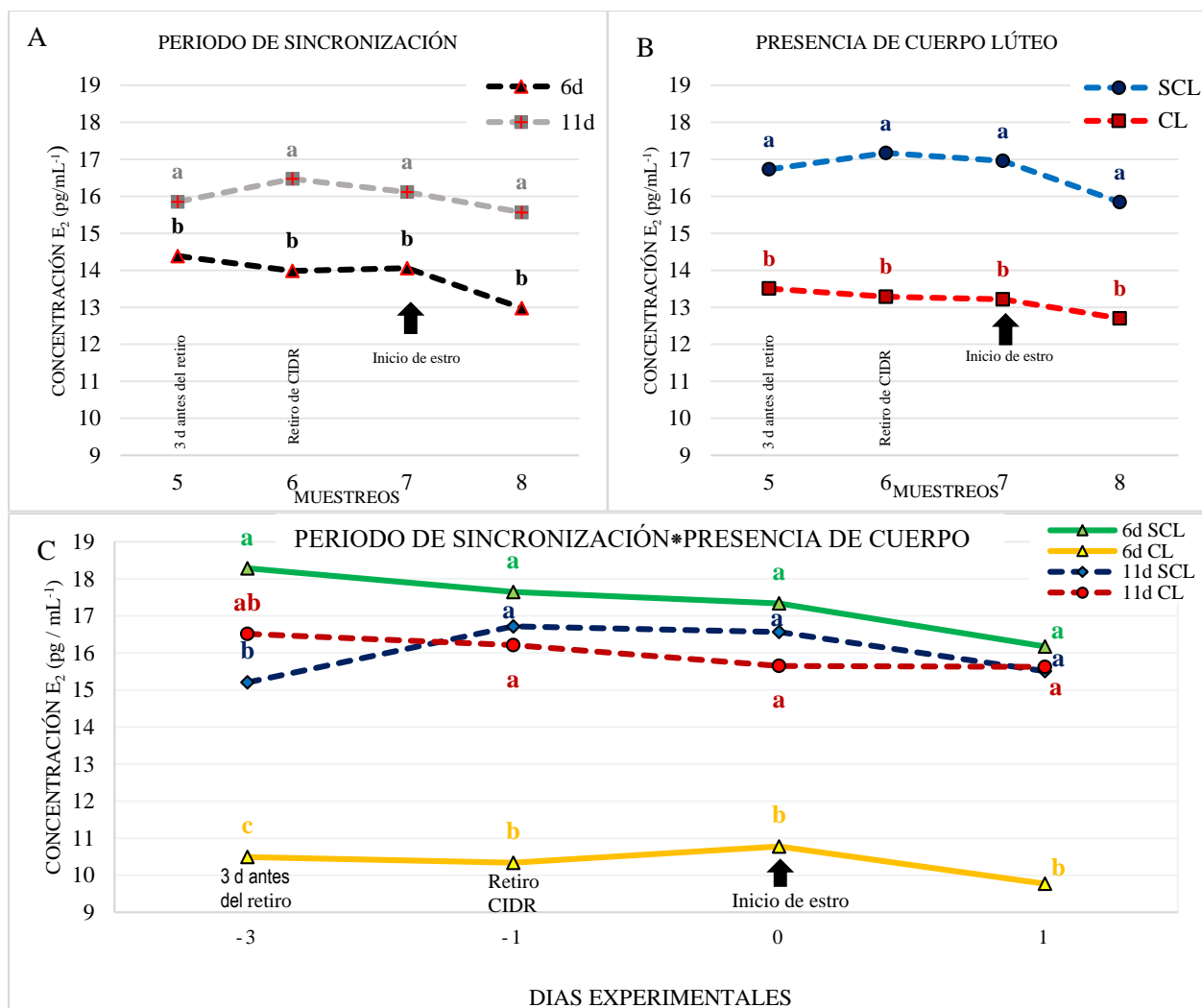


Figura 15. Concentración de E2 por factores y su interacción durante la fase folicular del experimento. 6 d SCL= 6 d sin cuerpo lúteo. 6d CL= 6 d con cuerpo lúteo. 11 d SCL= 11 d sin cuerpo lúteo. 11 d CL= 11 d con cuerpo lúteo. ^{a,b,c}Medias con distinta literal son diferentes ($P < 0,05$).

De manera natural en el ciclo estral, las ovejas presentan un patrón de secreción promedio de E₂, observándose un incremento 2 d antes de la ovulación ($13.74 \pm 1.1 \text{ pg mL}^{-1}$), reduciendo ligeramente su concentración 1 d antes de la ovulación ($9.92 \pm 1.1 \text{ pg mL}^{-1}$) y una concentración alrededor de $8.75 \pm 1.1 \text{ pg mL}^{-1}$ el día de la ovulación (Uribe-Velásquez *et al.* 2010); de acuerdo con lo descrito por estos autores, en la presente investigación existían niveles considerables de E₂ durante los días cercanos a la presentación de estro en el tratamientos corto con CL; según Baird y Scaramuzzi (1976) el incremento de la concentración de E₂ a partir del sexto día puede suceder por el desarrollo de la primera oleada folicular. Sin embargo, Uribe-Velásquez *et al.* (2010) han reportado una disminución en la amplitud de los pulsos de LH en el sexto día del ciclo estral por parte del E₂, lo cual pudo afectar el pico ovulatorio en el tratamiento corto sin CL; de igual forma,

existen otros factores que afectan la frecuencia de pulsos de LH además de la retroalimentación de los esteroides gonadales, como la nutrición, las feromonas y el fotoperíodo (Thiéry y Martin 1991). La disminución de P₄ permite al folículo crecer y secretar E₂; la captación de E₂ por receptores del hipotálamo permite los cambios en el comportamiento asociados al celo (Franco y Uribe-Velásquez, 2012); este mecanismo fue observado en el presente estudio cuando los tratamientos convencionales y el tratamiento corto sin CL presentaron celo, al conseguir una retroalimentación positiva por parte del E₂. No obstante, aunque la concentración de E₂ al momento del estro en los tratamientos cortos era alta (Figura 4), la posible presencia de un CL inhibió la respuesta a la conducta reproductiva. Uribe-Velásquez *et al.* (2011b) al insertar un CIDR como aporte exógeno de P₄ encontraron un incremento considerable de E₂ durante los primeros 6 d del ciclo estral; al respecto concluyen que la concentración plasmática de E₂ está ligada al cambio de la población folicular durante el ciclo estral.

A pesar de que el crecimiento folicular es continuo e independiente de la fase del ciclo, conforme a las observaciones de Uribe-Velásquez *et al.* (2008), los tratamientos donde se utiliza P₄ y eCG incrementan el reclutamiento de folículos chicos, medianos y grandes. Por lo tanto, las concentraciones de E₂ presentes en los tratamientos cortos pueden estar relacionadas con mayor número de folículos chicos y medianos sin lograr la formación del folículo dominante.

VII.CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizó el presente experimento, la presencia o no de cuerpo lúteo al inicio de tratamientos de sincronización cortos afectó la respuesta al estro, por lo tanto, debe administrarse prostaglandina $F_{2\alpha}$ al retiro del CIDR para evitar el efecto negativo que genera el cuerpo lúteo maduro o prematuro.

En tratamientos convencionales la presencia de cuerpo lúteo incrementó las concentraciones de P_4 a lo largo del tratamiento, en comparación a tratamientos sin cuerpo lúteo; sin embargo, esto no influyó sobre la respuesta a las variables reproductivas.

VIII.RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de tratamientos de sincronización de estro por periodos cortos en época reproductiva, siempre y cuando se administre un agente luteolítico al término del tratamiento, o en su caso utilizar los tratamientos ya conocidos “convencionales” si las condiciones son adecuadas para el técnico y el productor.

