



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**MANEJO REPRODUCTIVO DE
OVEJAS DE PELO: EFECTO DE LA
JALEA REAL Y MIEL DE ABEJA
(*Apis mellifera*)**

DAVID SAÚL REYES RAMÍREZ

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

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2022



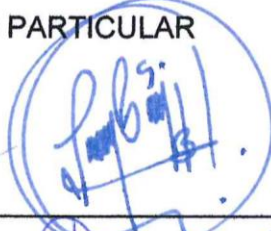




COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **MANEJO REPRODUCTIVO DE OVEJAS DE PELO: EFECTO DE LA JALEA REAL Y MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*)**, realizada por el (la) estudiante: **David Saúl Reyes Ramírez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 DR. JAIME GALLEGOS SANCHEZ
ASESOR	 DR. CÉSAR CORTEZ ROMERO
ASESOR	 DR. OMAR HERNÁNDEZ MENDO
ASESORA	 DRA. SILVIA FRAIRE CORDERO
ASESORA	 DRA. TANIA ARELLANO LEZAMA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, septiembre de 2022

MANEJO REPRODUCTIVO DE OVEJAS DE PELO: EFECTO DE LA JALEA REAL Y MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*)

David Saúl Reyes Ramírez, D.C.
Colegio de Postgraduados 2022

RESUMEN

Se realizaron tres estudios para evaluar el manejo postparto y el efecto de la jalea real y miel de abeja (*Apis mellifera*) en las variables reproductivas de ovejas. En el primer estudio, se evaluaron tres protocolos de sincronización del estro usando 91 ovejas cíclicas, asignadas al: T1: esponja con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona por 9 d + 300 UI de eCG; T2: Dos dosis de 250 mg de cloprostenol con un intervalo de 7d + 300 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) y T3: CIDR con 0.35 g de progesterona + 300 UI de eCG. La respuesta al estro y la fecundidad de las ovejas fue más alto en T3 (86.7% y 1.07 respectivamente). Sin embargo, no se encontraron diferencias en el resto de las variables evaluadas en los tratamientos. El uso de CIDR mejoró la respuesta al estro y la fecundidad. En el segundo estudio, se evaluó el efecto de la suplementación con miel en un protocolo de sincronización del estro en el desempeño reproductivo de ovejas, se utilizaron 60 ovejas cíclicas y 49 lactantes, distribuidas al azar: T1: Cíclicas, dieta sin miel; T2: Lactantes, dieta sin miel; T3: Cíclicas, dieta con 5% de miel; T4: Lactantes, dieta con 5% de miel. T3 incrementó la fecundidad en ovejas, sin embargo el resto de las variables no fueron afectadas por los tratamientos, por lo que el efecto de la suplementación con miel podría ser utilizado en protocolos de manejo reproductivo. En el tercer estudio, se evaluó el efecto de una dosis de jalea real (JR) (2.5 g por 3 d) vía endovenosa (EV), y una dosis de JR (7.5 g d⁻¹) vía subcutánea (SC) en un protocolo de sincronización de estros. Se utilizaron 81 ovejas asignadas al azar: CIDR testigo; CIDR + 300 UI eCG; CIDR + JR EV; CIDR + JR SC. Se observó que el porcentaje de parición fue mayor en el tratamiento CIDR + JR EV (90.5 %). El porcentaje de gestación, prolificidad y fecundidad fue similar en todos los tratamientos. La aplicación de JR EV incrementa el porcentaje de parición.

Palabras clave: reproducción, postparto, ovulación, estro, oveja.

REPRODUCTIVE MANAGEMENT OF HAIR SHEEP: EFFECT OF ROYAL JELLY AND HONEY BEE (*Apis mellifera*)

David Saúl Reyes Ramírez, D.C.
Colegio de Postgraduados 2022

ABSTRACT

Three studies were conducted to evaluate postpartum management and the effect of royal jelly (RJ) and honey (*Apis mellifera*) on the reproductive variables of sheep. In the first study, three estrus synchronization protocols were evaluated using 91 cyclic sheep, randomly assigned: T1: sponge 60 mg of medroxyprogesterone acetate per 9 d + 300 IU of eCG; T2: Two doses of 250 mg cloprostenol with a range of 7d + 300 IU of eCG and T3: CIDR with 0.35 g of progesterone + 300 IU of eCG. The response to estrus and fecundity of sheep was higher in T3 (86.7% and 1.07 respectively). However, no differences were found in the rest of the variables. The use of CIDR improved the response to estrus and fertility. In the second study, the effect of honey supplementation was evaluated in estrus synchronization protocol on the reproductive performance of sheep, 60 cyclic and 49 lactating sheep were used, which were randomly distributed: T1: cyclical, diet without honey; T2: lactating without honey, diet without honey; T3: cyclical with honey, diet with 5% honey during the 9 d of the protocol; T4: lactating with honey, diet with 5% honey during the 9 d of the protocol. T3 increased fertility in sheep, however the rest of the variables were not affected by the treatments, so the effect of honey supplementation could be used in reproductive management protocols. In the third study, the effect of a dose of royal jelly (RJ) (2.5 g per 3 d) intravenously (EV), and a dose of JR (7.5 g per 1 d) subcutaneously (SC) on a estrus synchronization protocol was evaluated. We used 81 sheep randomly assigned: control CIDR; CIDR + 300 IU eCG; CIDR + RJ EV; CIDR + RJ SC. In this study, it was observed that fertility was higher in the CIDR + RJ EV treatment (90.5%). The percentage of gestation, prolificacy and fertility was similar in all treatments. The application of royal jelly intravenously increases fertility.

Keywords: reproduction, postpartum, ovulation, estrus, sheep

DEDICATORIAS

Al Buen **Dios** que guía mi vida.

Con amor a mi esposa **Leticia**, a mis hijos **David, Anahi y Alejandra**, y a mis nietos **Valentina, Camila, Dario, Maria José y Emilia**. Por ser quienes impulsan mi vida brindándome su apoyo, paciencia y comprensión.

A mis padres **Saúl y Milburga**, por su ejemplo de amor, perseverancia y rectitud.

A mis hermanos **Reina, Juan y Angelica**, por su apoyo y por el gran amor que nos une.

A mi tía **Micaela**, por su amor y apoyo.

Al señor **Felipe Balbuena** y la señora **Natividad Perez**, por su cariño incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca otorgada para mis estudios de doctorado.

Al **Colegio de Postgraduados**, campus Montecillo y al posgrado de Recursos Genéticos y Productividad, Ganadería por darme la oportunidad de realizar los estudios de doctorado.

Al **Dr. Jaime Gallegos Sánchez**, por la oportunidad y la confianza que me brindó para trabajar en el grupo de reproducción. Por su amistad, enseñanzas y apoyo.

A la **Dra. Silvia Fraire Cordero**, por todo el tiempo invertido en la revisión, ayuda y sugerencias en la redacción de la tesis. Por su amistad y apoyo.

A la **Dra. Tania Arellano Lezama**, por su apoyo y sugerencias en el trabajo. Por su amistad.

Al **Dr. César Cortez Romero**, Por las sugerencias en la revisión de la presente tesis. Por su amistad.

Al **Dr. Omar Hernández Mendo**, Por las sugerencias en la revisión de la presente tesis. Por su amistad.

Al **Dr. Arturo Pro Martínez**, por la revisión de la tesis y valiosos comentarios.

Al **Dr. Christofer Israel Marquez Hernández**, por la revisión de la tesis y valiosos comentarios.

A mis compañeras y compañeros del Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa), por su valioso apoyo durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE CUADROS	xi
ABREVIATURAS Y SIGLAS	xiii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Fisiología reproductiva	4
Neuroendocrinología reproductiva de la oveja.....	4
Anestro postparto.....	7
Control hormonal de la reproducción en ovejas.....	9
Progesterona	10
Prostaglandina (PG).	10
Gonadotropinas.	10
Propiedades biológicas y farmacéuticas de la Jalea Real y la miel de abeja.....	11
Miel	11
Jalea real	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
CAPITULO I. EVALUACIÓN DE TRES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS DE PELO	25
1.1. RESUMEN	25
1.2. ABSTRACT	26
1.3. INTRODUCCIÓN	27
1.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
1.4.1 Localización del área de estudio.....	28
1.4.2. Animales y alimentación	28
1.4.3. Tratamientos.....	29
1.4.4. Detección de estros	29
1.4.5. Inseminación artificial.....	30
1.4.6. Retorno al estro	31

1.4.7. Diagnóstico de gestación	31
1.4.8. Variables evaluadas.....	31
1.4.9. Análisis estadístico	31
1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
1.5.1. Respuesta e inicio al estro.....	32
1.5.2. Retorno al estro y porcentaje de gestación.....	35
1.5.3. Porcentaje de parición y fecundidad	37
1.5.4. Prolificidad	38
1.6. CONCLUSIONES	39
CAPITULO II. EFECTO DE LA MIEL DE ABEJA (<i>APIS MELLIFERA</i>), EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE OVEJAS DE PELO	40
2.1. RESUMEN	40
2.2. ABSTRACT	41
2.3. INTRODUCCIÓN	41
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
2.4.1. Localización del área de estudio.....	43
2.4.2. Animales y alimentación	43
2.4.3. Tratamientos.....	44
2.4.4. Detección de estros	45
2.4.5. Retorno al estro	45
2.4.6. Diagnóstico de gestación.....	46
2.4.7. Variables evaluadas.....	46
2.4.8. Análisis estadístico	47
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
2.5.1. Respuesta e inicio al estro.....	48
2.5.2. Retorno al estro y porcentaje de gestación.....	49
2.5.3. Porcentaje de parición y fecundidad	51
2.5.4. Prolificidad	53
2.6. CONCLUSIONES	53
CAPITULO III. INFLUENCIA DE LA JALEA REAL EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE OVEJAS DE PELO	55

3.1. RESUMEN	55
3.2. ABSTRACT	56
3.3. INTRODUCCIÓN	56
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS	58
3.4.1. Localización del área de estudio	58
3.4.2. Animales y alimentación	58
3.4.3. Tratamientos	59
3.4.4. Detección de estros	59
3.4.5. Retorno al estro	60
3.4.6. Diagnóstico de gestación	60
3.4.7. Variables evaluadas	60
3.4.8. Análisis estadístico	61
3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
3.5.1. Respuesta e inicio al estro	62
3.5.2. Retorno al estro y porcentaje de gestación	65
3.5.3. Porcentaje de parición y fecundidad	66
3.5.4. Prolificidad	68
3.6. CONCLUSIONES	69
CONCLUSIONES GENERALES	70
LITERATURA CITADA	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Curvas de supervivencia de inicio al estro en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.	35
Figura 2.1. Curvas de supervivencia de inicio al estro en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) durante un protocolo de sincronización.	49
Figura 3.1 Curvas de supervivencia de inicio al estro en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.	64

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1. Respuesta al estro y tiempo de inicio al estro en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.	34
Cuadro 1.2. Retorno al estro con diferentes protocolos de sincronización.....	36
Cuadro 1.3. Porcentaje de gestación en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.....	37
Cuadro 1.4. Porcentaje de parición y fecundidad en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.	38
Cuadro 1.5. Prolificidad en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.	39
Cuadro 2.1. Composición de las dietas utilizadas.....	44
Cuadro 2.2. Respuesta e inicio al estro en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) durante un protocolo de sincronización.....	48
Cuadro 2.3. Retorno al estro en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) durante un protocolo de sincronización.	50
Cuadro 2.4. Porcentaje de gestación en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) durante un protocolo de sincronización.....	51
Cuadro 2.5. Porcentaje de parición y fecundidad en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) durante un protocolo de sincronización.....	52
Cuadro 2.6. Prolificidad en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) durante un protocolo de sincronización.	53
Cuadro 3.1. Respuesta e inicio al estro en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.....	63
Cuadro 3.2. Retorno al estro en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.....	65

Cuadro 3.3. Porcentaje de gestación en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.....	66
Cuadro 3.4. Porcentaje de parición y fecundidad en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.....	68
Cuadro 3.5. Prolificidad de ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.....	69

ABREVIATURAS Y SIGLAS

AMP= Monofosfato de adenosina
10-HDA= 10-hidroxi-trans-2-decanoico
cc= Centímetro cúbico
CIDR= Dispositivos de liberación interna controlada de fármacos
CL= Cuerpo lúteo
cm= Centímetro
d= Día
E₂= Estradiol
eCG= Gonadotropina coriónica equina
EV= Endovenosa
FGA= Acetato de fluorgestona
FSH= Hormona folículo estimulante
GnRH=Hormona liberadora de gonadotropina
h= Hora
HAD= Ácido Hidroxidecanoico
HDAA=Ácido 10-hidroxidecanoico
JR= Jalea real
LaROCA= Laboratorio de reproducción en ovinos y caprinos
LH= Hormona luteinizante
LVE= Limpio, verde y ético
mg= Miligramo
mL= Mililitro
MPA= Acetato de medroxiprogesterona
MVI= Maduración in vitro
ng= Nanogramo
P₄= Progesterona
PG= Prostaglandina
PGF_{2α}=Prostaglandina F_{2α}
ppm= partes por millón
PV= Peso vivo

RE= Receptores de estrógenos

SADER= Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural

SC= Subcutánea

SIAP= Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera

UI= Unidades internacionales

INTRODUCCIÓN

En México la ovinocultura tiene una importante repercusión económica en el medio rural, debido al ingreso generado y al número de productores involucrados en esta actividad (Martínez-González *et al.*, 2010; Martínez-González *et al.*, 2011; Díaz-Sánchez *et al.*, 2018). De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) y la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), el inventario nacional es de 8.7 millones cabezas de ovinos distribuidos en aproximadamente 50,000 unidades de producción, de las cuales 34% dependen totalmente de esta especie (SIAP-SAGARPA, 2021). Los estados de México, Hidalgo y Veracruz cuentan con un rebaño de 1.3, 1.1 y 0.7 millones de cabezas de ovinos, con un valor estimado de 674, 599 y 383 millones de pesos respectivamente; lo anterior hace a estos estados los principales productores a nivel nacional (SIAP-SAGARPA, 2021).

Hoy en día la producción ovina en México es insuficiente para satisfacer la demanda nacional (Bobadilla-Soto *et al.*, 2021) por lo que depende en gran medida de la importación, tanto de animales en pie como en canal, estas importaciones provienen principalmente de Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda y Chile (Anselmo *et al.*, 2012). El consumo nacional de carne ovina es de aproximadamente cien mil toneladas anuales, de las cuales el 61.6% se produce en el país y el 38.4% restante se cubre con importaciones. De las cien mil toneladas, el 95% se consume en forma de barbacoa, principalmente en la Ciudad de México, Estado de México, Tlaxcala y Puebla (Hernández-Cortázar *et al.*, 2014).