IX.LITERATURA CITADA

- Abecia, J. A., Forcada, F., and González-Bulnes, A. 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *The Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 27: 67 - 79. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.10.001>
- Abecia, J. A., Forcada, F., and González-Bulnes, A. 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130: 173 - 179. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011>
- Abreu, F. M., Coutinho da Silva, M. A., Cruppe, L. H., Mussard, M. L., Bridges, G. A., Harstine, B. R., Smith, G. W., Geary, T. W., and Day, M. L. 2018. Role of progesterone concentrations during early follicular development in beef cattle: I. Characteristics of LH secretion and oocyte quality. *Animal Reproduction Science*, 196: 59 - 68. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.06.020>
- Ainsworth, L., and Downey, B. R. 1986. A controlled internal drug-release dispenser containing progesterone for control of the estrous cycle of ewes. *Theriogenology*, 26: 847 - 856. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(86\)90014-2](https://doi.org/10.1016/0093-691X(86)90014-2)
- Ali, A., and Derar, D. R. 2021. Relationships among the corpus luteum, follicles and conceptus in sheep. *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*, 50: 65 - 71. <https://doi.org/10.1111/ahe.12600>
- Almeeni, I. M., Hatif, S. A., and Zalzal, S. J. 2020. Effect of corpus luteum on quantity and quality of oocytes and *in vitro* maturation in local iraqi ewe. *Biochemical and Cellular Archives*, 20: 5737 - 5740. <https://connectjournals.com/03896.2020.20.5737>
- Arendt, J. 1998. Melatonin and the pineal gland: Influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of Reproduction*, 3: 13 - 22. <https://doi.org/10.1530/ror.0.0030013>
- Argudo, D. E., Tenemaza, M. A., Merchán, S. L., Balvoa, J. A., Méndez, M. S., Soria, M. E., Galarza, L. R., Ayala, L. E., Hernández-Fonseca, H. J., Perea, M. S., and Perea, F. P. 2020. Intraovarian influence of bovine corpus luteum on oocyte morphometry and developmental competence, embryo production and cryotolerance. *Theriogenology*, 155: 232 - 239. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.044>
- Armstrong, D. G., and Webb, R. 1997. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviews of Reproduction*, 2: 139 - 146. <https://doi.org/10.1530/ror.0.0020139>
- Arroyo, J. 2011. Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14: 829 - 845. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-04622011000300001

- Arroyo, J., Magaña-Sevilla, H., y Camacho-Escobar, M. A. 2009. Regulación neuroendocrina del anestro posparto en la oveja. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10: 301 - 312. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/download/149/149>
- Arroyo, L. J., Gallegos-Sánchez, J., Villa, G. A., y Valencia, M. J. 2006. Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: una revisión. *Interciencia*, 31: 8 - 15. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000100004
- Arroyo-Ledezma, J., de la Torre-Barrera, J., y Ávila-Serrano, N. Y. 2013. Respuesta reproductiva de ovejas de pelo sincronizadas con progesterona o prostaglandinas. *Agrociencia*, 47: 661 - 670. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952013000700003
- Atuesta, J. E., y Gonella, D. Á. M. 2011. Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Revista Spei Domus*, 7: 15 - 25. <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/download/598/565/>
- Ávila-Castillo, B. R., García-Flores, E. O., Molina-Mendoza, P., Peralta-Ortiz, J. J. G., y Sánchez-Torres-Esqueda, M. T. 2019. Sincronización del estro en ovejas de pelo mediante protocolo basado en prostaglandinas + GnRH. *Ciencia UAT*, 13: 141 - 151. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i2.1012>
- Baird, D. T., and Scaramuzzi, R. J. 1976. Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary luteinizing hormone in the peri ovulatory period in the ewe: the effect of progesterone. *Journal of Endocrinology*, 70: 237 - 245. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0700237>
- Baird, D. T., Land, R. B., Scaramuzzi, R. J., and Wheeler, A. G. 1976. Endocrine changes associated with luteal regression in the ewe; the secretion of ovarian oestradiol, progesterone and androstenedione and uterine prostaglandin F2alpha throughout the oestrous cycle. *The Journal of Endocrinology*, 69: 275 - 286. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0690275>
- Balan-May, D., Chiquini-Medina, R., Flota-Bañuelos, C., Hernández-Marín, A., Rosales-Martínez, V., Fraire-Cordero, S. 2021. Protocolos cortos para la sincronización del estro en ovejas de pelo en Campeche, México. *Abanico Veterinario*, 11: 1 - 10. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.34>
- Bancho, G. E., Milton, J. T. B., Lindsay, D. R., Martin, G. B., and Quintans, G. 2015. Colostrum production in ewes: A review of regulation mechanisms and of energy supply. *Animal*, 9: 831- 837. <https://doi.org/10.1017/S1751731114003243>
- Bartlewski, P. M., Baby, T. E., and Giffin, J. L. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*, 124: 259 - 268. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.024>
- Bartlewski, P. M., Sohal, J., Paravinja, V., Baby, T., Oliveira, M. E. F., Murawski, M., Schwarz, T., Zieba, D. A., and Keisler, D. H. 2017. Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep?. *Domestic Animal Endocrinology*, 58: 30 - 38. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.06.006>

- Bazer, F. W. 2020. Reproductive physiology of sheep (*Ovis aries*) and goats (*Capra aegagrus hircus*). *Animal Agriculture: Sustainability, Challenges and Innovations*. Pp: 199 - 209. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817052-6.00011-2>
- Bearden, H. J., and Fuquay, J. 1982. El ciclo estral. *Reproducción Animal Aplicada*. (ed). El Manual Moderno S.A. de C.V. México. pp: 50 - 59.
- Beck, N., Jones, M., Davies, B., Peters, A., and Williams, S. 1996. Oestrus synchronization in ewes: The effect of combining a prostaglandin analogue with a GnRH agonist (buserelin). *Animal Science*, 62: 85 - 87. <https://doi.org/10.1017/S1357729800014351>
- Beg, M. A., and Ginther, O. J. 2006. Follicle selection in cattle and horses: Role of intrafollicular factors. *Reproduction*, 132: 365 - 377. <https://doi.org/10.1530/rep.1.01233>
- Blache, D., Tellam, R. L., Chagas, L. M., Blackberry, M. A., Vercoe, P. E., and Martin, G. B. 2000. Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology*, 165: 625 - 637. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1650625>
- Bobadilla-Soto, E. E., Ochoa-Ambriz, F., y Perea-Peña, M. 2021. Dinámica de la producción y consumo de carne ovina en México 1970 a 2019. *Agronomía Mesoamericana*, 32: 963 - 984. <https://doi.org/10.15517/am.v32i3.44473>
- Bravo-Benítez, J. M., Medel, R. A., Mirto-Aguilar, N., Cruz, G. Y., y Morán, R. C. 2021. El Cuerpo Lúteo, nuevos mecanismos de regulación y su asociación con la infertilidad. *eNeurobiología*, 12. <https://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2021/30/Bravo-Ben%C3%ADtez/HTML.html>
- Caraty, A., Locatelli, A., and Martin, G. B. 1989. Biphasic response in the secretion of gonadotrophin-releasing hormone in ovariectomized ewes injected with oestradiol. *The Journal of Endocrinology*, 123: 375 - 382. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1230375>
- Caraty, A., Franceschini, I., and Hoffman, G. E. 2010. Kisspeptin and the preovulatory gonadotrophin-releasing hormone/luteinising hormone surge in the ewe: Basic aspects and potential applications in the control of ovulation. *Journal of Neuroendocrinology*, 22: 710 - 715. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02022.x>
- Colazo, M. G., Martínez, M. F., Kastelic, J. P., and Mapletoft, R. J. 2002. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. *Animal Reproduction Science*, 72: 47 - 62. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(02\)00087-8](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(02)00087-8)
- COMECARNE. 2021. Compendio estadístico 2021. Panorama cárnico internacional. www.comecarne.org
- Crowe, M. A. 2022. Reproduction, Events and Management: Estrous Cycles: Characteristics. 3 rd ed. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00079-9>
- Cuadro, F., dos Santos-Neto, P. C., Pinczak, A., Barrera, N., Crispo, M., and Menchaca, A. 2018. Serum progesterone concentrations during FSH superstimulation of the first follicular wave affect embryo production in sheep. *Animal Reproduction Science*, 196: 205 - 210. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.011>

- De Graaff, W., and Grimard, B. 2018. Progesterone-releasing devices for cattle estrus induction and synchronization: Device optimization to anticipate shorter treatment durations and new device developments. *Theriogenology*, 112: 34 - 43. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.025>
- Dos Santos-Neto, P. C., García-Pintos, C., Pinczak, A., and Menchaca, A. 2015. Fertility obtained with different progestogen intravaginal devices using short-term protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI) in sheep. *Livestock Science*, 182: 125 - 128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.11.005>
- Downing, J. A., and Scaramuzzi, R. J. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 43: 209 - 227. <https://doi.org/10.1530/biosciprocs.2.017>
- Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M. W., and Rawlings, N. C. 2005. The temporal relationship between patterns of LH and FSH secretion, and development of ovulatory-sized follicles during the mid- to late-luteal phase of sheep. *Theriogenology*, 64: 393 - 407. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.12.006>
- Echeverría, J. 2006. Endocrinología reproductiva: prostaglandina F2a en vacas. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 7: 1 - 12. <http://www.redalyc.org/pdf/636/63612648003.pdf>
- Espinoza-Villavicencio, J. L., Ortega, P. R., Palacios, E. A., Valencia, M. J., y Aréchiga, F. C. F. 2007. Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: Una revisión. *Interciencia*, 32: 93 - 99. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442007000200006
- Evans, N. P., Dahl, G. E., Padmanabhan, V., Thrun, L. A., and Karsch, F. J. 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. <https://doi.org/10.1210/endo.138.12.5558>
- Fabre, S., Pierre, A., Mulsant, P., Bodin, L., di Pasquale, E., Persani, L., Monget, P., and Monniaux, D. 2006. Regulation of ovulation rate in mammals: Contribution of sheep genetic models. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-20>
- Fair, T., and Lonergan, P. 2012. The role of progesterone in oocyte acquisition of developmental competence. *Reproduction in Domestic Animals*, 47: 142 - 147. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02068.x>
- FAO. 2021. Food Outlook: Biannual Report on Global Food Markets. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb4479en>
- Fatet, A., Pellicer-Rubio, M. T., and Leboeuf, B. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*, 124: 211 - 219. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.029>

- Fernandez, J., Bruno- Galarraga, M. M., Soto, A. T., de la Sota, R. L., Cueto, M. I., Lacau, I. M., and Gibbons, A. E. 2018. Hormonal therapeutic strategy on the induction of accessory corpora lutea in relation to follicle size and on the increase of progesterone in sheep. *Theriogenology*, 105: 184 - 188. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.020>
- Fernández-Abella, D., Ibáñez, W., y De Mora, M. 2006. Efecto del momento del servicio, número de servicio y período entre servicios, sobre la fertilidad de ovejas Merino sincronizadas con servicio a corral. En *Sitio Argentino de Producción Animal. Producción Ovina*. 18: 49 - 55. En: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina/62-Fernandez_Abella_3.pdf
- Fierro, S., Gil, J., Viñoles, C., and Olivera-Muzante, J. 2013. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology*, 79: 399 - 408. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.10.022>
- Filipiak, Y., Viqueira, M., y Bielli, A. 2016. Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos. *Veterinaria (Montevideo)*, 52: 0 - 2. http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-48092016000200002
- Foradori, C. D., Whitlock, B. K., Daniel, J. A., Zimmerman, A. D., Jones, M. A., Read, C. C., Steele, B. P., Smith, J. T., Clarke, I. J., Elsasser, T. H., Keisler, D. H., and Sartin, J. L. 2017. Kisspeptin stimulates growth hormone release by utilizing neuropeptide y pathways and is dependent on the presence of ghrelin in the ewe. *Endocrinology*, 158: 3526 - 3539. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00303>
- Fortune, J. E. 2002. Activation of primordial follicles. Ernst Schering Research Foundation workshop, 41: 11 - 21. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04960-0_2
- Fortune, J. E., and Quirk S. M. 1988. Regulation of steroidogenesis in bovine preovulatory follicles. *Journal of Animal Science*, 66: 1 - 8. https://doi.org/10.1093/ansci/66.suppl_2.1
- Franco, J., y Uribe-Velásquez, L. F. 2012. Hormonas reproductivas de importancia veterinaria en hembras domésticas rumiantes. *Biosalud*, 11: 41 - 56. <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v11n1/v11n1a06.pdf>.
- García, E. 2004. Distribución de los grupos climáticos de Koppen en México. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (Para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Primera parte. Instituto de Geografía. 4 Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México. pp: 217. <http://www.publicaciones.igg.unam.mx/index.php/ig/catalog/book/83>
- Gastelum-Delgado, M. A., Avendaño-Reyes, L., Álvarez- Valenzuela, F. D., Correa-Calderón, A., Meza-Herrera, C. A., Mellado, M., y Macías-Cruz, U. 2015. Conducta estral circanual en ovejas Pelibuey bajo condiciones áridas del noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 6: 109 - 118. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v6i1.4027>
- Gebreselassie, G., Berihulay, H., Jiang, L., and Ma, Y. 2020. Review on genomic regions and candidate genes associated with economically important production and reproduction traits in sheep (*Ovis aries*). *Animals*, 10. <https://doi.org/10.3390/ani10010033>

- Gimpl, G., and Fahrenholz, F. 2001. The oxytocin receptor system: Structure, function, and regulation. *Physiological Reviews*, 81: 629 - 683. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.629>
- Gonzalez-Bulnes, A., Veiga-Lopez, A., Garcia, P., Garcia-Garcia, R. M., Ariznavarreta, C., Sanchez, M. A., Tresguerres, J. A. F., Cocero, M. J., and Flores, J. M. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, 63: 2523 - 2534. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.10.013>
- Gonzalez-Bulnes, A., Menchaca, A., Martin, G. B., and Martinez-Ros, P. 2020. Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: Where we are and where we should go. In *Reproduction, Fertility and Development*, 32: 441 - 452. <https://doi.org/10.1071/RD18477>
- Goodman, R.C. 1994. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: *The Physiology of Reproduction*. Ed. Knobil, E. and Neill, J.D. Raven Press. New York, pp.659-709.
- Graña-Baumgartner, A., Meikle, A., Fernández-Foren, A., Neimaur, K., Barrera, N., Cuadro, F., Santos-Neto, P. dos, Bosolasco, D., Núñez-Olivera, R., Crispo, M., Menchaca, A., and de Brun, V. 2020. Local influence of the corpus luteum on the ipsilateral oviduct and early embryo development in the ewe. *Theriogenology*, 151: 7 - 15. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.03.028>
- Granados-Villarreal, L. M., Zarco, L., Mejía, O., Sánchez-Torres, M. T., and Pablos-Hach, J. L. 2017. Luteolytic efficiency of reduced doses of cloprostenol in the ewe. Effect of progesterone concentrations at the time of treatment. *Animal Reproduction Science*, 186: 68 - 76. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.09.006>
- Grazul-Bilska, A. T., Dorsam, S. T., Reyaz, A., Valkov, V., Bass, C. S., Kaminski, S. L., and Redmer, D. A. 2020. Follicle-stimulating hormone receptors expression in ovine corpora lutea during luteal phase: effect of nutritional plane and follicle-stimulating hormone treatment. *Domestic Animal Endocrinology*, 71. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2019.106391>
- Habeeb, H. M. H., y Anne Kutzler, M. 2021. Estrus Synchronization in the Sheep and Goat. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 37: 125 – 137. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.10.007>
- Hatler, T. B., Hayes, S. H., Ray, D. L., Reames, P. S., and Silvia, W. J. 2008. Effect of subluteal concentrations of progesterone on luteinizing hormone and ovulation in lactating dairy cows. *The Veterinary Journal* 177: 360 - 368. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.06.003>
- Hernández-Cerón, L. J., y Zarco, Q. A. 1998. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia Veterinaria*, 8: 1 - 28. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwix7u_rysT3AhXMEEQIHUWjDT8QFnoECAUQAQ&url=https%3A%2F%2Ffmvz.unam.mx%2Ffmvz%2Fcienciavet%2Frevistas%2FCVvol8%2FCVv8c1.pdf&usq=A0vVaw1cmBirNYscNuPZ6ACIMwIb

- Hernández-Marín, J. A., Valencia-Posadas, M., Ruíz-Nieto, J. E., Mireles-Arriaga, A. I., Cortez-Romero, C., y Gallegos-Sánchez, J. 2017. Contribución de la ovinocultura al sector pecuario en México. *Agroproductividad*, 10: 87 - 93. <https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/download/975/833>.
- Hirshfield, A. N. 1991. Development of Follicles in the Mammalian Ovary. *International Review of Cytology*, 124: 43 - 101. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61524-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61524-7)
- Hoskins, E. C., Halloran, K. M., Stenhouse, C., Moses, R. M., Dunlap, K. A., Satterfield, M. C., Seo, H., Johnson, G. A., Wu, G., and Bazer, F. W. 2021. Pre-implantation exogenous progesterone and pregnancy in sheep: I. polyamines, nutrient transport, and progestamedins. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12: 12 - 39. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00554-6>
- Ivell, R., Hunt, N., Abend, N., Brackman, B., Nollmeyer, D., Lamsa, J. C., and McCracken, J. A. 1990. Structure and ovarian expression of the oxytocin gene in sheep. *Reproduction, Fertility and Development*, 2: 703 - 711. <https://doi.org/10.1071/RD9900703>
- Kaiser, U. B. 2011. Gonadotropin Hormones. *The Pituitary*. 3 rd ed. chapter 7. pp: 205 - 260 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380926-1.10007-0>
- Keisler, D. H., and Lucy, M. C. 1996. Perception and Interpretation of the Effects of Undernutrition on Reproduction. *Journal of Animal Science*, 74: 1 - 17. https://doi.org/10.2527/1996.74suppl_31x
- Kochman, K., and Gajewska, A. 1996. Biosynthesis of gonadotropins *in vivo*. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 56: 753 - 756. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8917903/>
- Leyva, V., Buckrell, B. C., and Walton, J. S. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, 50: 395 - 416. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(98\)00148-4](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(98)00148-4)
- Li, M., Zu, N., Zhang, C. S., Xie, M. Y., Liu, Y. Z., and Xu, X. J. 2019. Orexin A promotes granulosa cell secretion of progesterone in sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 20: 136 - 142. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31531037/>
- López, J., Salinas, D., Baracaldo-Martínez, A., Gómez, C., Herrera-Ibatá, D., y Atuesta-Bustos, J. E. 2021. Efecto de la dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) asociada a protocolos cortos de sincronización de celo sobre el desempeño reproductivo de ovejas de pelo. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 32: e17775. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i1.17775>
- Lozano-González, J. F., Uribe-Velásquez, L. F., y Henry, O. J. 2012. Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (*Ovis aries*). *Veterinaria y Zootecnia*, 6: 134 - 147.
- Malpoux, B., Vigué, C., Skinner, D. C., Thiéry, J. C., Pelletier, J., and Chemineau, P. 1996. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science*, 42: 109 - 117. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01505-9](https://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01505-9)