Aun cuando existen condiciones favorables para el desarrollo de la ovinocultura en México, como buen precio para los derivados del ovino, la demanda no es satisfecha, la ovinocultura nacional desde hace muchos años se enfrenta a una compleja problemática en la que se puede destacar la pobre eficiencia productiva de los rebaños en donde los índices muestran que en México solo se sacrifica anualmente el 32.8 % de la población ovina, cuando en otros países rebasan el 50 % (Martinez-Gonzalez *et al.*, 2010). Aunado a lo anterior las unidades de producción ovinas se caracterizan por bajos índices reproductivos y por lo tanto también productivos (Hernández-Marín *et al.*, 2017). El

escaso nivel técnico que caracteriza a la mayoría de los ovinocultores, hace difícil la introducción de nuevas biotecnologías de la reproducción.

Siendo el manejo reproductivo un factor determinante en la rentabilidad y sostenibilidad a largo plazo en la ovinocultura, se ha generado la necesidad de desarrollar diferentes tratamientos encaminados a regular la actividad reproductiva, hacer un uso reducido de hormonas, contribuir a la seguridad ambiental y tener una aceptable eficiencia reproductiva. En este sentido la sincronización del estro con progestágenos por medio de dispositivos intravaginales son los más usados como herramienta dentro de las biotecnologías reproductivas, los cuales asociados a procedimientos de inseminación artificial o montas controladas, resultan ser herramientas que mejoran la eficiencia reproductiva de los rebaños (Naqvi *et al.*, 2007; Cordova-Izquierdo *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2010), incrementando la tasa de reproducción, tasa ovulatoria y finalmente el número de corderos por oveja (Naqvi *et al.*, 2007).

La miel es un producto natural elaborado por las abejas (*Apis mellifera*). Blasa *et al.* (2006) en su investigación analizaron diferentes tipos de miel y encontraron diferencias significativas en sus propiedades antioxidantes. La evidencia científica sugiere que los antioxidantes reducen el riesgo de enfermedades crónicas, incluido el cáncer y las enfermedades cardíacas (Bjelakovic *et al.*, 2004; Khalil y Sulaiman, 2010). Datos disponibles en ratas sugieren que la miel puede producir efectos beneficiosos en los órganos reproductores femeninos (Zaid *et al.*, 2010).

Estudios realizados han demostrado que la administración de JR aumenta la hormona progesterona (Husein y Kridli, 2002) y la tasa de gestación (Kridli *et al.*, 2003) en ovejas. También se ha demostrado que la JR modula la actividad estrogénica mediante la interacción con los receptores de estrógenos (RE) y mejora la expresión de ARNm de los genes sensibles al estrógeno (Mishima *et al.*, 2005). El ácido 10-hidroxi-trans-2-decenoico (10-HDA), el ácido 10-hidroxidecanoico (HDAA), el ácido trans-2-decenoico y el 24-metilcolesterol (Suzuki *et al.*, 2008) son compuestos que están presentes en JR y se han identificado como los ensayos de unión a ligando más efectivos para RE. Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue probar el efecto de la miel y jalea real en protocolos de sincronización del estro durante el periodo postparto. La hipótesis

general fue que la miel y JR pueden modificar las variables reproductivas de las ovejas de pelo.

REVISIÓN DE LITERATURA

Fisiología reproductiva

Los patrones de la actividad reproductiva en la oveja adulta no gestante están controlados por dos ritmos distintos. El primero de ellos es un ciclo estral de dieciséis a diecisiete días de duración, el otro es un ritmo de ciclicidad ovárica caracterizado por el cese de los ciclos estrales (anestro estacional) y la restauración de ciclos ovulatorios (estación reproductiva) (Rosa y Bryant 2003; Arroyo-Ledezma *et al.*, 2006; Rawlings y Bartlewski, 2007). Sin embargo, la estacionalidad reproductiva, solo se manifiesta en ovejas de razas desarrolladas y criadas en climas templados. La oveja es un animal poliéstrica estacional con ciclos ovulatorios normales que ocurren, en la mayoría de las razas del hemisferio norte, en otoño e invierno. La duración del ciclo estral en ovinos es notablemente constante a lo largo de la estación reproductiva (Goodman e Inskeep, 2006).

En la oveja adulta se presentan además del anestro estacional, otros dos periodos anovulatorios, uno durante la gestación con duración de alrededor de cinco meses, y otro después del parto (anestro postparto) con duración variable (Ramírez *et al.*, 1988) y está determinado por varios factores como: puerperio, nutrición, nivel de estrés, época del año, presencia del macho, amamantamiento y producción de leche (Ramírez y Quintero, 2001; McNeilly, 2001; Arroyo *et al.*, 2009; Gallegos-Sánchez *et al.*, 2009; Ascari *et al.*, 2016).

Neuroendocrinología reproductiva de la oveja

El ciclo estral está asociado a una serie de eventos endocrinos interrelacionados regulados por el hipotálamo a través de la secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La regulación de la secreción y biodisponibilidad de las hormonas gonadotrópicas dependen de una interacción compleja entre varios factores internos y externos (Gündogan *et al.*, 2003). Los factores externos incluyen las señales fotoperiódicas, las feromonas masculinas, la nutrición y el estrés que afecta la función del eje Hipotálamo-Adenohipófisis-Ovárico. La regulación puede lograrse directamente, a través de los efectos sobre la secreción de GnRH o indirectamente, alterando la

respuesta hipofisaria a GnRH o la sensibilidad ovárica a las gonadotropinas (Rosa y Bryant, 2003; Bartlewski *et al.*, 2011).

En la época reproductiva, un aumento en la frecuencia de pulsos de GnRH/LH provoca la ovulación, lo que se conoce como “pico preovulatorio” (Arroyo-Ledezma *et al.*, 2006). La descarga preovulatoria de GnRH, y posteriormente de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH), alcanzan un pico aproximadamente catorce horas antes de la ovulación. Esta oleada de gonadotropina es propiciada y mantenida por una disminución de progesterona (P_4) y un incremento de la secreción de Estradiol (E_2) al final de la fase lútea, al iniciarse la luteólisis por acción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) liberada por el endometrio uterino (Bartlewski *et al.*, 2011).

Las neuronas de GnRH liberan GnRH de forma episódica en la circulación portal hipofisaria para generar distintos pulsos de LH y FSH a lo largo del ciclo ovárico. Existe una consistencia notable en este patrón de secreción pulsátil con un pulso generado por hora durante la fase folicular y una frecuencia más lenta de un pulso cada 3-4 h después de la ovulación en la fase lútea (Herbison, 2018). Así que la concentración de LH declina gradualmente a partir del día uno hasta el día nueve del ciclo estral y permanece baja; a partir del día doce se incrementa la frecuencia de secreción y disminuye la amplitud de los pulsos. Otro cambio importante que ocurre durante el ciclo es la ocurrencia de un flujo abrupto y masivo de GnRH que genera el aumento preovulatorio de GnRH/LH (Plant, 2012). Las concentraciones de LH aumentan rápidamente el día dieciséis hasta alcanzar un pico de 100 a 200 ng mL⁻¹ (cincuenta a cien veces los niveles basales), para después declinar rápidamente perdurando la oleada doce horas aproximadamente (Goodman e Inskeep, 2006).

El inicio de la oleada generalmente está unido al inicio del comportamiento estral y está determinado por el intervalo entre el pico de LH y la ovulación. En las concentraciones de FSH se observan ligeras fluctuaciones de aumentos y descensos en intervalos de aproximadamente seis días, y un día antes de la oleada preovulatoria de LH, la FSH declina hasta los niveles basales para luego aumentar, coincidiendo el pico de FSH con el pico de LH. De igual manera, las concentraciones de FSH disminuyen simultáneamente con las concentraciones de LH y descienden a niveles basales en un

tiempo de ocho a doce horas después del pico preovulatorio (Goodman e Inskeep, 2006). La FSH volverá a incrementar para tener un segundo pico, aunque ya no llegará a niveles tan altos como el pico anterior. La progesterona y el estradiol modulan la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH y la liberación pulsátil de LH está inversamente relacionada con los niveles circulantes de progesterona lútea (Duggavathi *et al.*, 2005; Barrett *et al.*, 2007). Las concentraciones de P₄ van aumentando gradualmente hasta que el día ocho llegan a una concentración máxima entre 1.5 a 3 ng mL⁻¹ y permanecen constantes hasta el día catorce, después los siguientes dos días decrece rápidamente hasta niveles indetectables. El E₂ se mantiene en concentraciones basales y aumenta inmediatamente después de que inicia la caída de la concentración de P₄ (día 14), aumentando de cinco a diez veces más en los siguientes tres días, dándose el pico de E₂ en el inicio de la oleada preovulatoria de LH (Goodman e Inskeep, 2006).

La secreción de LH durante la fase lútea del ciclo estral de la oveja, refleja principalmente la etapa de desarrollo y la actividad secretora del cuerpo lúteo (CL) y solo un aumento en la amplitud del pulso de LH puede estar vinculado a la fase de crecimiento de los folículos que aparecen tempranamente en el ciclo. Los incrementos en las concentraciones medias y basales de FSH se unen estrechamente con los días de emergencia de las oleadas foliculares a lo largo del ciclo estral de la oveja, y la frecuencia del pulso de FSH aumenta durante la fase de crecimiento del folículo a mitad del ciclo, pero disminuye al inicio del aumento de la secreción de P₄ lútea. Las fluctuaciones regulares de las concentraciones séricas diarias de FSH, con una periodicidad de cuatro a seis días, ocurre durante todo el ciclo ovulatorio (Ginther *et al.*, 1995) y anestro estacional en ovejas (Bartlewski *et al.*, 1999).

La principal característica del patrón de secreción de FSH durante el periodo preovulatorio es la aparición de dos oleadas consecutivas. La primera coincide con la oleada preovulatoria de LH, y la segunda ocurre entre veinte a treinta y seis horas después. La segunda descarga de FSH es de menor amplitud, pero de mayor duración (20-24 h), en comparación con la oleada preovulatoria (11-12 h). La oleada preovulatoria de FSH es precedida por niveles relativamente bajos de FSH, mientras que las concentraciones séricas de LH, E₂ e inhibina están aumentando. Esto sugiere que el

aumento de FSH surge de la acción de GnRH, que anula los efectos inhibitorios sobre la liberación de FSH durante este periodo. La segunda oleada de FSH se produce después de la ovulación, cuando termina la secreción de inhibidores foliculares (Bartlewski *et al.*, 2011).

En la fase lútea existen folículos en desarrollo que sufren atresia. Los folículos en desarrollo durante esta etapa secretan E₂, sin embargo, la P₄ inhibe la secreción pulsátil de LH a nivel central y esto impide la maduración folicular y la ovulación. Durante la fase folicular, cuando la concentración de P₄ disminuye, el E₂ secretado por los folículos en desarrollo estimula la secreción pulsátil de LH y se ejerce un sistema de retroalimentación positivo, favoreciendo la maduración folicular y la ovulación. Por lo general, se observan dos o tres oleadas foliculares durante el ciclo estral de la oveja (Arroyo-Ledezma *et al.*, 2006). La P₄ parece ser una señal endocrina clave que interviene en el control de los aumentos periódicos de las concentraciones séricas de FSH y el número de oleadas foliculares en ovejas cíclicas (Bartlewski *et al.*, 2011).

Son dos los mecanismos responsables de la regulación del número y la periodicidad de los picos de FSH por la P₄ durante el ciclo estral de la oveja. En primer lugar, los gonadotropos hipofisarios son estimulados por la GnRH para sintetizar y liberar LH y FSH de la adenohipófisis, y con la pulsatilidad de GnRH que permanece baja, la secreción de FSH es favorecida sobre la LH. Por lo tanto, bajo la influencia de la P₄ lútea, la sensibilidad de los gonadotropos a la GnRH puede aumentar, resultando en una mayor secreción de FSH de la adenohipófisis. En segundo lugar, las concentraciones circulantes de P₄ pueden determinar la tasa de eliminación de la FSH circulante (Bartlewski *et al.*, 2011).

Los cambios en la secreción de gonadotropinas que ocurren a lo largo del ciclo estral se deben principalmente a los efectos moduladores de las hormonas ováricas E₂ y P₄ en el cerebro y la hipófisis (Goodman, 2015).

Anestro postparto

El anestro postparto es una limitante para mejorar la productividad en ovinos, es una de las causas del bajo desempeño reproductivo (Ascari *et al.*, 2016). El intervalo entre partos

y la reanudación de la actividad reproductiva, es uno de los factores naturales que determinan la frecuencia de pariciones y la productividad en ovinos (Ungerfeld y Sánchez-Dávila, 2012).

Son varios los factores que influyen en la reanudación de la actividad ovárica en las ovejas posparto, como la estación del parto, la lactancia, la frecuencia e intensidad del amamantamiento, la nutrición y la raza. Entre estos factores, se sabe que la nutrición y la condición corporal juegan un papel importante; estos factores afectan el desarrollo folicular a través de varios mecanismos endocrinos, metabólicos y neurales; en consecuencia, influyen en los intervalos entre el parto y el primer estro y entre el parto y la primera ovulación. Por lo tanto, es necesario un apoyo nutricional adecuado durante el período posparto temprano, para que los animales reanuden la actividad ovárica temprana (Ascari *et al.*, 2016).

Las ovejas requieren un período mínimo para la involución uterina (Rubianes y Ungerfeld, 1993) y para el inicio de un patrón de secreción de GnRH/LH que induce el crecimiento folicular para el desarrollo de folículos dominantes a partir de los cuales puede haber ovulación posterior al parto (Bartlewski *et al.*, 2000).