- Martinez-Ros, P., Astiz, S., Garcia-Rosello, E., Rios-Abellan, A., and Gonzalez-Bulnes, A. 2018a. Effects of short-term intravaginal progestagens on the onset and features of estrus, preovulatory LH surge and ovulation in sheep. *Animal Reproduction Science*, 197: 317 - 323. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.046>
- Martinez-Ros, P., Lozano, M., Hernandez, F., Tirado, A., Rios-Abellan, A., López-Mendoza, M. C., and Gonzalez-Bulnes, A. 2018b. Intravaginal device-type and treatment-length for ovine estrus synchronization modify vaginal mucus and microbiota and affect fertility. *Animals*, 8. <https://doi.org/10.3390/ani8120226>
- Martinez-Ros, P., Rios-Abellan, A., and Gonzalez-Bulnes, A. 2018c. Influence of Progesterone-Treatment Length and eCG Administration on Appearance of Estrus Behavior, Ovulatory Success and Fertility in Sheep. *Animals*, 9. <https://doi.org/10.3390/ani9010009>
- Martinez-Ros, P., Astiz, S., Garcia-Rosello, E., Rios-Abellan, A., and Gonzalez-Bulnes, A. 2019. Onset of estrus and preovulatory LH surge and ovulatory efficiency in sheep after short-term treatments with progestagen-sponges and progesterone-CIDRs. *Reproduction in Domestic Animals*, 54: 408 - 411. <https://doi.org/10.1111/rda.13317>
- McIntosh, S. Z., Quinn, K. E., and Ashley, R. L. 2022. CXCL12 May drive inflammatory potential in the ovine corpus luteum during implantation. *Reproductive Sciences*, 29: 122 - 132. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00791-0>
- Menchaca, A., and Rubianes, E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility, and Development*, 16: 403 - 413. <https://doi.org/10.10371/RD04037>
- Menchaca, A., Cuadro, F., dos Santos-Neto, P. C., Bosolasco, D., Barrera, N., de Brun, V., and Crispo, M. 2018. Oocyte developmental competence is improved by relatively greater circulating progesterone concentrations during preovulatory follicular growth. *Animal Reproduction Science*, 195: 321 - 328. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.06.010>
- Molina-Mendoza, P., Sánchez-Torres-Esqueda, T., García-Flores, E. O., Martínez-García, A., Cárdenas-León, M., Peralta-Ortiz, J., Cordero-Mora, J. L., Hizarza-Espinoza, A., y Ortega-Cerrilla, M. E. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia*, 39: 11 - 18. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30239102.pdf>.
- Murdoch, W. J. 1985. Follicular determinants of ovulation in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology*, 2: 105 - 121. [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(85\)90001-3](https://doi.org/10.1016/0739-7240(85)90001-3)
- Naitana, S., and Ledda, S. 2020. Reproductive technologies in sheep. *Reproductive Technologies in Animals*. Chapter 3. pp: 31 - 54 <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817107-3.00003-5>
- Nilsson, E., and Skinner, M. K. 2001. Cellular interactions that control primordial follicle development and folliculogenesis. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 8: 17 - 20. [https://doi.org/10.1016/s1071-5576\(00\)00099-x](https://doi.org/10.1016/s1071-5576(00)00099-x)

- OCDE/FAO. 2021. OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas. Estadísticas de la OCDE sobre agricultura (base de datos). <http://dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-en>.
- Olivera-Angel, M., Tarazona, M. A. M., Ruíz, C. T. Z., y Giraldo-Echeverri. C. A. 2007. Vías implicadas en la luteólisis bovina. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20: 387 - 393. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902007000300017
- Oussaid, B., Mariana, J. C., Poulin, N., Fontaine, J., Lonergan, P., Beckers, J. F., and Cognie, Y. 1999. Reduction of the developmental competence of sheep oocytes by inhibition of LH pulses during the follicular phase with a GnRH antagonist. *Journal of Reproduction and Fertility*, 117: 71 - 77. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1170071>
- Payne, A. H., and Hales, D. B. 2004. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocrine Reviews*, 25: 947 - 970. <https://doi.org/10.1210/er.2003-0030>
- Penitente-Filho, J. M., Jimenez, C. R., Zolini, A. M., Carrascal, E., Azevedo, J. L., Silveira, C. O., Oliveira, F. A., and Torres, C. A. 2015. Influence of corpus luteum and ovarian volume on the number and quality of bovine oocytes. *Animal Science Journal*, 86: 148 - 152. <https://doi.org/10.1111/asj.12261>
- Pokharel, K., Peippo, J., Weldenogodguad, M., Honkatukia, M., Li, M. H., and Kantanen, J. 2020. Gene expression profiling of corpus luteum reveals important insights about early pregnancy in domestic sheep. *Genes*, 11. <https://doi.org/10.3390/genes11040415>
- Porter, D. T., Goodman, R. L., Hileman, S. M., and Lehman, M. N. 2021. Evidence that synaptic plasticity of glutamatergic inputs onto KNDy neurones during the ovine follicular phase is dependent on increasing levels of oestradiol. *Journal of Neuroendocrinology*, 33: e12945. <https://doi.org/10.1111/jne.12945>
- Rae, M. T., Kyle, C. E., Miller, D. W., Hammond, A. J., Brooks, A. N., and Rhind, S. M. 2002. The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and female sheep. *Animal Reproduction Science*, 72: 63 - 71. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00068-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00068-4)
- Rathbone, M. J., Macmillan, K. L., Bunt, C. R., and Burggraaf, S. 1997. Conceptual and commercially available intravaginal veterinary drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 28: 363 - 392. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(97\)00089-6](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(97)00089-6)
- Rathbone, M. J., Bunt, C. R., Ogle, C. R., Burggraaf, S., Macmillan, K. L., Burke, C. R., and Pickering, K. L. 2002. Reengineering of a commercially available bovine intravaginal insert (CIDR insert) containing progesterone. *Journal of Controlled Release*, 85: 105 - 115. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00288-2](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00288-2)
- Recabarren, S. E., Muñoz, P., Lobos, A., Vilches, C., y Parilo, J. 2006. Análogo de GnRH disminuye la secreción de hormona folículo estimulante (FSH) en ovejas prepúberes. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 38: 39 - 46. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x2006000100006>

- Rezaei, H. R., Naderi, S., Chintauan-Marquier, I. C., Taberlet, P., Virk, A. T., Naghash, H. R., Rioux, D., Kaboli, M., and Pompanon, F. 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 315 - 326. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.10.037>
- Richards, J. A. S., Liu, Z., and Shimada, M. 2008. Immune-like mechanisms in ovulation. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 19: 191 - 196. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.03.001>
- Robinson, R. S., Woad, K. J., Hammond, A. J., Laird, M., Hunter, M. G., and Mann, G. E. 2009. Angiogenesis and vascular function in the ovary. *Reproduction*, 138: 869 - 881. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0283>
- Rodríguez-Sánchez, Y. I., Sánchez-Torres, M. T., Cordero-Mora, J. L., Figueroa-Velasco, J. L., Cortés-Zorrilla, J., Martínez-Aispuro, J. A., and Cardenas-León, M. 2020. Reusing intravaginal progesterone releasing devices for oestrous synchronization in ewes. *South African Journal of Animal Science*, 50: 529 - 536. <https://doi.org/10.4314/sajas.v50i4.5>
- Rolaki, A., Drakakis, P., Millingos, S., Loutradis, D., and Makrigiannakis, A. 2005. Novel trends in follicular development, atresia and corpus luteum regression: A role for apoptosis. *Reproductive BioMedicine Online*, 11: 93 - 103. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61304-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61304-1)
- Rosales, T. A. M., y Guzmán, S. A. 2008. Apoptosis en la atresia folicular y la regresión del cuerpo lúteo. *Revisión. Técnica Pecuaria en Mexico*, 46: 159 - 182. <https://www.redalyc.org/pdf/613/61346205.pdf>
- Rubianes, E., de Castro, T., and Carbajal, B. 1996. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Canadian Journal of Animal Science*, 76: 473 - 475. <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.4141/cjas96-071>
- Rubianes, E. 2005. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Sitio Argentino de Producción Animal*, https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_caprina/inseminacion_transferencia_caprino/23-fisiologia_ovarica.pdf.
- Salvetti, N. R., Stangaferro, M. L., Palomar, M. M., Alfaro, N. S., Rey, F., Gimeno, E. J., and Ortega, H. H. 2010. Cell proliferation and survival mechanisms underlying the abnormal persistence of follicular cysts in bovines with cystic ovarian disease induced by ACTH. *Animal Reproduction Science*, 122: 98 - 110. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.003>
- Sangha, G. K., Sharma, R. K., and Guraya, S. S. 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 43: 53 - 64. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(01\)00255-3](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(01)00255-3)

- Scaramuzzi, R. J., Adams, N. R., Baird, D. T., Campbell, B. K., Downing, J. A., Findlay, J. K., Henderson, K. M., Martin, G. B., McNatty, K. P., McNeilly, A. S., and Tsonis, C. G. 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, Fertility and Development*, 5: 459 - 478. <https://doi.org/10.1071/RD9930459>
- Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., and Somchit, A. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, 46: 339 - 354. <https://doi.org/10.1051/rnd:2006016>
- Schams, D., and Berisha, B. 2004. Regulation of corpus luteum function in cattle - An overview. *Reproduction in Domestic Animals*, 39: 241 - 251. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00509.x>
- Schumacher, M., Liere, P., and Ghomari, A. 2020. Progesterone and fetal-neonatal neuroprotection. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 69: 50 - 61). <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.09.001>
- Senger PL. 2003. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2nd ed. Pullman (WA): Current Conceptions, Inc.
- Shabankareh, H. K., Habibizad, J., Sarsaifi, K., Cheghamirza, K., and Jasemi, V. K. 2010. The effect of the absence or presence of a corpus luteum on the ovarian follicular population and serum oestradiol concentrations during the estrous cycle in Sanjabi ewes. *Small Ruminant Research*, 93: 180 - 185. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.06.002>
- SIAP. 2020 a. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Población Ganadera. <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762?idiom=es>
- SIAP. 2020 b. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Producción, precio, valor, animales sacrificados y peso de carne en canal ovino. http://nube.siap.gob.mx/cierre_pecuario/
- SIAP. 2021. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Avance mensual de la producción pecuaria carne en canal de ovino. http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp
- Signoret, J. P. 1991. Sexual pheromones in the domestic sheep: Importance and limits in the regulation of reproductive physiology. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 39: 639 - 641. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(91\)90263-5](https://doi.org/10.1016/0960-0760(91)90263-5)
- Signoret, J. P., and Cognie, Y. 1975. Determination of the moment of ovulation in ewe and sow. Influence of environment and hormonal treatment. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 15: 205 - 214. <https://doi.org/10.1051/rnd:19750207>
- Skinner, D. C., Malpaux, B., Delaleu, B., and Caraty, A. 1995. Luteinizing hormone (LH)-releasing hormone in third ventricular cerebrospinal fluid of the ewe: correlation with LH

- pulses and the LH surge. *Endocrinology*, 136: 3230 - 3237. <https://doi.org/10.1210/endo.136.8.7628356>
- Smallman, M. A., Filtz, T. M., and Stormshak, F. 2021. Mifepristone and PGF_{2α} activate phosphatidylinositol hydrolysis in the ovine corpus luteum. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 153. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2021.106538>
- Soriano, G. A. M., de Ruediger, F. R., Zundt, M., Gomes, M. A. da C. N., de Souza, L. F. A., Giometti, I. C., de Paula Nogueira, G., Zanelli, G. R., de Almeida Rego, F. C., and Castilho, C. 2018. Characterization of the LH peak after short and long fixed-time artificial insemination protocols in sheep raised in the tropics. *Animal Science Journal*, 89: 1245 - 1252. <https://doi.org/10.1111/asj.13051>
- Spencer, T. E., Johnson, G. A., Bazer, F. W., and Burghardt, R. C. 2004. Implantation mechanisms: Insights from the sheep. *Reproduction*, 128: 657 - 668. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00398>
- Squires E. J. 2003. *Applied Animal Endocrinology*. CABI Publishing. Wallingford, UK. ISBN 0 85199 594 2. pp 234.
- Stamatiades, G. A., and Kaiser, U. B. 2018. Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: Signaling and gene expression. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 463: 131 - 141. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.10.015>
- Statistical Analysis System Institute (SAS) (2009) *SAS User's Guide: Statistics (Version 5)*. Cary, N.C. U.S.A. Inst. Inc. pp. 584
- Swelum, A. A. A., Saadeldin, I. M., Moumen, A. F., Ali, M. A., Ba-Awadh, H., and Alowaimer, A. N. 2018. Efficacy of using previously used controlled internal drug release (CIDR) insert on the reproductive performance, hormone profiles and economic measures of sheep. *Reproduction in Domestic Animals* 53: 1114 - 1122. <https://doi.org/10.1111/rda.13212>
- Thiéry, J. C., and Martin, G. B. 1991. Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in the sheep - A review. *Reproduction, Fertility, and Development* 3: 137 - 173. <https://doi.org/10.1071/rd9910137>
- Tian, H., Ren, P., Liu, K., Qiu, C., Fan, L., Li J., and Hou, J. 2022. Transcriptomic comparison of ovarian granulosa cells between adult sheep and prepubertal lambs. *BMC Genomics*, 23: 151. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08379-x>
- Tsutsui, K., Ubuka, T., and Ukena, K. 2022. Advancing reproductive neuroendocrinology through research on the regulation of GnIH and on its diverse actions on reproductive physiology and behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 64. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100955>
- Uribe-Velásquez, L. F., Oba, E., y Souza, M. I. L. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P₄) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Archivos de Medicina Veterinaria* 40: 83 - 88. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2008000100012&script=sci_arttext

- Uribe-Velásquez, L. F., Correa-Orozco, A., y Osorio, J. H. 2009. Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. *Biosalud*, 8: 117 - 131. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502009000100015
- Uribe-Velásquez, L. F., Vélez-Marín, M., y Correa-Orozco, A. 2010. Concentraciones plasmáticas de las hormonas esteroides y de LH en respuesta a la administración de prostaglandinas en ovejas Bergamacia. *Revista Científica* 20: 512 - 518. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000500010.
- Uribe-Velásquez, L. F., Osorio, J. H., y Correa-Orozco, A. 2011a. El cuerpo lúteo: una visión inmunológica. *Biosalud*, 10: 87 - 100. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1657-95502011000200009&script=sci_abstract&tlng=es
- Uribe-Velásquez, L. F., Souza, L. M. I., Correa-Orozco, A. 2011b. Efecto de altas concentraciones de progesterona durante la fase luteal temprana sobre la secreción de LH y estradiol en ovejas. *Veterinaria y Zootecnia* 5: 44 - 54. <http://vetzootec.ucaldas.edu.co/downloads/v6n2a10.pdf>.
- Uriol, M., Martinez-Ros, P., Rios, A., Encinas, T., and Gonzalez-Bulnes, A. 2019. Onset of oestrus and periovulatory events in sheep exposed to 5 and 14 days of CIDR treatment with and without eCG. *Reproduction in Domestic Animals*, 54: 1489 - 1492. <https://doi.org/10.1111/rda.13537>
- Vantman, B. D., y Vega, B. M. 2010. Fisiología reproductiva y cambios evolutivos con la edad de la mujer. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 21: 348 - 362. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(10\)70545-9](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(10)70545-9)
- Viñoles, C., Meikle, A., Forsberg, M., and Rubianes, E. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51: 1351 - 1361. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00079-5)
- Viñoles, C. 2003. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. In Department of Clinical Chemistry.
- Viñoles, C., Paganoni, B., Glover, K. M. M., Milton, J. T. B., Blache, D., Blackberry, M. A., and Martin, G. B. 2010. The use of a “first-wave” model to study the effect of nutrition on ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. *Reproduction*, 140: 865 - 874. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0196>
- Wheaton, J. E., Carlson, K. M., Windels, H. F., and Johnston, L. J. 1993. CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 33: 127 - 141. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90111-4](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90111-4)
- Xu, S. S., Gao, L., Xie, X. L., Ren, Y. L., Shen, Z. Q., Wang, F., Shen, M., Eypórsdóttir, E., Hallsson, J. H., Kiseleva, T., Kantanen, J., and Li, M. H. 2018. Genome-wide association analyses highlight the potential for different genetic mechanisms for litter size among sheep breeds. *Frontiers in Genetics*, 9. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00118>