La duración del anestro posparto en ovejas está influenciada principalmente por el amamantamiento (Morales-Terán *et al.*, 2011), que inhibe la secreción de GnRH, reduciendo así la frecuencia de pulsos GnRH y de LH (McNeilly, 2001), pero no afectando la secreción de FSH (Mandiki *et al.*, 1990). La restricción del amamantamiento puede reducir la duración del anestro posparto, aumentar el número de ovejas ovulando y reducir el intervalo a la primera ovulación (Ronquillo *et al.*, 2008; Pérez-Hernández *et al.*, 2009), todas estas respuestas implican un aumento de la secreción pulsátil de GnRH/LH. La respuesta inhibitoria del amamantamiento comienza cuando el cordero succiona la glándula mamaria, generando un estímulo que, junto con las señales visuales y olfativas (Cutshaw *et al.*, 1992), viaja a través de las redes neuronales para llegar al sistema nervioso central. No se sabe exactamente qué áreas del cerebro reciben y responden al estímulo inhibitorio del amamantamiento en ovejas, pero, parece probable que el área preóptica y el núcleo arcuato estén involucrados (Yamada *et al.*, 2007), como se evidenció por la producción de ARNm de c-fos (Smith y Grove, 2002). Por otro lado, se

sabe que el E₂ inhibe la secreción pulsátil de GnRH/LH durante el anestro postparto en ovejas y parece mediar el efecto del amamantamiento (Wright *et al.*, 1981). El efecto del E₂ en las neuronas productoras de GnRH debe ser indirecto, porque esas neuronas no tienen receptores alfa tipo E₂ (ER α) (Herbison y Pape, 2001). Esta interrogante se ha resuelto con el descubrimiento de que las neuronas kisspeptina-neuroquinindinorfina (KNDy) proporcionan acceso al E₂ a las neuronas GnRH (Smith *et al.*, 2014). En ovejas, las concentraciones de kisspeptina son altas en el área preóptica y el núcleo arcuato, y las neuronas de kisspeptina se proyectan hacia las neuronas GnRH del área preóptica, así como hacia el núcleo arcuato y la eminencia media, donde regulan la secreción de GnRH (Clarkson y Herbison, 2006; Smith *et al.* 2007; Smith *et al.* 2011). Además, la kisspeptina participa en la regulación de la secreción de GnRH/LH durante los estados anovulatorios, como el anestro estacional y en ovejas prepuberes (Caraty, *et al.* 2007; Redmond, *et al.* 2011), cuando la kisspeptina (20 $\mu\text{g h}^{-1}$) es suficiente para aumentar la frecuencia del pulso de LH e inducir el pico preovulatorio de LH (Sébert, *et al.* 2010). Hasta la fecha, este concepto no se ha extendido a la anovulación posparto, aunque es probable que el sistema KNDy esté involucrado porque, en ratas lactantes, la expresión del gen KISS1 en el núcleo arcuato está reducida y la aplicación intraventricular de kisspeptina aumenta la frecuencia del pulso de LH y su concentración (Yamada *et al.*, 2007).

Control hormonal de la reproducción en ovejas

La reproducción en ovejas puede ser controlada por diversos protocolos de sincronización. Algunos de estos métodos involucran la administración de hormonas que modifican la cadena de eventos durante el ciclo estral (Lozano-González *et al.*, 2012). En los protocolos de sincronización son usados la P₄ o sus análogos, entre los cuales los más usados son los progestágenos, los cuales imitan la función del CL. Por otra parte, el uso de las prostaglandinas es una alternativa para controlar la reproducción eliminando el CL e induciendo una subsecuente fase folicular acompañada de ovulación. Adicionalmente, eCG, siendo una hormona análoga a la LH, ayuda con la presentación de la ovulación. Por su parte, la GnRH estimula la producción de FSH y LH (Lozano-González *et al.*, 2012).

Progesterona

Los protocolos que utilizan progesterona o sus análogos se basan en la simulación de la acción de la progesterona natural, responsable del control de la secreción de LH (Awel *et al.*, 2009; Abecia *et al.*, 2011). Los tratamientos con P₄ se administran por periodos cortos (cinco a nueve días) y largos (catorce días) (Texeira *et al.*, 2016; Martinez-Ros *et al.*, 2019). Se han utilizado esponjas con diferentes concentraciones de acetato de medroxiprogesterona (MPA) y acetato de fluorgestona (FGA). Sin embargo, el uso prolongado de esponjas intravaginales a menudo se relaciona con vaginitis y secreción purulenta (Martinez-Ros *et al.*, 2018). Las esponjas intravaginales bloquean las secreciones vaginales (Al-Hamedawi *et al.*, 2003) y estimula la proliferación de microorganismos como *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* (Swartz *et al.*, 2014). En comparación con las esponjas, los dispositivos de liberación interna controlada de fármacos (CIDR) reducen la incidencia de vaginitis (Suárez *et al.*, 2006). Es probable que se deba al mejor diseño y estructura del CIDR que permite el drenaje de las secreciones vaginales (Martinez-Ros *et al.*, 2018).

Prostaglandina (PG).

La PGF_{2α} y sus análogos sintéticos se utilizan ampliamente para sincronizar el estro. Sin embargo, solo es efectivo durante la estación reproductiva debido a la presencia del CL activo. Además, el CL de la oveja responde a la PGF_{2α} el día tres después de la ovulación (Fierro *et al.*, 2013). Por lo tanto, el momento de administración de PG es fundamental para la respuesta al estro y, a menudo, se recomienda la aplicación de dos dosis de PG para la sincronización con un intervalo entre aplicaciones de siete días (Contreras–Solís *et al.*, 2009).

Gonadotropinas.

La función de las gonadotropinas en los protocolos de sincronización es estimular y lograr la sincronía en el crecimiento folicular, la maduración y la ovulación. Se han empleado una amplia variedad de gonadotropinas que incluyen eCG (Macías-Cruz *et al.*, 2013), GnRH (Titi *et al.*, 2010) y FSH (Forcada *et al.*, 2011). La incorporación de gonadotropinas que favorezcan el inicio de los eventos preovulatorios es de uso común para incrementar

la tasa de eficiencia en protocolos de sincronización de estros con dispositivos intravaginales en pequeños rumiantes (Abecia *et al.*, 2011; Moradi Kor y Ziaei, 2012), especialmente la eCG (Moakhar *et al.*, 2012; Martínez-Ros *et al.*, 2018). Se reconoce que la eCG favorece las tasas de presentación de estro (Santos *et al.*, 2011), distribución de los estros en cortos períodos de tiempo (Luther *et al.*, 2007) y un incremento en la tasa ovulatoria y porcentaje de parición (Wildeus, 2000; Zeleke *et al.*, 2005; Shahneh *et al.*, 2008).

Propiedades biológicas y farmacéuticas de la Jalea Real y la miel de abeja

Los productos apícolas constituyen uno de los grupos de productos naturales más utilizados por el ser humano desde la antigüedad. Su éxito en el reino animal se debe en gran parte a la química y la aplicación de sus productos: la miel, la cera de abeja, el veneno de abeja, el propóleo, el polen y la jalea real son sintetizados químicamente por las propias abejas. La miel, el propóleo y el polen se derivan de plantas y se modifican y manipulan para el uso propio de las abejas. El uso de estos productos explica el asombroso éxito de las abejas (Mizrahi y Lensky, 2013).

En los últimos años se ha visto la rápida aplicación de productos apícolas tanto en la medicina tradicional como en la moderna. Actualmente, muchos estudios están dirigidos a investigar los beneficios directos para la salud y las propiedades farmacológicas de los productos apícolas debido a su eficacia, lo que lleva al creciente desarrollo de nutracéuticos y alimentos funcionales a partir de estos productos. El concepto de alimento funcional se refiere a alimentos que tienen la capacidad de promover una mejor salud fisiológica o psicológica en comparación con los alimentos tradicionales. Estos efectos contribuyen positivamente a un excelente mantenimiento de la salud, bienestar y reducción de enfermedades crónicas (Pasupuleti *et al.*, 2017).

Miel

La miel es un producto natural elaborado por las abejas (*Apis mellifera*). Tiene características sensoriales y fisicoquímicas muy variables debido a las condiciones ambientales, así como a la diversa procedencia de las plantas de las que se cosecha. Por lo tanto, los diferentes tipos de miel tienen concentraciones fenólicas variables que

contribuyen a diferentes actividades antioxidantes. Además, el procesamiento, la manipulación y el almacenamiento de la miel pueden influir en su composición (Gheldof *et al.*, 2002; Khalil, *et al.*, 2010; Turkmen *et al.*, 2006).

Composición química de la miel

La miel es un alimento natural compuesto principalmente por azúcares y agua junto con constituyentes menores como minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos, flavonoides y otros compuestos fenólicos y sustancias aromáticas. Esta composición, y especialmente los componentes minoritarios, están relacionados con el origen botánico, geográfico y puede sufrir cambios importantes en función del tiempo y las condiciones de almacenamiento (Santos-Buelga y González-Paramás, 2017).

Carbohidratos

La miel es una solución acuosa concentrada compuesta principalmente de una mezcla de fructosa y glucosa, pero también contiene pequeñas cantidades de otros 30 azúcares complejos. Debido a su alto contenido de azúcar, en promedio 80 a 83%, la miel es una excelente fuente de energía (3.04kcal g^{-1}). La producción de esta solución de azúcar sobresaturada solo es posible a temperatura de la colmena (30°C) y mediante la adición de la enzima invertasa, secretada por las glándulas hipofaríngeas de las abejas, que invierte la sacarosa del néctar, en glucosa y fructosa (Crane, 1990). Los monosacáridos representan aproximadamente el 75% de los azúcares que se encuentran en la miel, junto con el 10 a 15% de disacáridos y pequeñas cantidades de otros azúcares (da Silva *et al.*, 2016).

Proteínas y aminoácidos

El contenido medio de proteína de la miel de *Apis mellifera* es de alrededor de 0.2 a 1.6%, aunque este contenido es bastante variable dependiendo de diferentes factores, como la fuente vegetal del néctar y polen (Lee *et al.*, 1998). La principal proteína identificada en la miel es la proteína principal de la jalea real apalbumina- α (MRJP1), que es similar a la apalbúmina-1. La cantidad media de MRJP1 medida en relación con el contenido total de proteínas se estima en 23.4% (Bilikova y Simuth, 2010). Además, se

han detectado hasta nueve proteínas importantes de JR en muestras de miel de diferentes orígenes botánicos y geográficos (Simuth *et al.*, 2004; Won *et al.*, 2009; Bilikova y Simuth, 2010; Rossano *et al.*, 2012).

La proteína de la miel consiste principalmente en enzimas secretadas por las glándulas salivales e hipofaríngeas de las abejas obreras (White, 1978). La más abundante es la α -glucosidasa (invertasa o sacarasa), presente en la glándula hipofaríngea de la abeja obrera, que alcanza aproximadamente el cincuenta por ciento de la proteína total, mientras que se estima que la amilasa y la glucosa oxidasa representan cada una dos a tres por ciento (Ohashi *et al.*, 1999).

La miel también contiene aminoácidos libres en un nivel de alrededor del uno por ciento de sus componentes. Se han considerado tres posibles fuentes que pueden contribuir a la composición de aminoácidos en la miel: néctar (Wunnachit *et al.*, 1992), polen (Singh y Singh, 1996) y las propias abejas, especialmente para la prolina (Ball, 2007; Truzzi *et al.*, 2014). En la miel se han descrito un total de veintiséis aminoácidos libres en algunos tipos de miel (González-Paramás *et al.*, 2006). La prolina es la predominante y representa entre el cincuenta y el ochenta y cinco por ciento de esta fracción, seguida de la fenilalanina (Belitz *et al.*, 2004).

Los ácidos orgánicos están presentes en la miel en niveles alrededor de 0.5-0.6% y contribuyen a sus propiedades organolépticas y fisicoquímicas (acidez, pH y conductividad eléctrica) (Mato *et al.*, 2006). Estos ácidos se obtienen directamente del néctar o se derivan de los azúcares por la actividad de las enzimas secretadas por las abejas al transformar el néctar en miel. Algunos autores han informado del aumento de la acidez con el tiempo, así como durante la fermentación como resultado de la transformación de los azúcares y alcoholes de la miel en ácidos por la acción de las levaduras de la miel (Cavia *et al.*, 2007).

Se han identificado hasta treinta y dos ácidos orgánicos en la miel, incluidos los ácidos acético, butírico, cítrico, fórmico, fumárico, glioxílico, propiónico, láctico, maléico, málico, oxálico y succínico (Wilkins *et al.*, 1995). El ácido glucónico (producido por la acción de la glucosa oxidasa sobre la glucosa) es el ácido mayoritario en la miel (Daniele *et al.*,

2012). La importancia de los ácidos orgánicos en la miel es diversa e incluye sus actividades antibacterianas y antioxidantes (Santos-Buelga y González-Paramás, 2017).

Minerales y oligoelementos

Los minerales de la miel se originan en el suelo, se transportan en las plantas a través de las raíces, tallos y llegan a la miel a través del néctar (Anklam, 1998), aunque también pueden provenir de fuentes antropogénicas, como la contaminación ambiental o estar influenciadas por las prácticas apícolas y el procesamiento de la miel (Bogdanov *et al.*, 2007). El peso total de los elementos minerales en la miel (cenizas totales) varía dentro de un amplio intervalo de valores (0.02–1%) (Silva *et al.*, 2009). Se han reportado hasta cincuenta y cuatro minerales en la miel (Batista, *et al.*, 2012). En diferentes estudios se encontró que el K fue el elemento predominante en la miel que representa del cincuenta al setenta y cinco por ciento del contenido mineral total (Abu-Tarboush *et al.*, 1993; Terrab *et al.*, 2004; Kadri *et al.*, 2017), seguido de Ca, Na o Mg según los tipos de miel (González-Paramás *et al.*, 2000; Atanassova y Lazarova, 2012; Mondragón-Cortez *et al.*, 2013). Otros minerales como Fe, Si y S están presentes en cantidades intermedias. También se reporta la presencia de oligoelementos que aparentemente cuando algunos de ellos (Cd, Cu, Co, Ni o Pb) no se detectan en la miel, es una indicación de que no ha ocurrido contaminación relevante durante el procesamiento, envío y almacenamiento (Baroni *et al.*, 2009).

Vitaminas

La miel contiene cantidades pequeñas pero detectables de vitaminas, en su mayoría hidrosolubles debido a la naturaleza acuosa de la matriz, aunque no debe considerarse una buena fuente de vitaminas en absoluto, porque sus concentraciones están en el rango de ppm. La mayoría de las vitaminas provienen de los granos de polen presentes en suspensión, por lo que la filtración comercial de mieles reduce drásticamente su contenido debido a la eliminación casi completa del polen (Ciulu *et al.*, 2011).

El ácido ascórbico es la vitamina predominante y generalmente se encuentra en casi todos los tipos de miel; se ha indicado que el contenido medio es de alrededor de 2 mg / 100 g (Alvarez-Suárez *et al.*, 2010). En la miel también están presentes diferentes

vitaminas del complejo B, como la tiamina (B1), la riboflavina (B2), el ácido nicotínico (B3), el ácido pantoténico (B5), la biotina (B8) y el ácido fólico (B9) (Santos-Buelga y González-Paramás, 2017).

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son uno de los grupos más grandes de metabolitos secundarios de las plantas, biosintetizados principalmente para la protección contra el estrés biótico, abiótico y el daño oxidativo, y transferidos a través del néctar a la miel. Los compuestos fenólicos de la miel se pueden clasificar en dos familias principales: ácidos fenólicos y flavonoides (Santos-Buelga y González-Paramás, 2017). La miel puede contener varios ácidos carboxílicos aromáticos y aril-alifáticos, principalmente hidroxilo y metoxi-derivados del ácido benzoico y cinámico, que contribuyen a sus propiedades sensoriales (Anklam, 1998). Entre otros, se ha descrito en la miel la presencia de ácidos benzoico, hidroxibenzoico, salicílico, gálico, vanílico, siríngico, protocatechico, cafeico, cumarico, ferúlico, clorogénico, fenilacético y rosmarínico (Dimitrova *et al.*, 2007; Trautvetter *et al.*, 2009).