ANEXOS

ANEXO A. Prueba de normalidad y Kruscall Wallis para la variable inicio de estro.

```

DATA FACTORIAL INICIO ESTRO;
INPUT TRAT REP A B HOR;
IF HOR=0 THEN DELETE;
CARDS;
1 1 1 1 0
1 2 1 1 24
1 3 1 1 24
1 4 1 1 24
1 5 1 1 0
1 6 1 1 0
1 7 1 1 0
1 8 1 1 0
1 9 1 1 0
1 10 1 1 0
1 11 1 1 0
1 12 1 1 0
1 13 1 1 0
1 14 1 1 30
1 15 1 1 24
1 16 1 1 0
1 17 1 1 24
1 18 1 1 0
1 19 1 1 0
1 20 1 1 24
2 1 1 2 0
2 2 1 2 0
2 3 1 2 0
2 4 1 2 0
2 5 1 2 0
2 6 1 2 30
2 7 1 2 0
2 8 1 2 0
2 9 1 2 0
2 10 1 2 0
2 11 1 2 0
2 12 1 2 0
2 13 1 2 0
2 14 1 2 0
2 15 1 2 0
2 16 1 2 0
2 17 1 2 0
2 18 1 2 0
2 19 1 2 0
2 20 1 2 0
3 1 2 1 24
3 2 2 1 24
3 3 2 1 24
3 4 2 1 30
3 5 2 1 24
3 6 2 1 24
3 7 2 1 24
3 8 2 1 24
3 9 2 1 24
3 10 2 1 54
3 11 2 1 36
3 12 2 1 24
3 13 2 1 30
3 14 2 1 36
3 15 2 1 30
3 16 2 1 30
3 17 2 1 60
3 18 2 1 54
3 19 2 1 24
3 20 2 1 24
4 1 2 2 24
4 2 2 2 54
4 3 2 2 30
4 4 2 2 30
4 5 2 2 90
4 6 2 2 30
4 7 2 2 24
4 8 2 2 36
4 9 2 2 30
4 10 2 2 30
4 11 2 2 42
4 12 2 2 30
4 13 2 2 24
4 14 2 2 24
4 15 2 2 24
4 16 2 2 30
4 17 2 2 30
4 18 2 2 36
4 19 2 2 24
4 20 2 2 24
PROC PRINT;
PROC UNIVARIATE normal;
class TRAT; run;
PROC FREQ; by TRAT;
RUN;
PROC GLM;
CLASS TRAT A B;
MODEL HOR= A B A*B/SS3;
MEANS A*B/TUKEY LINES;
PROC BOXPLOT; plot HOR*TRAT;
PROC NPARIWAY wilcoxon correct=no;
class trat;
var HOR;
RUN;

```

ANEXO B. Prueba de χ^2 mediante el uso de tablas de contingencia y obtención de frecuencias.

```

DATA GESTACION;
INPUT TRAT REP A B GX;
IF TRAT=2 THEN DELETE;
CARDS;
1 1 1 1 0
1 2 1 1 0
1 3 1 1 1
1 4 1 1 1
1 5 1 1 0
1 6 1 1 0
1 7 1 1 0
1 8 1 1 0
1 9 1 1 0
1 10 1 1 0
1 11 1 1 0
1 12 1 1 0
1 13 1 1 0
1 14 1 1 1
1 15 1 1 1
1 16 1 1 0
1 17 1 1 1
1 18 1 1 0
1 19 1 1 0
1 20 1 1 1
2 1 1 2 0
2 2 1 2 0
2 3 1 2 0
2 4 1 2 0
2 5 1 2 0
2 6 1 2 0
2 7 1 2 0
2 8 1 2 0
2 9 1 2 0
2 10 1 2 0
2 11 1 2 0
2 12 1 2 0
2 13 1 2 0
2 14 1 2 0
2 15 1 2 0
2 16 1 2 0
2 17 1 2 0
2 18 1 2 0
2 19 1 2 0
2 20 1 2 0
3 1 2 1 1
3 2 2 1 1
3 3 2 1 1
3 4 2 1 1
3 5 2 1 1
3 6 2 1 1
3 7 2 1 1
3 8 2 1 1
3 9 2 1 1
3 10 2 1 1
3 11 2 1 1
3 12 2 1 1
3 13 2 1 1
3 14 2 1 1
3 15 2 1 1
3 16 2 1 1
3 17 2 1 1
3 18 2 1 1
3 19 2 1 1
3 20 2 1 1
4 1 2 2 1
4 2 2 2 1
4 3 2 2 0
4 4 2 2 1
4 5 2 2 0
4 6 2 2 1
4 7 2 2 1
4 8 2 2 1
4 9 2 2 1
4 10 2 2 1
4 11 2 2 1
4 12 2 2 1
4 13 2 2 1
4 14 2 2 1
4 15 2 2 1
4 16 2 2 1
4 17 2 2 1
4 18 2 2 1
4 19 2 2 1
4 20 2 2 0
PROC PRINT;
/* Tabla de contingencia con pruebas de Chi
Cuadrada */
PROC FREQ;
by TRAT;
PROC FREQ;
TABLES TRAT*GX/expected CHISQ;
RUN;
/*Prueba no parametrica de Kruskal Wallis */
PROC NPAR1WAY;
class TRAT;
var GX; run;
/*prueba de Nemenyi*/
PROC GLM;
CLASS TRAT A B;
MODEL GX= A B A*B/SS3;
MEANS A*B/TUKEY LINES;
RUN;

```

ANEXO C. Análisis mixto y análisis mixto factorial 2 x 2.

```

DATA PROGEST;
INPUT TRAT $ A B ANIMAL TIEMPO CONC
@@;
CARDS;
T1 1 1 1 1 1.55
T1 1 1 2 1 3.82
T1 1 1 3 1 0.96
T1 1 1 4 1 1.12
T1 1 1 5 1 0.69
T1 1 1 6 1 0.88
T1 1 1 7 1 0.93
T1 1 1 8 1 0.79
T1 1 1 9 1 0.48
T1 1 1 10 1 1.54
T1 1 1 11 1 1.36
T1 1 1 12 1 1.39
T2 1 2 1 1 1.54
T2 1 2 2 1 2.46
T2 1 2 3 1 2.2
T2 1 2 4 1 1.84
T2 1 2 5 1 0.95
T2 1 2 6 1 1.22
T2 1 2 7 1 1.72
T2 1 2 8 1 1.8
T2 1 2 9 1 1.79
T2 1 2 10 1 1.7
T2 1 2 11 1 1.3
T2 1 2 12 1 1.57
T3 2 1 1 1 1.83
T3 2 1 2 1 0.78
T3 2 1 3 1 1.24
T3 2 1 4 1 0.99
T3 2 1 5 1 1.19
T3 2 1 6 1 2.03
T3 2 1 7 1 1.17
T3 2 1 8 1 1.37
T3 2 1 9 1 1.02
T3 2 1 10 1 1.15
T3 2 1 11 1 0.65
T3 2 1 12 1 1.48
T4 2 2 1 1 1.71
T4 2 2 2 1 1.41
T4 2 2 3 1 2.38
T4 2 2 4 1 2.38

```

```

T4 2 2 5 1 3.78
T4 2 2 6 1 3.31
T4 2 2 7 1 2.18
T4 2 2 8 1 2.11
T4 2 2 9 1 1.91
T4 2 2 10 1 1.9
T4 2 2 11 1 4.05
T4 2 2 12 1 3.12

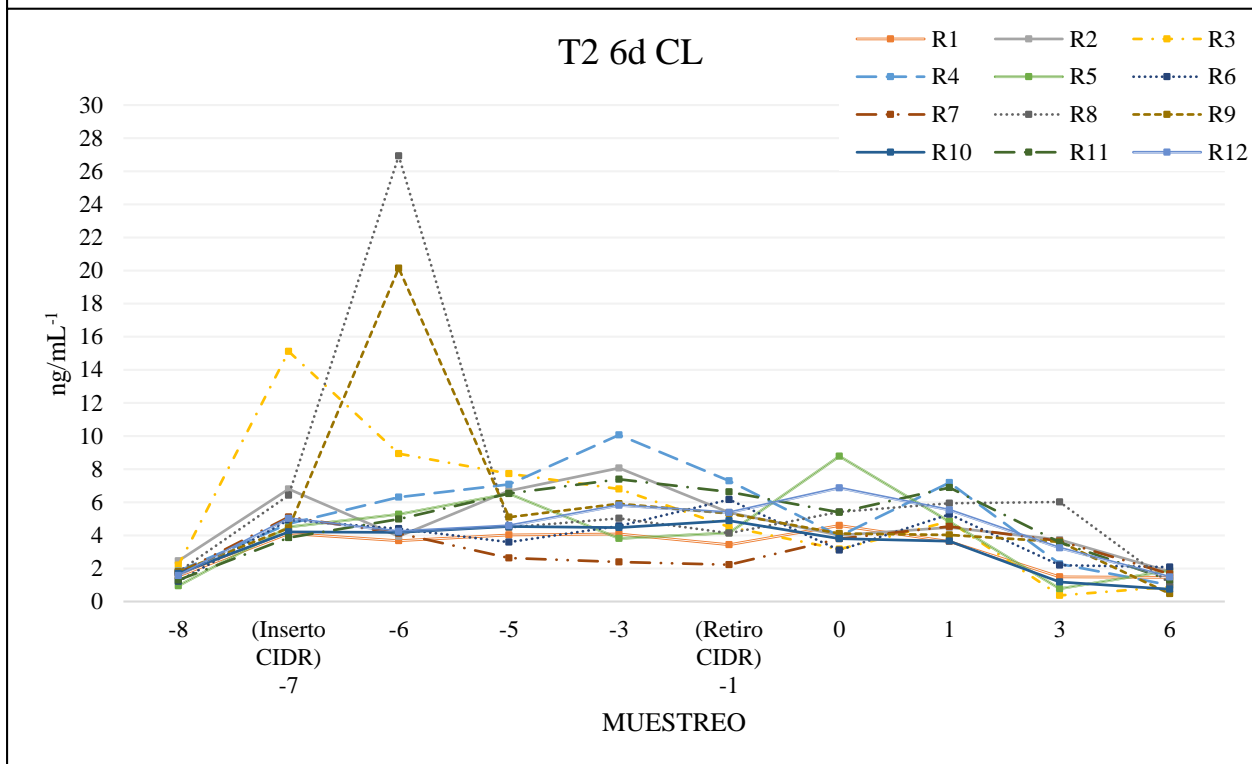
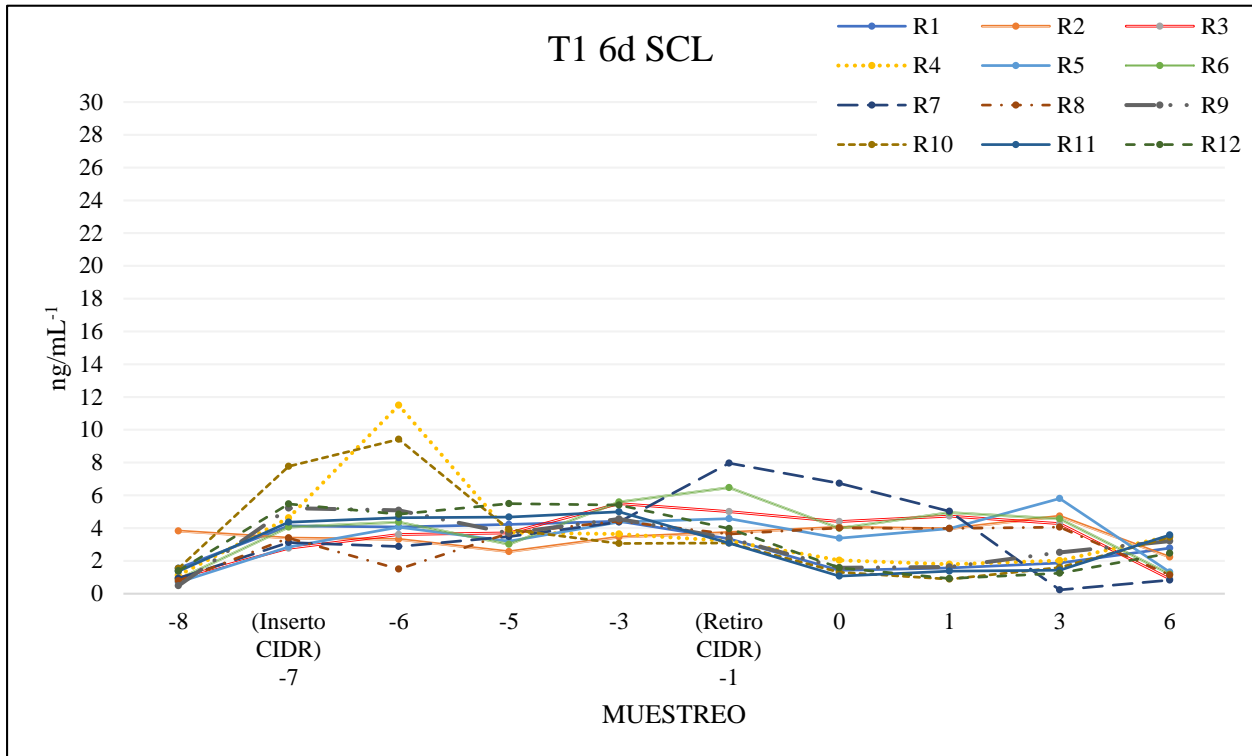
```

```

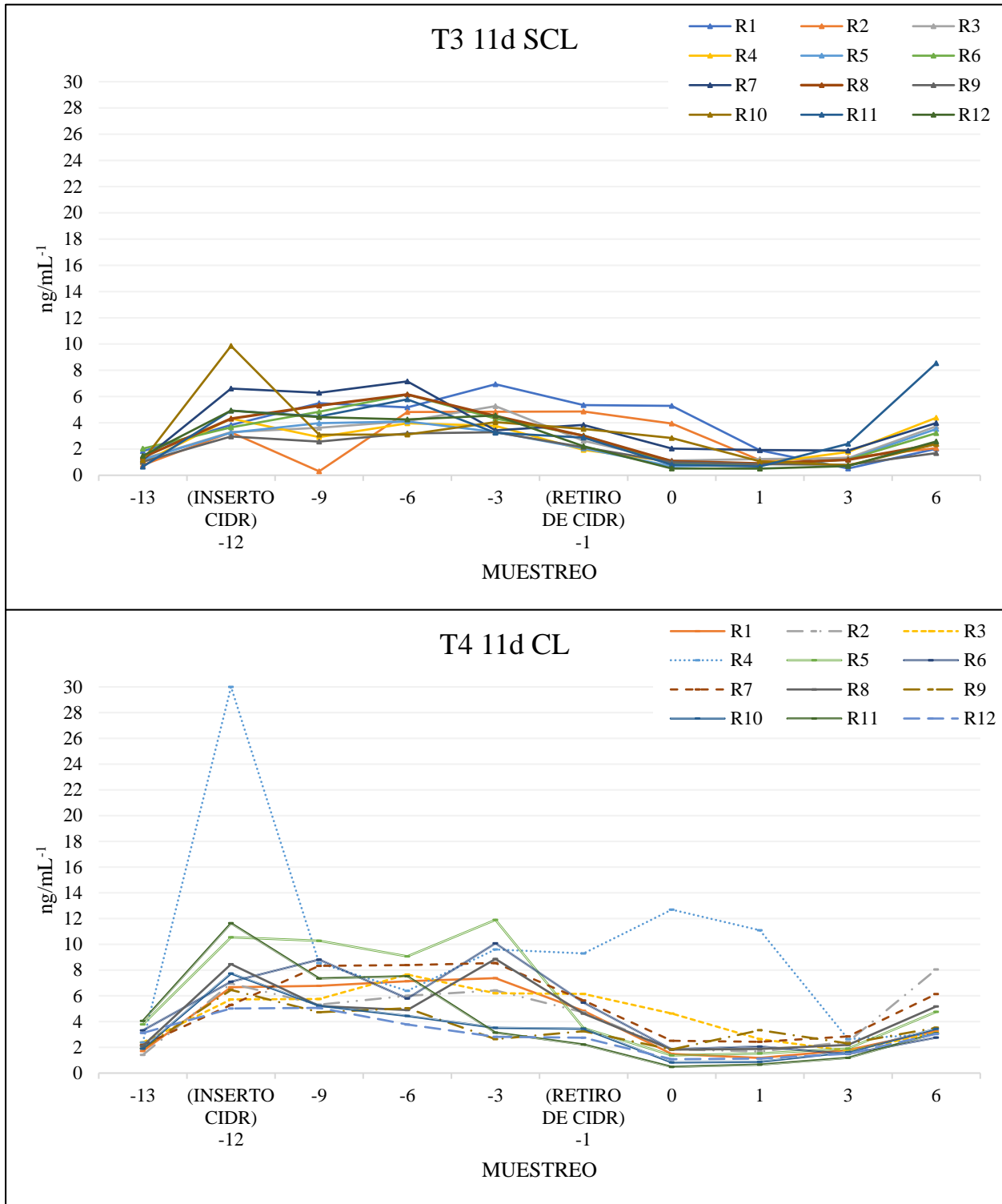
...
PROC PRINT;
PROC MEANS NOPRINT NWAY;
VAR CONC;
CLASS TRAT TIEMPO;
OUTPUT OUT=MIX MEAN=MEDIATRAT
STDERR=MSE STD=DESVEST;
PROC PRINT DATA=MIX;
/* PROCEDIMIENTO MIXED TOMANDO EN
CUENTA TRATAMIENTO ANIMAL Y
MUESTRA (TIEMPO)*/
PROC MIXED DATA=PROGEST;
CLASS TRAT ANIMAL TIEMPO;
MODEL CONC=TRAT ANIMAL(TRAT) TIEMPO
TRAT*TIEMPO/DDFM=SATTERTH;
RANDOM ANIMAL(TRAT);
REPEATED TIEMPO/TYPE=AR(1) SUB=
ANIMAL(TRAT)R RCORR;
LSMEANS TRAT TIEMPO TRAT*TIEMPO/PDIFF
ADJUST=TUKEY SLICE=TIEMPO;
RUN;
/* PROCEDIMIENTO MIXED TOMANDO EN
CUENTA A Y B (TRATAMIENTOS) ANIMAL Y
MUESTRA (TIEMPO)*/
PROC MIXED;
CLASS A B TIEMPO ANIMAL;
MODEL CONC=A B A*B ANIMAL(A*B)
TIEMPO A*TIEMPO B*TIEMPO
A*B*TIEMPO/DDFM=SATTERTH;
REPEATED TIEMPO/TYPE=AR(1) SUB=
ANIMAL(A*B)R RCORR;
RANDOM ANIMAL(A*B);
LSMEANS A B A*B TIEMPO A*TIEMPO
B*TIEMPO A*B*TIEMPO/PDIFF
ADJUST=TUKEY SLICE=TIEMPO;
RUN;