Propiedades antioxidantes de la miel

Blasa *et al.* (2006) en su investigación analizaron diferentes tipos de miel y encontraron diferencias significativas en sus propiedades antioxidantes. La evidencia científica sugiere que los antioxidantes reducen el riesgo de enfermedades crónicas, incluido el cáncer y las enfermedades cardíacas (Bjelakovic *et al.*, 2004; Khalil y Sulaiman, 2010). La principal característica de un antioxidante es su capacidad para eliminar los radicales libres que están presentes en los sistemas biológicos de una amplia variedad de fuentes. Estos radicales libres pueden oxidar ácidos nucleicos, proteínas, lípidos o ADN y tienen el potencial de iniciar una enfermedad degenerativa. Por lo tanto, los alimentos que contienen niveles significativos de antioxidantes que pueden inhibir o retrasar la oxidación de un sustrato representan una elección de dieta lógica y saludable. Los antioxidantes como los ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides eliminan los radicales libres como el peróxido, el peróxido de hidrógeno o el lípido peroxilo y así inhiben los mecanismos oxidativos que pueden conducir a enfermedades degenerativas

(Kandaswani y Middleton, 1994; Middleton *et al.*, 2000; Jendekova *et al.*, 2006; García y Castillo, 2008). La actividad de captación de radicales libres de los antioxidantes en la miel se ha investigado sustancialmente. Taormina *et al.* (2001) y Blasa *et al.* (2007) han sugerido que el contenido de antioxidantes en la miel es el factor principal para su efecto terapéutico, y se ha observado que reduce la incidencia de enfermedades crónicas, incluidas las cardiopatías y algunos cánceres.

Efecto de la miel en la reproducción

Varios estudios han demostrado los efectos benéficos de los antioxidantes para prevenir o reducir el daño testicular en roedores causado por estrés oxidativo (Agarwal *et al.*, 2005). El efecto antioxidante de la miel se asoció con una mejoría del daño testicular como lo demuestra un mayor recuento de células de Leydig, un porcentaje reducido de túbulos con pérdida de células germinales, un mayor diámetro de los túbulos seminíferos y tamaño del epitelio (Mohamed *et al.*, 2011). Estos datos sugieren que la miel puede proteger o mejorar el daño testicular inducido por humo de tabaco en ratas a través de su efecto antioxidante. Erejuwa *et al.* (2011) informaron que la suplementación con miel en ratas normales mejoró la espermatogénesis. En un estudio realizado por Asiyah *et al.* (2011) demostraron los efectos beneficiosos de la miel sobre la motilidad y la morfología de los espermatozoides en ratas. Abdul-Ghani *et al.* (2008) también reportaron que la suplementación con miel en ratas provocó un aumento del recuento de espermatozoides en el epidídimo y mejoró la actividad de las enzimas marcadoras testiculares para la espermatogénesis, como lo demuestra el aumento de sorbitol deshidrogenasa y la reducción de lactato deshidrogenasa. Los datos disponibles en ratas ovariectomizadas también sugieren que la miel puede producir efectos benéficos en los órganos reproductores femeninos. Zaid *et al.* (2010), en un estudio con ratas *Sprague Dawley* de tres meses de edad suplementadas con miel en diferentes concentraciones mostraron que dosis bajas de suplemento de miel mejoraron el espesor epitelial, el peso de la vagina y el útero, así como la capacidad antioxidante. Este resultado indicó que la miel poseía propiedades estrogénicas que prevenían la atrofia del epitelio uterino y vaginal resultante de la deficiencia de estrógenos en casos de menopausia quirúrgica inducida por ovariectomía. Los flavonoides y los ácidos fenólicos fueron los responsables del

efecto estrogénico del suplemento de miel (Mosavat *et al.*, 2014), lo que contribuyó a contrarrestar los síntomas asociados a la menopausia. El estudio también informó que las ratas, que fueron sometidas a actividad física intensa y recibieron suplemento de miel, mantuvieron su peso uterino y vaginal. Además, el suplemento de miel aumentó los niveles de progesterona y, en menor medida, el nivel de estrógeno en las ratas suplementadas.

Jalea real

La JR es producida por las glándulas hipofaríngeas de las abejas obreras y está compuesta por una secreción ácida de color blanco amarillento (Ramadan y Al-Ghamdi, 2012). Se considera un producto vital en la producción de abejas melíferas con altas propiedades biológicas y nutricionales. Generalmente se compone de agua (20 a 70%), proteínas (16 a 18%), azúcares (siete a dieciocho por ciento), lípidos (tres a ocho por ciento) minerales, vitaminas, aminoácidos esenciales (Sabatini, 2009) y compuestos bioactivos como la acetilcolina, péptidos, las hormonas testosterona, progesterona, prolactina, estradiol, ácido hidroxidecanoico (HAD), monofosfato de adenosina (AMP) - N1 óxido, polifenoles, flavonoides y adenosina (Maghsoudlou *et al.*, 2019). Posee propiedades biológicas tales como propiedades antibacterianas (Park *et al.*, 2019), anticancerígenas (Shirzad, 2013), inmunomoduladoras (Gasic, 2007) y antioxidantes (Silici *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2019; Peteliln *et al.*, 2019). Debido a sus compuestos bioactivos, la JR puede considerarse como un alimento funcional y nutracéutico (Maghsoudlou *et al.*, 2019).

Composición química de la jalea real

La JR tiene una composición relativamente constante entre las colonias, razas, época de producción y origen geográfico (Sabatini *et al.*, 2009).

Contenido de proteína

Las proteínas representan más del cincuenta por ciento del peso seco de JR. Las principales proteínas de la jalea real (MRJP) son una familia de proteínas secretadas por las abejas (*Apis mellifera*) y se considera que desempeñan funciones fisiológicas en el

desarrollo de la abeja reina (Nozaki *et al.*, 2012). Estudios han demostrado que la familia MRJP, de la cual hay nueve miembros (MRJP1, MRJP2, MRJP3, MRJP4, MRJP5, MRJP6, MRJP7, MRJP8 Y MRJP9), representan la mayoría de las proteínas solubles en JR (Albert y Klaudiny, 2004; Drapeau, *et al.*, 2006; Schonleben, *et al.*, 2007; Tamura, *et al.*, 2009; Ramadan y Al-Ghamdi, 2012; Buttstedt, *et al.*, 2014).

La JR es rica en aminoácidos, se han identificado al menos diecisiete; valina (1.6 %), glicina (3.0%), isoleucina (1.6%), leucina (3.0%), prolina (3.9%), treonina (2.0%), serina (2.9%), metionina (3.7%), fenilalanina (0.5%), ácido aspártico (2.8%), ácido glutámico (8.3%), tirosina (4.9%), lisina (2.9%), arginina (3.3%), y triptófano (3.4%) (Barnutiu *et al.*, 2011).

Varios estudios han indicado que los péptidos tienen actividad antioxidante (Shahidi y Zhong 2011). Se aislaron péptidos antioxidantes de JR, como Ala-Leu, Phe-Lys, Phe-Arg, Ile-Arg, Lys-Phe, Lys-Leu, Lys-Tyr, Arg-Tyr, Tyr-Asp, Tyr-Tyr, Leu -Asp-Arg y Lys-Asn-Tyr-Pro, con fuerte actividad captadora de radicales hidroxilos. Tres dipéptidos (Lys-Tyr, Arg-Tyr y Tyr-Tyr) que contenían residuos de Tyr en el C-terminal mostraron una fuerte actividad de eliminación de peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos (Guo *et al.*, 2009).

Contenido de carbohidratos

Los principales carbohidratos presentes en JR son fructosa y glucosa, con una composición química similar a la de la miel. Generalmente el contenido de fructosa y glucosa representa el 90% del total de azúcares contenidos en JR. Otros oligosacáridos presentes en JR en cantidades mucho más pequeñas son maltosa, trehalosa, melibiosa, ribosa y erlosa (Sabatini *et al.*, 2009; Lercker *et al.*, 1992). Según el análisis de HPLC de JR, el contenido de fructosa y glucosa varía entre 4.06 y 6.4% y 5.07 y 8.2%, respectivamente, con un contenido relativamente alto de sacarosa (0.8 y 3.6%). Maltosa y trehalosa estaban presentes en cantidades más pequeñas (0.3% para ambas) (Popescu *et al.*, 2009).

Contenido de lípidos

Los lípidos representan del tres al diecinueve por ciento del peso seco de JR (Boselli *et al.*, 2003) son los segundos compuestos bioactivos más importantes después de las proteínas. Una característica única de JR es su contenido de lípidos y ácidos grasos (Kodai *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2013). La composición de lípidos de JR es de ochenta a ochenta y cinco por ciento de ácidos grasos, cuatro a diez por ciento de fenoles, cinco a seis por ciento de ceras, tres a cuatro por ciento de esteroides y 0.4 a 0.8% de fosfolípidos (Terada *et al.*, 2011). Los ácidos grasos de JR son ácidos grasos libres de cadena corta que contienen de ocho a doce carbonos y generalmente son ácidos grasos hidroxilo o dicarboxílicos, diferentes de los ácidos grasos en animales y plantas que se encuentran principalmente en las formas tri, di y monoglicéridos con cantidades menores de ácidos grasos libres (Melliou y Chinou 2005). Lercker *et al.* (1981) descubrieron originalmente que los ácidos grasos en JR consisten principalmente en ácidos 10-hidroxi-2-decenoico (10-HDA) y 10-hidroxidecanoico (10-HDDA), que constituyen entre ellos al menos el 60-80% de la cantidad total de ácidos orgánicos encontrado en JR. La fracción de ácidos grasos consta de treinta y dos por ciento de ácido trans -10-hidroxi-2-decenoico, veinticuatro por ciento de ácido glucónico, veintidós por ciento de ácido 10-hidroxidocanoico, cinco por ciento de ácidos dicarboxílicos y varios otros ácidos (Terada *et al.*, 2011). El principal ácido graso de JR es el ácido trans -10-hidroxi-2-decenoico, y hasta la fecha no se ha informado de ningún otro producto natural que lo contenga, ni siquiera en otros productos apícolas (Melliou y Chinou, 2005).

Vitaminas

La JR es excepcionalmente rica en vitaminas. La riboflavina, la tiamina, la niacina y el ácido fólico son bastante uniformes, mientras que la piridoxina, la biotina, el ácido pantoténico y el inositol están presentes en una variación mayor (Mohebodini *et al.*, 2018). También se han encontrado trazas de vitamina C en JR pero no contiene vitaminas A, D y K (Ramadan y Al-Ghamdi, 2012)

Minerales y oligoelementos

El contenido total de cenizas en JR fresca es de alrededor del uno por ciento y alrededor del dos a tres por ciento en JR liofilizada que se determina mediante absorción atómica (Nabas *et al.*, 2014; Melliou y Chinou, 2014; Popescu *et al.*, 2008; Bărnăuțiu *et al.*, 2011). Los elementos principales son K, P, S, Na, Ca, Al, Mg, Zn, Fe, Cu y Mn, pero hay trazas (0.01-1 mg / 100 g) de Ni, Cr, Sn, W, Sb, Ti y Bi (Melliou y Chinou, 2014; Ramadan y Al-Ghamdi, 2012).

Efectos de la jalea real en la reproducción

La JR aumenta la fertilidad de mujeres y hombres, mejora el equilibrio hormonal y la fertilidad al aumentar la calidad de los espermatozoides y los óvulos (Maghsoudlou *et al.*, 2019). La JR mejora el funcionamiento del eje hipotalámico-hipofisario-ovárico en mujeres posmenopáusicas (Salem, 2013). Kazu-Michi *et al.* (2008) demostraron que los componentes de JR afectan la expresión génica para imitar los efectos del estradiol (E₂) y mejorar los síntomas de la menopausia. Se ha demostrado que la administración oral de JR a conejos machos con estrés por calor puede mejorar su estado fisiológico y reducir la incidencia de infertilidad estival (Elnagar, 2010; Silici *et al.*, 2009). El uso de JR podría ser un método simple y razonablemente eficaz para tratar la astenozoospermia (Abdelhafiz y Muhamad, 2008). El contenido del aminoácido 10H2DA de JR mejora la motilidad y calidad de los espermatozoides, por lo tanto, mejora la fertilización (Shahzad *et al.*, 2016). La JR como fuente de antioxidantes mejora los parámetros del semen de carnero (Moradi *et al.*, 2013). Alcay *et al.* (2017) evaluaron diferentes concentraciones de diluyentes suplementados con JR para determinar la calidad posterior a la descongelación y la resistencia a la incubación de los espermatozoides de macho cabrío, mostraron que los diluyentes suplementados con JR mejoraban las tasas de motilidad del espermatozoides de macho cabrío, el acrosoma, la membrana plasmática y la integridad del ADN después de la descongelación y aumenta la supervivencia y longevidad de los espermatozoides. Por lo tanto, la suplementación con JR aumenta la posibilidad de fertilización de los ovocitos durante la inseminación artificial.

Eshtiyaghi *et al.* (2016) reportaron que el tratamiento de ovocitos ovinos con JR (10 mg mL⁻¹) durante la maduración in vitro (MIV) aumentó la tasa de maduración nuclear y de ovocitos, la tasa de fertilización y la formación de blastocistos, lo que podría deberse a una mayor actividad de las enzimas antioxidantes en ambas células de ovocitos y cúmulos. Estudios in vitro realizados por Valiollahpoor *et al.* (2016) revelaron que la suplementación del medio de maduración con JR mejoró la tasa de maduración nuclear de los ovocitos en ovejas. También Mazangi *et al.* (2015), demostraron que la adición de JR al medio de maduración a una concentración óptima, mejoró la tasa de maduración nuclear y disminuyó los genes relacionados con la apoptosis en los ovocitos de cabra. Se encontró que la JR disminuye las concentraciones de progesterona y aumenta la tasa de preñez en ovejas (Husein y Haddad, 2006).

Algunos estudios realizados en ovejas han demostrado que la JR aumenta las concentraciones de progesterona (Husein y Kridli, 2002). También se ha demostrado que la JR modula la actividad estrogénica mediante la interacción con los receptores de estrógenos y mejora la expresión de ARNm en genes que responden a los estrógenos (Mishima *et al.*, 2005). El ácido 10-hidroci-trans-2decenoico (10-H₂DA), ácido 10-hidroxicanoico (HDAA), ácido trans-2-decenoico y 24-metilcolesterol son compuestos que están presentes en la JR y se han identificado en los sitios de unión a los ligandos más eficaces para los RE (Suzuki *et al.*, 2008). Algunos informes sugieren que la inducción del estro con progesterona natural y el tratamiento con JR mostraron tasas de concepción aceptables en ovejas inseminadas por vía laparoscópica. Además, se determinó que una sola inyección de 500 mg de JR vía intramuscular es una estrategia importante y sencilla para aumentar el rendimiento reproductivo en la temporada de anestro de las razas de ovejas que presentan estacionalidad reproductiva (Gimenez-Diaz *et al.*, 2012). Kridli *et al.*, (2003) reportaron que la administración de JR a las ovejas aumentó los porcentajes de partos y gestación, pero no fue eficaz para aumentar la incidencia del estro durante la temporada de transición, de la temporada de reproducción a la temporada de anestro.

Efectos estrogénicos

La JR ha mostrado efectos estrogénicos *in vitro* e *in vivo* que fueron mediados a través de la interacción con los receptores de estrógenos (RE) seguidos de alteraciones en la proliferación celular y la expresión génica (Mishima *et al.*, 2005). Suzuki *et al.* (2008) afirmaron que cuatro sustancias bioactivas aisladas de JR ácido 10-hidroxi-trans-2-decenoico (10H2DA), ácido 10-hidroxidecanoico (10HDA), ácido trans-2-decenoico (2DEA) y 24-metilcolesterol (24MET) muestran el efecto de unión al receptor de estrógeno β - (RE β -) e inhiben la unión del 17 β -estradiol (E_2) al RE β *in vivo*. Moutsatsou *et al.* (2010) reportaron que 10-HDA, 10-HDDA y el ácido sebácico de JR presentan fuertes efectos estrogénicos que median la señalización de estrógenos al modular el reclutamiento de ER α , ER β y son coactivadores para genes blanco.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El sector ganadero representa el 14.5% de las emisiones antropogénicas totales, genera metano, uno de los gases de efecto invernadero más potentes y un factor importante para el cambio climático (Gerber *et al.*, 2013; Kirschke *et al.*, 2013). Los rumiantes domésticos producen metano durante la fermentación entérica, en cantidades equivalentes a 4.6 gigatoneladas de emisiones de CO₂ anuales, lo que representa el 35% de las emisiones del sector agrícola (Gerber *et al.*, 2013). No obstante, para garantizar la producción de suficientes alimentos para la humanidad, debemos considerar todas las opciones, incluidas las industrias basadas en rumiantes. El valor de los rumiantes es que pueden digerir biomasa que los humanos no pueden y convertirla en alimento que los humanos pueden digerir. Por esta y varias otras razones, los sistemas de producción de rumiantes estarán con nosotros en el futuro previsible (Eisler *et al.*, 2014).

En el manejo reproductivo de pequeños rumiantes, es posible disminuir el uso de hormonas exógenas a partir del uso estratégico de la nutrición y el aprovechamiento de los recursos disponibles (Delgadillo y Martín, 2015). En el manejo reproductivo de los ovinos, es posible aprovechar el uso combinado de la nutrición focalizada o estratégica (Martín, 2009) con suplementos que contengan compuestos bioactivos (Delgadillo y Martín, 2015) o modifiquen las concentraciones de hormonas metabólicas (Scaramuzzi *et al.*, 2006) para mejorar el desempeño reproductivo (Martín *et al.*, 2004; Viñoles *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2011).

El desarrollo de protocolos de sincronización de estros permite manipular los eventos reproductivos con métodos naturales y hormonas exógenas. Sin embargo, el uso de hormonas aplicadas de manera exógena se cuestiona en algunos países; por ejemplo, la eCG, que se usa en protocolos de sincronización para promover el crecimiento folicular, pese a que no está permitida en EE. UU. y en la Unión Europea (Abecia *et al.*, 2011). Además, la administración recurrente de eCG conduce a la producción de anticuerpos anti-eCG, con lo que disminuye su efectividad (Hervé *et al.*, 2004).

Los productos apícolas como miel y JR son productos naturales utilizados por el ser humano desde la antigüedad. Actualmente, muchos estudios están dirigidos a investigar

los beneficios directos para la salud y sus propiedades farmacológicas debido a su eficacia, lo que lleva al creciente desarrollo de nutracéuticos y alimentos funcionales a partir de estos productos.

Asimismo diversos estudios realizados *in vitro* han reportado que la suplementación del medio de maduración con JR mejora la tasa de maduración nuclear y de ovocitos, la tasa de fertilización y la formación de blastocistos (Mazangi *et al.*, 2015; Eshtiyaghi *et al.*, 2016; Valiollahpoor *et al.*, 2016). Algunos estudios realizados en ovejas han demostrado que la JR aumenta las concentraciones de progesterona, la tasa de gestación y partos (Husein y Kridli, 2002; Kridli *et al.*, 2003; Husein y Haddad 2006). Con base en lo anterior se desarrollaron tres estudios, el objetivo del primer estudio fue evaluar tres protocolos de sincronización de estros sobre el desempeño reproductivo de ovejas de pelo cíclicas, para determinar el más factible a usar en los siguientes estudios. En los siguientes estudios se planteó probar el efecto de la miel y jalea real en el desempeño reproductivo postparto de ovejas de pelo en un protocolo de sincronización de estro. La hipótesis general fue que la miel y JR mejoran las variables reproductivas postparto de ovejas de pelo.

CAPITULO I. EVALUACIÓN DE TRES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS DE PELO

1.1. RESUMEN

El desempeño reproductivo es uno de los factores determinantes de la rentabilidad en la ovinocultura actual y la sincronización del estro es una herramienta valiosa para el manejo reproductivo de ovejas. Por lo tanto, el presente estudio fue diseñado para evaluar tres protocolos de sincronización del estro sobre el desempeño reproductivo de ovejas de pelo cíclicas, para determinar el más factible a usar en siguientes estudios. Para lo que 91 ovejas fueron asignadas al azar a uno de tres grupos de protocolo de sincronización de estro utilizando un diseño completamente al azar que incluyó: T1: Esponja con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 9 d + 300 UI de eCG 48 h antes de retirar la esponja; T2: Dos dosis de 250 mg de cloprostenol con un intervalo de 7d + 300 UI de eCG el día siete del protocolo y T3: CIDR con 0.35 g de progesterona (P₄) por 9 d + 300 UI de eCG 48 h antes de retirar el CIDR. La variable inicio al estro se analizó con la homogeneidad de curvas de supervivencia con el procedimiento Lifetest. La respuesta al estro, retorno al estro, porcentaje de gestación y parición, se analizaron utilizando PROC FREQ y las medias entre tratamientos fueron comparadas con la prueba de Chi cuadrado. Para el análisis de fecundidad y prolificidad se utilizó el procedimiento GLM y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey. El protocolo CIDR + eCG mejoró la respuesta al estro (86.7%) e incrementó la fecundidad (1.07) ($p < 0.05$), pero para el resto de las variables evaluadas los tres protocolos ofrecen respuestas similares ($p > 0.05$). La respuesta al estro y la fecundidad son variables de gran importancia económica que repercuten en la cantidad de corderos disponibles, tanto para la venta como para el reemplazo del mismo rebaño, por lo que es factible utilizar el protocolo CIDR + eCG ya que incrementa la respuesta al estro y la fecundidad.

Palabras clave: Manejo reproductivo, CIDR, Esponjas intravaginales, Prostaglandina, Ovinos, Desempeño reproductivo.

1.2. ABSTRACT

Reproductive performance is one of the determining factors of profitability in the current sheep farming and estrus synchronization is a valuable tool for the reproductive management of cyclical sheep. Therefore, the present study was designed to evaluate three estrus synchronization protocols on the reproductive performance of cyclic haired sheep, to determine the most feasible to use in subsequent studies. For which 91 sheep were assigned to three estrus synchronization protocol groups using a completely random design that included: T1: Sponge with 60 mg medroxyprogesterone acetate for 9 d + 300 IU of eCG 48 h before removing the sponge; T2: Two doses of 250 mg cloprostenol with a range of 7d + 300 IU of eCG on day seven of the protocol and T3: CIDR with 0.35 g progesterone (P₄) per 9 d + 300 IU eCG 48 h before removing the CIDR. The estrus onset variable was analyzed with the homogeneity of survival curves with the Lifetest method. The response to estrus, return to estrus, gestation and calving percentage, Estrus response, return to estrus, gestation and calving percentage, were analyzed using PROC FREQ and the averages between treatments were compared with the Chi square test. For the analysis of fertility and prolificacy, the GLM method was used and the comparison of averages was made with the Tukey test. The CIDR + eCG protocol improved the response to estrus (86.7%) and increased fecundity (1.07) ($p < 0.05$), but for the rest of the variables evaluated, the three protocols offer similar responses ($p > 0.05$). The response to estrus and fertility are variables of great economic importance that affect the number of lambs available, both for sale and for replacement of the same herd, so it is feasible to use the CIDR + eCG protocol since it increases the response to estrus and fertility.

Keywords: Reproductive management, CIDR, Intravaginal sponges, Prostaglandin, Sheep, Reproductive performance.

1.3. INTRODUCCIÓN

El control de la actividad reproductiva es fundamental en las explotaciones de ovinos, pues permite aumentar su rentabilidad, posibilita una mejor planificación de actividades como: la alimentación, la época de empadre y de pariciones. De esta manera, se incrementa: el porcentaje de parición, prolificidad, productividad y la obtención de productos de mayor calidad.

En los ovinos, los protocolos más utilizados para la sincronización del estro se basan en tratamientos con progestágenos a través de dispositivos intravaginales (Boscós *et al.*, 2002; Estrada-Gandarilla *et al.*, 2009; Amiridis y Cseh, 2012). Los protocolos que utilizan P₄ o sus análogos se basan en la simulación de la acción de la progesterona natural, responsable del control de la secreción de LH (Awel *et al.*, 2009; [Abecia *et al.*, 2011](#)). Los tratamientos con P₄ se administran por periodos cortos (cinco a nueve días) y largos (catorce días) (Texeira *et al.*, 2016; Martínez-Ros *et al.*, 2019). Se han utilizado esponjas con diferentes concentraciones de acetato de medroxiprogesterona (MPA) y acetato de fluorgestona (FGA). Sin embargo, el uso prolongado de esponjas intravaginales a menudo se relaciona con vaginitis y secreción purulenta (Martínez-Ros *et al.*, 2018). En comparación con las esponjas, los dispositivos de liberación interna controlada de fármacos (CIDR) reducen la incidencia de vaginitis (Suárez *et al.*, 2006).

Por otro lado, los protocolos basados en prostaglandina (PG) que utilizan análogos de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) son alternativas deseables para la sincronización del estro debido a su alta efectividad, menor costo, fácil aplicación, sin tener efectos negativos de tejido remanente y vaginitis (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005; Viñoles *et al.*, 2011; Abecia *et al.*, 2012). Sin embargo, solo es efectivo durante la estación reproductiva debido a la presencia del cuerpo lúteo activo (CL). Además, el CL de la oveja responde a la PGF_{2α} el día 3 después de la ovulación (Fierro *et al.*, 2013). Por lo tanto, el momento de administración de PG es fundamental para la respuesta al estro y, a menudo, se recomienda la aplicación de dos dosis de PG para la sincronización con un intervalo entre aplicaciones de siete días (Contreras-Solis, *et al.*, 2009).

La incorporación de gonadotropinas que favorezcan el inicio de los eventos preovulatorios es de uso común para incrementar la tasa de eficiencia en protocolos de sincronización de estros con dispositivos intravaginales en pequeños rumiantes (Bartlewski, 2001; Abecia *et al.*, 2011; Moradi Kor y Ziaei, 2012), especialmente la gonadotropina coriónica equina (eCG) (Moakhar *et al.*, 2012; Martinez-Ros *et al.*, 2018). Se reconoce que la eCG favorece las tasas de presentación de estro (Santos *et al.*, 2011), distribución de los estros en cortos periodos de tiempo (Luther *et al.*, 2007) y un incremento en la tasa ovulatoria y porcentaje de parición (Wildeus, 2000; Zeleke *et al.*, 2005; Shahneh *et al.*, 2008). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar tres protocolos de sincronización de estro en ovejas de pelo, para observar el efecto en el desempeño reproductivo de las ovejas y determinar el más factible a usar en los siguientes estudios.

1.4. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio los animales fueron manejados de acuerdo con las normas establecidas por el “Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados” (COLPOS, 2016).

1.4.1 Localización del área de estudio

El experimento se desarrolló de junio a diciembre de 2018, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Estado de México, localizado a 19° 29' N y 98° 53' W a 2250 msnm. El clima se clasifica como C (w₀) (w) (i') g, templado subhúmedo con lluvias en verano y una precipitación anual de 636.5 mm, donde el porcentaje de lluvias invernales es menor al 5% total y la temperatura media es de 15.2 °C (García, 2004).

1.4.2. Animales y alimentación

Se utilizaron 91 ovejas multíparas de pelo ciclicas, edad de 3.9 ± 1.3 años y peso promedio 59.5 ± 15.7 kg; fueron despezuñadas y desparasitadas (Ivermectina al 1 % Ivomec[®], 1 ml 50 Kg⁻¹, Merial y Closantel[®] 2 ml Kg⁻¹, Chinoin) y se les aplicó una dosis de selenito de sodio (1 ml 50 kg⁻¹ Selenie[®], Virbac) 20 días antes de iniciar el

experimento. El semen para la inseminación artificial se obtuvo de cuatro carneros; para la detección de estros se ocuparon ocho carneros. El manejo profiláctico de los carneros usados, fue similar al de las ovejas, y se evaluó la libido exponiendo a los carneros a ovejas en estro, observando su comportamiento y disponibilidad para la monta, la evaluación del semen fue macroscópica (volumen, aspecto y color) y microscópica (motilidad, concentración, morfología y viabilidad).

Las ovejas permanecieron en corrales de 40 m² provistos de sombra, comederos y bebederos, garantizando su espacio vital.

Durante el desarrollo del experimento, todas las ovejas vacías consumieron 2 Kg oveja⁻¹ d⁻¹ de una dieta integral (15% PC, 2.5 Mcal EM) elaborada con avena henificada molida (40%), alfalfa henificada molida (29%), concentrado comercial (20%), maíz molido (5%), premezcla de minerales (1%) y melaza (5%). La ración diaria se ofreció a las 9:00 y 16:00 h.

1.4.3. Tratamientos

En esta investigación, 91 ovejas fueron asignadas de manera aleatoria a tres grupos:

T1: Esponja intravaginal con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 9 d, aplicación de 300 UI de eCG (FOLLIGON[®] MSD Animal Health México) 48 h antes de retirar la esponja (n=30).

T2: Dos dosis de 250 mg de PGF_{2α} (CELOSIL[®] Animal Health México) con un intervalo de 7 d, aplicación de 300 UI de eCG al día 7 del protocolo (n=31).

T3: CIDR[®], Zoetis México por 9 d, aplicación de 300 UI eCG 48 h antes de retirar el CIDR (n=30).

1.4.4. Detección de estros

La detección de estros se realizó durante 72 h, con intervalos de 4 h por 30 min después del retiro de la esponja o el CIDR (T1 y T3) y 48 horas después de la segunda aplicación de prostaglandina (T2), con un carnero provisto de mandil. Las ovejas que manifestaron signos externos de estro (la oveja permanece inmóvil y permite la monta del carnero) se

separaron del grupo para inseminarlas de manera artificial (laparoscopia). Se consideró que una oveja no había respondido al tratamiento si no presentó estro durante este tiempo.