```

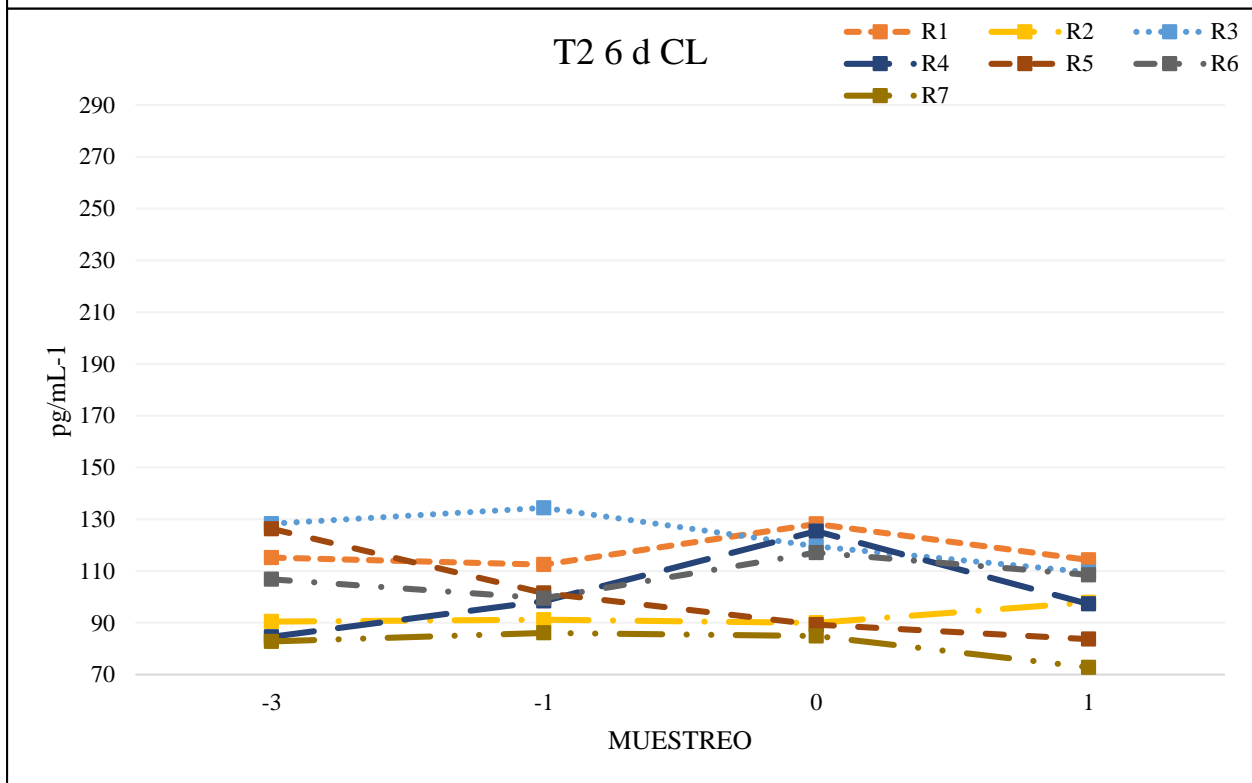
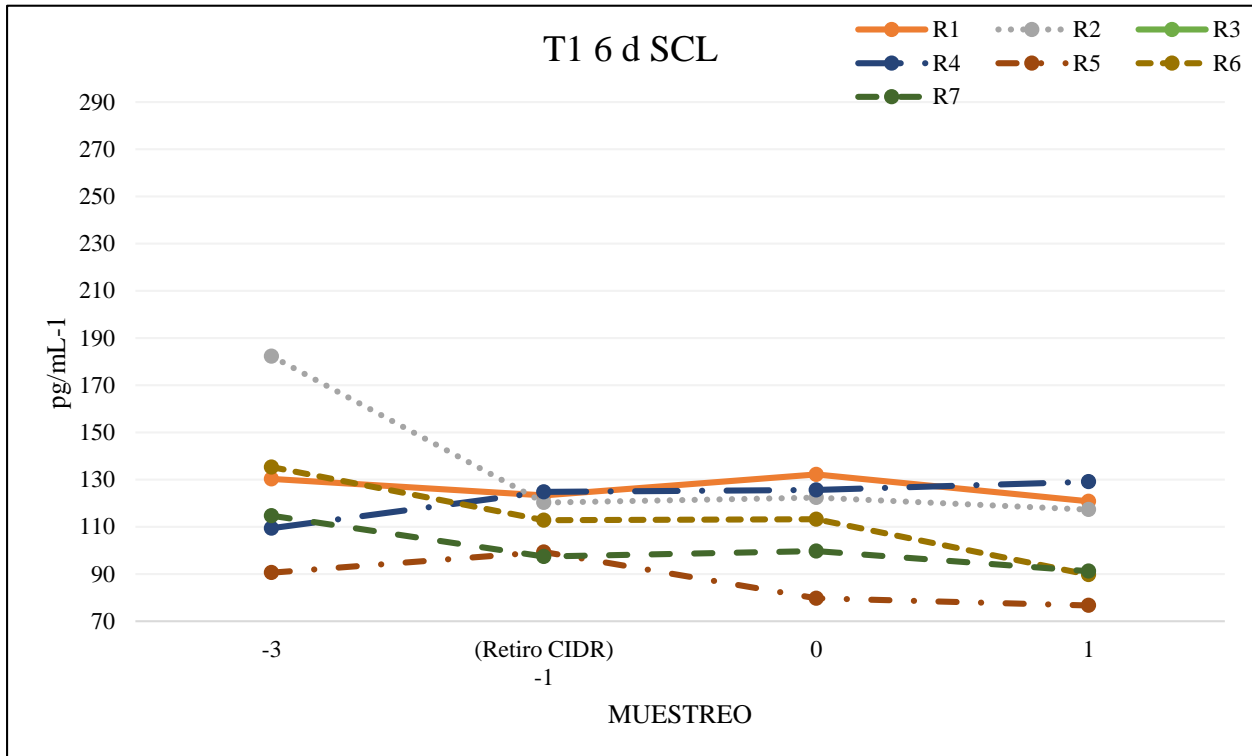
ANEXO D. Concentración de P₄ por tratamiento.



Continuación anexo D



ANEXO E. Concentración de E₂ por tratamiento.



Continuación de anexo E