1.4.5. Inseminación artificial

La inseminación artificial en las ovejas se realizó por laparoscopia a las 12 h después de haber presentado signos de estro. Las ovejas fueron dietadas 12 h antes de ser inseminadas, el semen utilizado fue semen fresco (pajillas de 0.25 mL, con 200×10^6 células/mL). Para la inseminación las ovejas fueron colocadas en decúbito dorsal sobre camillas, se rasuró y desinfectó con yodo al 7% un área aproximada 10 x 20 cm en la región anterior a la ubre. Se les aplicó 2 cc de anestesia local (40 mg de lidocaína con epinefrina, subcutánea, SERVACAÍNA[®], Intervet México) en cada sitio de punción. Se reclino la camilla a un ángulo de 45° con la cabeza de la oveja hacia abajo, con el propósito de inducir el desplazamiento de las vísceras hacia el diafragma, para evitar daños al introducir los trocars-cánula en la pared del abdomen y descubrir el útero del omento mayor. En el área desinfectada del abdomen se hicieron dos incisiones paralelamente a la línea media del abdomen, a 4 cm de ella y aproximadamente a 8 cm del borde anterior de la ubre. Por la incisión de la derecha se insertó un trocar-cánula, a través del cual se insufló aire en la cavidad abdominal, con el objeto de distenderla y permitir una buena visibilidad del útero; después por esa misma cánula se introdujo la lente del endoscopio, en tanto, por la incisión del lado izquierdo se introdujo el catéter-cánula por donde se introdujeron los aspics con la pistola de inseminación conteniendo la pajilla de semen diluido para depositar 0.25 mL de semen en cada cuerno uterino. Las ovejas fueron tratadas con antibiótico (Emicina[®]/LA Zoetis México, oxitetraciclina Hcl 200 mg mL⁻¹, 1 cc 10 Kg⁻¹ PV, intramuscular, Pfizer México). Finalmente, se les aplicó en los puntos de incisión sobre piel cicatrizante y desinfectante (violeta de genciana con fenol). El instrumental fue previamente esterilizado y desinfectado durante su uso entre ovejas, con cloruro de benzalconio Dermo cleen[®] Méxicodegasa al 5%.

1.4.6. Retorno al estro

El retorno al estro se determinó al exponer a las ovejas a un carnero con mandil por 30 min con intervalos de 12 h, desde el día 10 después de la inseminación y hasta el día 25. Se consideró que las ovejas retornaron al estro cuando manifestaron signos externos de estro (la hembra acepta y se queda quieta cuando la monta el macho).

1.4.7. Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se determinó mediante la observación del no retorno a estro, durante los siguientes 25 días posteriores a la IA.

1.4.8. Variables evaluadas

- a. Respuesta al estro. - Porcentaje de ovejas que mostraron signos externos de estro.
- b. Inicio al estro. - Tiempo transcurrido (h) a partir del retiro de la esponja o el CIDR T1 y T3 y 48 h después de la segunda aplicación de prostaglandina T2 hasta la manifestación de signos de estro.
- c. Retorno al estro. - Porcentaje de ovejas que mostraron signos de estro en el periodo evaluado (19 días después de la inseminación).
- d. Porcentaje de gestación (%). - Relación porcentual entre el número de hembras gestantes y el total de ovejas del tratamiento.
- e. Porcentaje de parición. - Porcentaje de ovejas paridas entre el número total de ovejas del tratamiento.
- f. Fecundidad. - Número de corderos nacidos entre el total de ovejas expuestas al empadre.
- g. Prolificidad. - Número de corderos nacidos entre el número total de ovejas paridas de cada tratamiento.

1.4.9. Análisis estadístico

Para evaluar la respuesta reproductiva de las ovejas al protocolo de sincronización se utilizó un diseño completamente al azar, cada oveja se consideró como una unidad experimental.

Modelo estadístico asociado al diseño:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor observado de la variable respuesta

μ = Media poblacional

A_i = Efecto del tratamiento en su i -ésimo (nivel $i = 1, 2, 3$)

E_{ijk} = Error experimental asociado a Y_{ijk}

El análisis estadístico se realizó con el software SAS 9.0 (SAS, 2002). El análisis para el inicio del estro se realizó con el análisis de homogeneidad de curvas de supervivencia con el procedimiento Lifetest. Las variables respuesta de estro, retorno a estro, gestación y porcentaje de parición, se analizaron utilizando la rutina PROC FREQ y las medias entre tratamientos fueron comparadas con la prueba de Chi cuadrado. Para el análisis de fecundidad y prolificidad se utilizó el procedimiento GLM y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey. Las diferencias fueron establecidas usando un nivel de confianza menor al 5% ($p < 0.05$)

1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1. Respuesta e inicio al estro

En el presente estudio se encontraron diferencias estadísticas en la respuesta al estro ($p < 0.05$), siendo T3 el tratamiento que mostró mejor respuesta al estro (Cuadro 4.1). Estos resultados pueden estar influenciados por la época en que se realizó el protocolo de sincronización (junio), donde los tratamientos con prostaglandinas pueden verse limitados por el anestro estacional en las ovejas (Boscós *et al.*, 2002; Fierro *et al.*, 2013). Por otra parte, la manifestación de signos de estro durante el postparto es variable. Ungerfeld y Sanchez-Davila, (2012) reportan que al iniciar el tratamiento de inducción con esponjas impregnadas con acetato de medroxiprogesterona + 350 UI eCG, en ovejas Corriedale los días 14-18, 24-30 o 42-48, se obtienen porcentajes de respuesta al estro

de: 81.3, 70.4 y 47.1 % respectivamente. En ovejas pelibuey Ronquillo *et al.* (2008) reportan 50 % de ovejas en estro al iniciar un protocolo de inducción de estro al día 30 postparto con esponjas impregnadas con acetato de fluorogestona y con amamantamiento continuo; el porcentaje de respuesta incrementa a 64.2 % al administrar eCG, mientras que al realizar el destete antes de terminar el tratamiento hormonal, el porcentaje de respuesta con acetato de fluorogestona fue de 64.2 % y de 85.7 con el tratamiento acetato de fluorogestona + eCG. La respuesta a estro en este estudio fue similar a la reportada por Ronquillo *et al.* (2008), Ungerfel y Sanchez-Davila (2012) pero inferior a la reportada por Castillo-Maldonado *et al.* (2013), quienes informan una respuesta de 100% al iniciar el tratamiento hormonal al día 35 postparto. Wei *et al.* (2016), mencionaron que la respuesta al estro fue diferente entre ovejas tratadas con esponjas intravaginales de fluorogestona + eCG (85.72%) y en ovejas a las que se les aplicó dos dosis de cloprostenol con intervalo de 11 días (57.14%). Por otra parte, Córdova-Izquierdo *et al.* (2012), reportaron 90% de respuesta al estro en ovejas tratadas con esponjas intravaginales con acetato de fluorogestona durante 9 días + eCG al momento de retirar el dispositivo, y 70% de respuesta al estro en las ovejas que recibieron dos dosis de cloprostenol con un intervalo de 10 días. Estos datos son diferentes a los observados en el presente estudio donde la respuesta al estro fue mejor en las ovejas tratadas con cloprostenol que en las que se trataron con esponjas intravaginales con progestágeno + eCG.

Otros estudios han comparado la eficacia de la aplicación de esponjas (MPA o FGA) y CIDR. La respuesta al estro fue similar ($p>0.05$) entre las ovejas tratadas con esponjas impregnadas MPA (94.1%), FGA (91.5%) y CIDR (95.9%) (Ungerfeld y Rubianes, 2002). En otro estudio, en donde se compararon ovejas tratadas con esponjas MPA (60 mg) y CIDR (300 mg) en un protocolo de 12 días, no se encontró diferencias en la respuesta al estro debido a los tratamientos ($p>0.05$) durante la temporada no reproductiva (Iida *et al.*, 2004). De igual manera, se realizó una comparación entre ovejas tratadas con esponjas MPA (60 mg) y CIDR (300 mg) durante la época no reproductiva. La respuesta al estro fue similar ($p>0.05$) entre los dos grupos (Hashemi *et al.*, 2006).

Swelum *et al.* (2019), mencionaron que existe una relación entre las concentraciones de progesterona durante el tratamiento y el recambio folicular en ovejas, y tal como lo mencionaron Bazzan *et al.* (2013) el uso de CIDR durante periodos similares a la duración de vida del cuerpo lúteo estimulan la inhibición de LH provocando así la sincronización de una nueva oleada folicular. El porcentaje de ovejas que responden a los tratamientos podría estar relacionado con el tipo de dispositivo intravaginal utilizado, la duración del tratamiento y el estado ovárico de las ovejas durante este periodo. El estado nutricional es uno de los factores determinantes en el reinicio de la actividad reproductiva en las ovejas (Herrera *et al.*, 2010).

Cuadro 1.1. Respuesta al estro y tiempo de inicio al estro en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.

Tratamiento	n	Respuesta al estro		Inicio al estro h
		n'	%	
T1	30	17	56.7 ^b	55.3 ± 14.7 ^a
T2	31	20	64.5 ^{ab}	43.2 ± 26.3 ^a
T3	30	26	86.7 ^a	50.4 ± 20.0 ^a

^{a, b} Valores con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

T1: Esponja intravaginal + eCG; T2: Dos dosis de PGF_{2α} + eCG; T3: CIDR + eCG

n = número de ovejas por tratamiento; n' = número de ovejas que respondieron al estro.

Diferentes estudios reportaron que la aplicación exógena de gonadotropinas, principalmente gonadotropina coriónica equina (eCG) favorece las tasas de presentación de estros (Santos *et al.*, 2011), la distribución de los estros en cortos periodos de tiempo (Luther *et al.*, 2007). En este estudio, el tiempo de inicio al estro no fue diferente ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 4.1.). Los resultados de T1 y T2, coinciden con los reportados por Wei *et al.* (2016) quienes informaron que el tiempo al estro fue de 53.91 ± 12.26 h para el tratamiento con esponjas intravaginales con progestágeno + eCG y de 46.41 ± 4.65 h para el tratamiento con cloprostenol. Martínez-Ross *et al.* (2018) y López *et al.* (2021) utilizando protocolos de 6 y 7 días con esponjas intravaginales y una dosis de PGF_{2α} al momento del retiro, encontraron un inicio de estro de 58.3 ± 10.0 h y 48.0 ± 16.9 h respectivamente, siendo similares a los encontrados en este estudio. Así mismo Fraire-Cordero *et al.* (2013) y Sosa-Pérez *et al.* (2014) con protocolos similares con 9 d en ovejas pelibuey reportaron 43.6 y 40.3 h respectivamente. Es probable que el retraso en el inicio del estro este relacionado con el desarrollo folicular, por lo que aún lleva algun

tiempo desencadenar la ovulación después del retiro del progestágeno (Balan-May *et al.*, 2021)

Las curvas de supervivencia con los estimadores de Kaplan-Meier para los tiempos de inicio al estro de las ovejas en los diferentes tratamientos se muestran en la Figura 4.1. Puede observarse que T2 inició en un menor tiempo el estro comparado con los otros dos tratamientos, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas ($p \geq 0.05$).

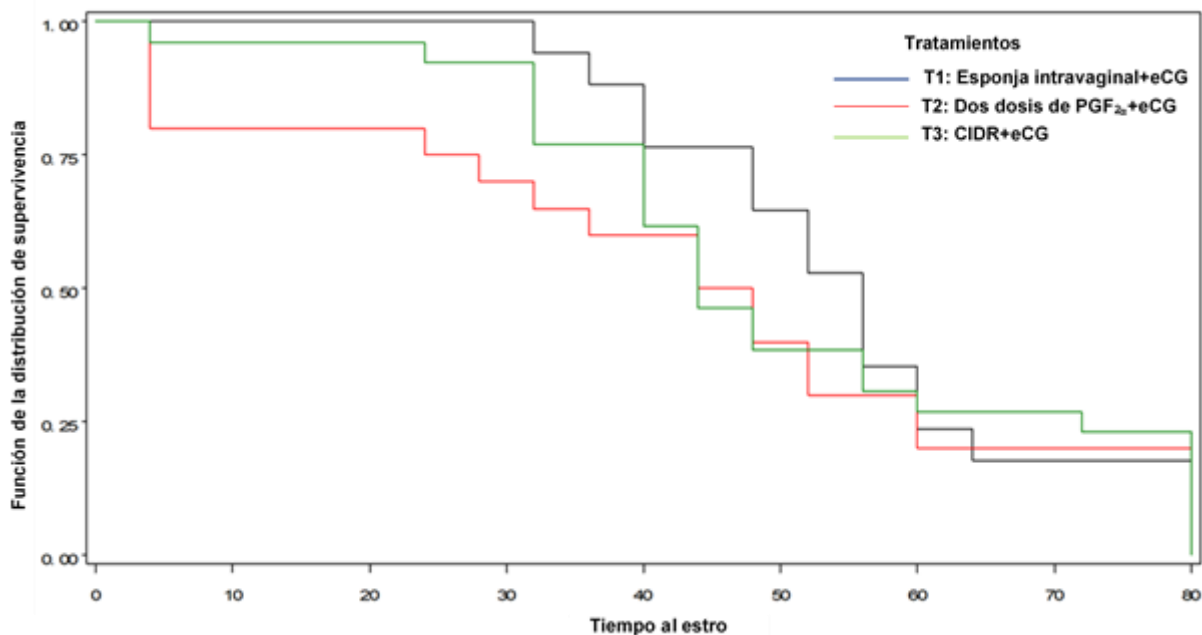


Figura 1.1. Curvas de supervivencia de inicio al estro en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.

1.5.2. Retorno al estro y porcentaje de gestación

El retorno al estro es el porcentaje de hembras que presentan estro en un periodo determinado posteriores a la inseminación (Mellisho, 2007). En ovinos se debe revisar el estro en los días previos y posteriores al día 17 postinseminación con machos provistos con un mandil para evitar la cópula. La frecuencia de ovejas que retornaron al estro fue similar ($p > 0.05$) entre los tres tratamientos, aunque con una tendencia a una menor frecuencia de retornos en T3 en comparación con T1 y T2 (Cuadro 4.2.). La muerte embrionaria temprana representa la principal causa de pérdidas de gestaciones en rumiantes, en ovejas cerca del 20% de los embriones mueren durante los 15 días

siguientes a la fertilización. La etiología de la muerte embrionaria es diversa, sin embargo se pueden dividir en factores genéticos y ambientales, estrés calórico, endometritis, cuerpos lúteos de vida media anormal y manejo de las ovejas (Hernández y Zarco, 1998). Fraire-Cordero et al. (2018) reportaron porcentajes de retorno a estro de 27 a 66 % en ovejas de pelo durante el postparto, posiblemente relacionadas con la técnica de inseminación. Lo anterior puede explicar la similitud del retorno al estro entre los tres tratamientos del presente estudio.

Cuadro 1.2. Retorno al estro con diferentes protocolos de sincronización.

Tratamiento	Ovejas que respondieron al estro		Retorno al estro	
	n	n'	%	
T1	17	5	29.41	
T2	20	6	30.00	
T3	26	6	23.10	

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$).

T1: Esponja intravaginal con MAP + eCG; T2: Dos dosis de $PGF_{2\alpha}$ + eCG; T3: CIDR + eCG.

n= número de ovejas que respondieron al estro; n' = número de ovejas que retornaron al estro.

Los resultados del presente estudio no indicaron diferencias entre tratamientos sobre el porcentaje de gestación ($p > 0.05$) no obstante, el porcentaje de gestación tendió a ser mayor en T3 comparado con los otros tratamientos (Cuadro 4.3.). Datos similares informaron Fornazari *et al.* (2018) quienes reportaron un porcentaje de gestación de 76.5 con el uso de progestágenos a corto plazo (seis días) + 750 UI de eCG. De la misma manera Alavez Ramírez *et al.* (2014), no encontraron diferencias estadísticas en el porcentaje de gestación entre los tratamientos con esponja intravaginal con progestágeno durante 12 días + eCG (53.3%) y dos inyecciones de cloprostenol (75 μ g) con un intervalo de 12 días (60%). Datos mejores a los del presente estudio fueron reportados por Roshani *et al.* (2018) y sin embargo, no encontraron diferencia estadística ($p > 0.05$) en el porcentaje de gestación entre las ovejas tratadas con esponjas intravaginales (95%) y las ovejas tratadas con CIDR (100%). Por otra parte, Wei *et al.* (2016) encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) en el porcentaje de gestación entre tratamientos con esponjas intravaginales de fluorogestona + eCG (91.37%) y cloprostenol (88.89%).

Diferentes estudios han identificado factores que reducen el porcentaje de gestación en las ovejas: nutrición, edad, estación del año, manejo, enfermedades y técnico inseminador las cuales parecen ser los más importantes; en su mayoría se trata de efectos de pequeña magnitud, pero cada uno de ellos explica por separado una parte de la eficiencia reproductiva de los ovinos (Martinez *et al.*, 2006; Tejedor *et al.*, 2016) por lo que es posible que en el presente estudio diversos factores hayan influido en el bajo porcentaje de gestación.

Cuadro 1.3. Porcentaje de gestación en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.

Tratamiento	n	Ovejas gestantes γ	
		n'	%
T1	30	12	40.00
T2	31	14	45.16
T3	30	20	66.67

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$).

T1: Esponja intravaginal con MAP + eCG; T2: Dos dosis de PGF_{2 α} + eCG; T3: CIDR + eCG.

n = número de ovejas por tratamiento; n' = número de ovejas gestantes.

γ Determinada por no retorno al estro.

1.5.3. Porcentaje de parición y fecundidad

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio los tratamientos no afectaron el porcentaje de parición ($p > 0.05$) (Cuadro 4.4.). No obstante, el valor numérico de esta variable fue mayor en T3 que el observado en T1 y T2. De la misma manera, Roshani *et al.* (2018) encontraron que el porcentaje de parición fue mejor en las ovejas tratadas con CIDR (100%) que en las ovejas tratadas con esponjas intravaginales (95%). Los resultados de estos autores son superiores a los del presente estudio, pero muestran que el uso del CIDR puede mejorar el porcentaje de parición en el manejo reproductivo. Por otra parte, diferentes estudios reportaron resultados distintos a los encontrados en este estudio, Hasani *et al.* (2018) y Wei *et al.* (2016) encontraron un mayor porcentaje de parición en los tratamientos con esponjas intravaginales (90 y 91%) que en los tratamientos con cloprostenol (87.5 y 88.8%).

Cuadro 1.4. Porcentaje de parición y fecundidad en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.

Tratamiento	Ovejas paridas			Corderos nacidos	Fecundidad
	n	n´	%	n´´	
T1	30	12	40.00	16	0.53 ^b
T2	31	14	45.16	22	0.71 ^{ab}
T3	30	20	66.67	32	1.07 ^a

^{a, b} Valores con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)
T1: Esponja intravaginal con MAP + eCG; T2: Dos dosis de PGF_{2α} + eCG; T3: CIDR + eCG.
n = número de ovejas por tratamiento; n´ = número de ovejas paridas; n´´ = número de corderos nacidos.

El promedio de fecundidad en este estudio fue de 0.77. El T3 fue superior ($p < 0.05$) con respecto a T1, pero similar a T2. La fecundidad esta relacionada con el porcentaje de gestación y la prolificidad, por lo que factores que afecten a los anteriores repercuten en esta variable. Las ovejas de T3 presentaron los valores más altos en fecundidad debido a la mejor respuesta al estro (Cuadro 4.1.), al mayor porcentaje de ovejas gestantes (Cuadro 4.3.) y a la mayor prolificidad (Cuadro 4.5.). Por el contrario, la fecundidad más baja se observó en las ovejas T1, debido al número menor de hembras que manifestaron estro, así mismo menor porcentaje de gestación y menor prolificidad.

Los valores encontrados en este estudio son diferentes a los reportados por Hasani *et al.* (2016) quienes encontraron que la fecundidad no fue afectada por los tratamientos cuando se compararon tratamientos con esponjas intravaginales con un progestágeno vs Cloprostenol. Así mismo, Roshani *et al.* (2018), demostraron que la fecundidad obtenida en los tratamientos con esponjas intravaginales (1.15) y CIDR (1.1) no fueron estadísticamente diferentes.

1.5.4. Prolificidad

La prolificidad varia con la raza, consanguinidad, condiciones climáticas, edad del animal, número de parto, manejo, nutrición, niveles hormonales, sanidad, estación del año, entre otros (Martin *et al.*, 2004; Viñoles *et al.*, 2009). En el presente estudio no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en la variable prolificidad (Cuadro 4.5.), esto es consistente con lo reportado en otro estudios, Hasani *et al.* (2018), reportaron que no hubo diferencias estadísticas ($p > 0.05$) en la prolificidad de ovejas sincronizadas con esponjas

intravaginales con progestágenos durante 12 días + 500 UI eCG al momento del retiro de la esponja (1.77) y en las que se sincronizaron con dos dosis 75 µg de cloprostenol con intervalo de 12 días + 500 UI de eCG el día 12 (2.0); Roshani *et al.* (2018), reportaron que la prolificidad no se vio afectada por los tratamientos cuando se sincronizaron ovejas con CIDR durante 7 días + 1.5 ml GnRH al momento de la inserción + 2.5 mg de PGF_{2α} y 2.5 mg de eCG al momento de retirar el dispositivo (1.1) y cuando se utilizó el mismo tratamiento, pero se insertó una esponja impregnada de medroxiprogesterona en lugar del CIDR. Por su parte Wei *et al.* (2016), encontraron diferencias estadísticas en la prolificidad entre ovejas tratadas con esponjas intravaginales de fluorogestona (1.5) y ovejas a las que se les aplicó dos dosis de acetato de cloprostenol con intervalo de 11 días (1.33).

Cuadro 1.5. Prolificidad en ovejas con diferentes protocolos de sincronización.

Tratamiento	Ovejas paridas	Corderos nacidos	Prolificidad
T1	12	16	1.33
T2	14	22	1.57
T3	20	32	1.60

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$)

T1: Esponja intravaginal con MAP + eCG; T2: Dos dosis de PGF_{2α} + eCG; T3: CIDR + eCG

1.6. CONCLUSIONES

En ovejas de pelo cíclicas, el protocolo CIDR[®] Zoetis (0.3 g P₄), mas la aplicación de 300 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) mejoró la respuesta al estro e incrementó la fecundidad, ya que gran parte de los costos de producción se atribuyen al mantenimiento de las ovejas a través de los diferentes periodos de producción, la respuesta al estro y la fecundidad son variables de gran importancia económica que repercuten en la cantidad de corderos disponibles, tanto para la venta como para el reemplazo del mismo rebaño. Por lo anterior, este protocolo se tomará como base para los siguientes estudios.

CAPITULO II. EFECTO DE LA MIEL DE ABEJA (*APIS MELLIFERA*), EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE OVEJAS DE PELO

2.1. RESUMEN

Este estudio se realizó para determinar los efectos de la suplementación con miel durante un protocolo de sincronización del estro por 9 días en el desempeño reproductivo de ovejas de pelo amamantando y ovejas de pelo cíclicas. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial de dos niveles de estado fisiológico: cíclicas y amamantando; y dos niveles de miel: con miel y sin miel. Se utilizaron 109 ovejas multíparas: 60 cíclicas y 49 amamantando, que se distribuyeron a uno de cuatro tratamientos: T1: Ovejas cíclicas n=29, dieta sin miel; T2: Ovejas amamantando n=24, dieta sin miel; T3: Ovejas cíclicas n=31, dieta con 5% de miel durante los 9 d del protocolo; T4: Ovejas amamantando n=25, dieta con 5% de miel durante los 9 d del protocolo. A todas las ovejas se les colocó un dispositivo intravaginal (CIDR) con progesterona durante 9 días + prostaglandinas 48 h antes de retirar el CIDR. El inicio al estro se analizó con el método de homogeneidad de curvas de supervivencia con el procedimiento Lifetest. Las variables de respuesta al estro, retorno a estro, porcentaje de gestación y parición, se analizaron con el procedimiento Proc Logistic y las medias entre tratamientos fueron comparadas con la prueba de Chi cuadrado. Para el análisis de las variables fecundidad y prolificidad, se utilizó el procedimiento Genmod y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey. El inicio al estro (54.59 ± 20.81 h) y la fecundidad (1.80 cordero oveja⁻¹) fueron mayores ($p < 0.05$) en ovejas cíclicas suplementadas con miel. No se encontraron diferencias significativas en la respuesta al estro, porcentaje de gestación, parición y prolificidad. La suplementación con miel durante el protocolo de sincronización del estro incrementó la fecundidad en ovejas cíclicas, por lo que el efecto de la suplementación con miel podría ser utilizado en protocolos de manejo reproductivo.

Palabras clave: Ovinos, miel de abeja, CIDR, estro, manejo reproductivo.

2.2. ABSTRACT

This study was conducted to determine the effects of honey supplementation during a 9-day estrus synchronization protocol on the reproductive performance of suckling hair sheep and cyclic hair sheep. The experimental design was completely random with factorial arrangement of two levels of physiological state: suckling and cyclic; and two levels of honey: with honey and without honey. 109 multiparous sheep were used: 60 cyclic and 49 suckling, which were distributed to one of four treatments: T1: cyclic sheep n=29, diet without honey; T2: sheep suckling n=24, diet without honey; T3: cyclic sheep n=31, diet with 5% honey during the 9 d of the protocol; T4: sheep suckling n=25, diet with 5% honey during the 9 d of the protocol. All sheep were fitted with an intravaginal device with CIDR progesterone for 9 days + prostaglandins 48 h before removing the CIDR. The initiation to estrus was analyzed with the method of homogeneity of survival curves with the Lifetest method. The variables of estrus response, return to estrus, gestation and calving percentage, were analyzed with the Proc Logistic method and the averages between treatments were compared with the Chi square test. For the analysis of the fertility and prolificacy variables, the Genmod method was used and the comparison of averages was made with the Tukey test. Start to estrus (54.59 ± 20.81 h) and fecundity (1.85 sheep lamb⁻¹) were higher ($p < 0.05$) in cyclic sheep supplemented with honey. No significant differences were found in estrus response, gestation and calving percentage and prolificacy. Honey supplementation during the estrus synchronization protocol increased fecundity in cyclic sheep, so the effect of honey supplementation could be used in reproductive management protocols.

Keywords: Sheep, honey, CIDR, estrus, reproductive management.

2.3. INTRODUCCIÓN

La miel es un producto natural elaborado por las abejas (*Apis mellifera*). Tiene características sensoriales y fisicoquímicas muy variables debido a las condiciones ambientales, así como a la diversa procedencia de las plantas de las que se cosecha (Gheldof *et al.*, 2002; Khalil *et al.*, 2010; Turkmen *et al.*, 2006). Podría definirse como un alimento natural compuesto principalmente por azúcares y agua junto con constituyentes

menores como minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos, flavonoides y otros compuestos fenólicos y sustancias aromáticas. (Santos-Buelga y González-Paramás, 2017).

La actividad de captación de radicales libres de los antioxidantes en la miel se ha investigado sustancialmente. Blasa *et al.* (2007) y Taormina *et al.* (2001) sugirieron que el contenido de antioxidantes en la miel es el factor principal por su efecto terapéutico, y se ha observado que reduce la incidencia de enfermedades crónicas, incluidas las cardiopatías y algunos cánceres. Los datos disponibles en ratas ovariectomizadas también sugieren que la miel puede producir efectos benéficos en los órganos reproductores femeninos (Zaid *et al.*, 2010). Zaid *et al.* (2010), en un estudio con ratas *Sprague Dawley* de tres meses de edad suplementadas con miel de Tualang en diferentes concentraciones mostraron que dosis bajas de suplemento de miel mejoraron el espesor epitelial, el peso de la vagina, el útero y la capacidad antioxidante. Este resultado indicó que la miel poseía propiedades estrogénicas que prevenían la atrofia del epitelio uterino y vaginal resultante de la deficiencia de estrógenos en casos de menopausia quirúrgica inducida por ovariectomía. Los flavonoides y los ácidos fenólicos de la miel fueron los responsables del efecto estrogénico (Mosavat *et al.*, 2014) lo que contribuyó a contrarrestar los síntomas asociados a la menopausia. El estudio también informó que las ratas, que fueron sometidas a actividad física intensa y recibieron suplemento de miel, mantuvieron su peso uterino y vaginal. Además, el suplemento de miel aumentó los niveles de progesterona y, en menor medida, el nivel de estrógeno en las ratas suplementadas.

El anestro postparto es una limitante para mejorar la productividad en ovinos, es una de las causas del bajo desempeño reproductivo (Ascari *et al.*, 2016). El intervalo entre partos y la reanudación de la actividad reproductiva, es uno de los factores naturales que determinan la frecuencia de pariciones y la productividad en ovinos (Ungerfeld y Sanchez-Davila, 2012). La duración del anestro postparto en ovejas está influenciada principalmente por el amamantamiento (Morales-Terán *et al.*, 2011), que inhibe la secreción de GnRH, reduciendo así la frecuencia de pulsos GnRH y de LH (McNeilly, 2001), pero no afectando la secreción de FSH (Mandiki *et al.*, 1990). Por lo anterior, el

objetivo de este estudio fue evaluar la suplementación con miel de abeja en la alimentación, durante un protocolo de sincronización de estros en ovejas de pelo en dos estados fisiológicos, ovejas cíclicas vs ovejas amamantando, bajo la hipótesis que la miel de abeja puede mejorar la respuesta reproductiva en ovejas de pelo.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio los animales fueron manejados de acuerdo a las normas establecidas por el “Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados” (COLPOS, 2016).

2.4.1. Localización del área de estudio

El experimento se desarrolló de julio de 2019 a enero de 2020, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, ubicado en Montecillo, Estado de México, localizado a 19° 29' N y 98° 53' W a 2250 msnm. El clima se clasifica como C (w₀) (w) (i) g, templado subhúmedo con lluvias en verano y una precipitación anual de 636.5 mm, donde el porcentaje de lluvias invernales es menor al 5% total y la temperatura media es de 15.2 °C (García, 2004).

2.4.2. Animales y alimentación

En este estudio se usaron 60 ovejas multíparas no lactantes con peso promedio de 53.1 ± 13.2 Kg y 49 ovejas lactantes (35 días de lactancia) con peso promedio de 49.6 ± 12.8 Kg; fueron despezuñadas y desparasitadas (Ivermectina al 1 % Ivomec 1 ml 50 Kg⁻¹, Merial y Closantel® 2 ml Kg⁻¹, Chinoin, México) y se les aplicó una dosis de selenito de sodio (1 ml 50 Kg⁻¹ Selenie®, Virbac) 20 días antes de iniciar el experimento. El manejo profiláctico de los 20 carneros, fue similar al de las ovejas, y se evaluó la libido exponiendo a los carneros a ovejas en estro, observando su comportamiento y disponibilidad para la monta, la evaluación del semen fue macroscópica (volumen, aspecto y color) y microscópica (motilidad, concentración, morfología y viabilidad).

Durante el desarrollo del experimento, cada oveja consumió 2 Kg d⁻¹ de una dieta integral (15% PC, 2.5 Mcal EM), las ovejas que fueron suplementadas consumieron una dieta con miel de abeja (*Apis Mellifera*) durante los nueve días del protocolo de sincronización

2 kg oveja¹ d⁻¹ (Cuadro 5.1.). La ración diaria se dividió en dos porciones que se ofrecieron a las 9:00 y 16:00 h.

Cuadro 2.1. Composición de las dietas utilizadas

Ingrediente	Dieta integral Materia seca %	Dieta con miel Materia seca %
Heno de avena	40	39
Heno de alfalfa	29	25
Concentrado*	20	20
Maíz molido	5	5
Miel	0	5
Minerales**	1	1
Melaza	5	5
Total	100	100

*Ovina reproductora PURINA® México, Proteína 14.00 %, Fibra 10.50 %, E.L.N. 64.20 %, Cenizas 8.00%, Calcio 0.60 %, Fosforo 0.40 %.

**Vitasal Reprodutor®, Servicios Especializados en Producción Animal, México. Cada 1000 g contiene: calcio, 8.3%; fósforo, 12.0%; magnesio, 4.0%; sodio, 17.42%; cloro, 26.9%; potasio, 0.32%; azufre, 530 ppm; manganeso, 2,000 ppm; zinc, 4,000 ppm; cobre, 500 ppm; yodo, 100 ppm; selenio, 30 ppm; cobalto, 40 ppm; vitamina A, 100,000 UI; vitamina D, 25,000 UI y Vitamina E, 100 UI.

Miel

La miel para este estudio se adquirió con un apicultor de Tecamachalco Puebla, en esta región la vegetación predominante es matorral desértico crasicaule asociado a vegetación arbustiva, en donde una especie importante para la recolección de néctar es el Mezquite (*Prosopis laevigata*).

2.4.3. Tratamientos

Se realizó un estudio para evaluar el desempeño reproductivo de ovejas de pelo en dos etapas fisiológicas.

La sincronización de estro en todas las ovejas se realizó con la inserción de un dispositivo intravaginal de liberación de P₄ con 0.3 g (CIDR® Zoetis, México) por 9 días. El día 7 después de la colocación del CIDR se aplicaron 250mg de PGF_{2α} (Lutalyse®, Zoetis,

México). Lo anterior se implementó debido a que en un estudio previo este método presentó mejores resultados.

En este estudio se utilizaron 109 ovejas de pelo, 60 cíclicas y 49 amamantando, se distribuyeron en 4 grupos de manera aleatoria como se indica a continuación:

Ovejas cíclicas sin miel (OCSM, n=29): CIDR® Zoetis, México, por 9 d, aplicación 250 mg de PGF_{2α} (LUTALYSE®, Zoetis, México) 48 h antes de retirar el CIDR. A este grupo se le ofreció una dieta sin miel.

Ovejas amamantando sin miel (OASM, n=24): CIDR por 9 d, aplicación de 250 mg de PGF_{2α} 48 h antes de retirar el CIDR. A este grupo se le ofreció una dieta sin miel.

Ovejas cíclicas con miel (OCCM, n=31): CIDR CIDR® Zoetis, México, por 9 d, aplicación de 250 mg de PGF_{2α} (LUTALYSE®, Zoetis, México) 48 h antes de retirar el CIDR. A este grupo se le ofreció una dieta con 5% de miel durante los 9 d del protocolo.

Ovejas amamantando con miel (OACM, n=25): CIDR CIDR® Zoetis, México, por 9 d, aplicación de 250 mg de PGF_{2α} 48 h antes de retirar el CIDR. A este grupo se le ofreció una dieta con 5% de miel durante los 9 d del protocolo.

2.4.4. Detección de estros

La detección de estros se realizó después del retiro del CIDR, con intervalos de 30 min, hasta las 84 h con un carnero provisto de mandil. Se consideró que una oveja no había respondido al tratamiento si no presentó estro durante este tiempo. Las ovejas que manifestaron signos externos de estro (se mantiene inmóvil y permite la monta del carnero), se separaron del grupo para recibir monta controlada. Doce horas después de la primera monta, cada oveja recibió una segunda monta.

2.4.5. Retorno al estro

El retorno al estro se determinó al exponer a las ovejas a un carnero con mandil por 30 min con intervalos de 12 h, por 19 días después de la monta. Se consideró que las ovejas

retornaron al estro cuando manifestaron signos externos de estro (la hembra acepta y se queda quieta cuando la monta el macho).

2.4.6. Diagnóstico de gestación

El primer diagnóstico de gestación se determinó mediante la observación del no retorno a estro, durante los siguientes 19 días posteriores a la monta.

El segundo diagnóstico de gestación se realizó 35 días después de la monta mediante ecografía transrectal, con un ecógrafo veterinario portátil (UMS 900® Universal Medical System Inc. NY) con transductor rectal de 3.5-7 Mhz.

2.4.7. Variables evaluadas

- a. Respuesta al estro. - Porcentaje de ovejas que mostraron signos externos de estro.
- b. Inicio al estro. - Tiempo transcurrido (h) a partir del retiro del CIDR hasta la manifestación de signos de estro.
- c. Retorno al estro. - Porcentaje de ovejas que mostraron signos de estro en el periodo evaluado después de la monta.
- d. Porcentaje de gestación (%). - Relación porcentual entre el número de hembras gestantes y el total de ovejas expuestas al empadre.
- e. Porcentaje de parición. - Es el porcentaje de ovejas paridas entre el número total de ovejas del tratamiento.
- f. Fecundidad. - Es el número total de corderos nacidos entre el total de ovejas del tratamiento.
- g. Prolificidad. - Es el número total de corderos nacidos entre el número total de ovejas paridas de cada tratamiento.

2.4.8. Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial con dos niveles de estado fisiológico: cíclicas y lactantes; y dos niveles de miel: con o sin miel.

El modelo del diseño experimental utilizado fue:

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

Donde:

Y_{ijk} = Valor observado de la variable respuesta en la repetición k, nivel j de B y nivel i de A.

μ = Media poblacional.

A_i = Efecto del factor A al nivel i

B_j = Efecto del factor B al nivel j

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

E_{ijk} = Error experimental

Para el análisis estadístico se utilizó el software SAS 9.0 (SAS, 2002). El análisis para el inicio del estro se realizó con el análisis de homogeneidad de curvas de supervivencia con el procedimiento Lifetest. Las variables de respuesta de estro, retorno a estro, porcentaje de gestación y porcentaje de parición, se analizaron con el procedimiento Proc Logistic y las medias entre tratamientos fueron comparadas con la prueba de Chi cuadrado. Para el análisis de las variables fecundidad y prolificidad, se utilizó el procedimiento Genmod y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey. Las diferencias fueron establecidas usando un nivel de confianza menor al 5% ($p < 0.05$).

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1. Respuesta e inicio al estro

Como se puede observar en este estudio (Cuadro 5.2.), ni la suplementación con miel durante el protocolo de sincronización de estros ni el estado fisiológico de las ovejas influyeron en el porcentaje de ovejas que manifestaron estro ($p > 0.05$). La respuesta a tratamientos de sincronización de estro en ovejas de pelo en condiciones de trópico, generalmente es alta (Quintero-Elisea *et al.*, 2011). La evaluación de la respuesta a los protocolos de sincronización en ovejas de estas razas en otras regiones con manejo de la nutrición focalizada es de mucho interés, sobre todo si esto permite optimizar el uso de hormonas. En el periodo postparto, dos factores principales relacionados con la actividad ovárica son el amamantamiento y la nutrición (Arroyo-Ledezma *et al.*, 2000), los cuales prolongan el anestro postparto. Las altas demandas de nutrientes después del parto para la síntesis de leche y la limitada capacidad de consumo de alimentos, producen un desorden metabólico afectando negativamente la secreción de GnRH y LH, lo que retrasa el reinicio de la actividad ovárica postparto (Mateus *et al.*, 2002). Sin embargo en este estudio el efecto del amamantamiento no fue negativo para la respuesta al estro después de un protocolo de sincronización, lo que indica que la suplementación con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante el protocolo de sincronización es efectivo para inducir el estro en ovejas amamantando.

Cuadro 2.2. Respuesta e inicio al estro en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante un protocolo de sincronización

Estado fisiológico	n	Respuesta al estro		Inicio a estro h
		n'	%	
OCSM	29	28	96.55	41.39 ± 11.54 ^a
OASM	24	23	95.83	43.73 ± 10.81 ^{ab}
OCCM	31	30	96.77	54.59 ± 20.81 ^b
OACM	25	24	96.00	47.20 ± 11.15 ^{ab}

OCSM = Ovejas cíclicas sin miel, OASM = Ovejas amamantando sin miel, OCCM = Ovejas cíclicas con miel, OACM = Ovejas amamantando con miel

^{a, b} Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

n = número de ovejas por tratamiento; n' = número de ovejas que respondieron al estro.

En el inicio al estro se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$). La suplementación con miel durante el protocolo de sincronización, incrementó el tiempo de inicio a estro en OCCM. Aun cuando en las ovejas amamantando con y sin miel no se encontró diferencia se puede observar una tendencia similar (Cuadro 5.2., Figura 5.1.) .

Las curvas de supervivencia con los estimadores de Kaplan-Meier para los tiempos de inicio del estro de las ovejas en los diferentes tratamientos se muestran en la Figura 5.1., en donde puede observarse que el estado fisiológico de las ovejas afectó el inicio al estro, ya que fue más corto en ovejas cíclicas sin suplementación con miel durante el protocolo de sincronización, por otra parte, en las ovejas que fueron suplementadas con miel se prolongó el intervalo entre el retiro del CIDR y la manifestación del estro ($p < 0.05$).

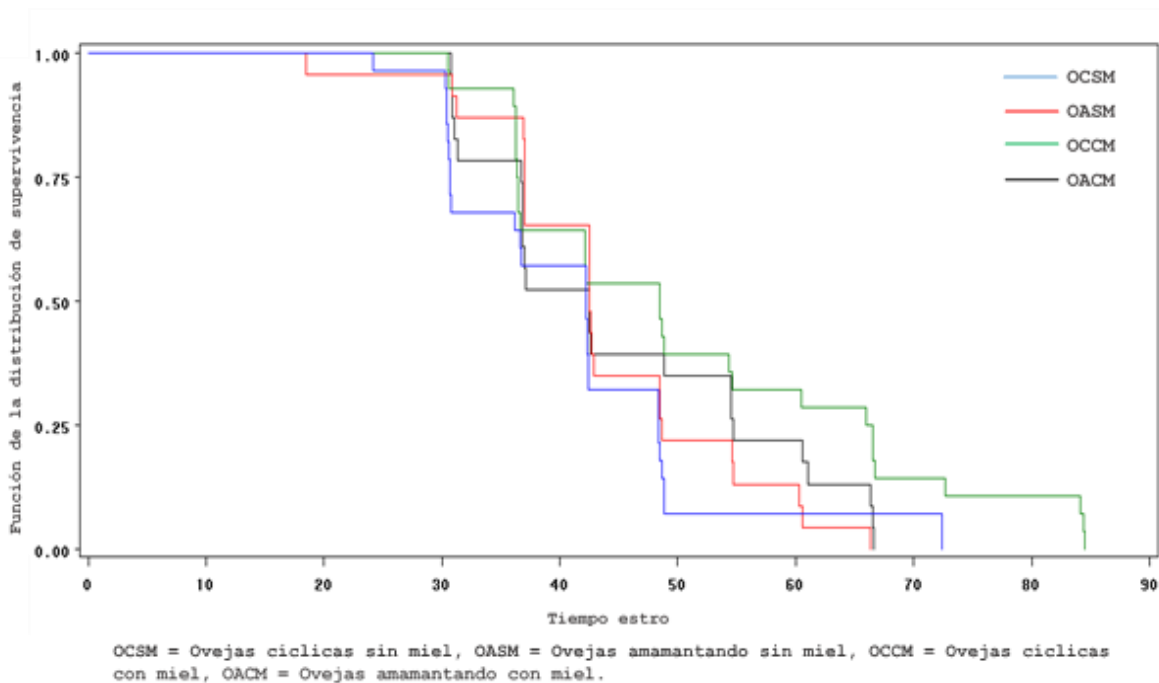


Figura 2.1. Curvas de supervivencia de inicio al estro en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante un protocolo de sincronización.

2.5.2. Retorno al estro y porcentaje de gestación

En este estudio el porcentaje de ovejas que retornaron a estro no fue afectado por el estado fisiológico o la suplementación con miel durante el protocolo de sincronización (Cuadro 5.3.). Varios factores son los que inciden en el retorno al estro: óvulos

persistentes, mortalidad embrionaria temprana, cuerpos lúteos de vida media corta, entre otros que hacen que el porcentaje de retornos se incremente.

Cuadro 2.3. Retorno al estro en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante un protocolo de sincronización.

Estado fisiológico	Ovejas que respondieron al estro		Retorno al estro	
	n	n´	%	
OCSM	28	7	25.0	
OASM	23	2	8.7	
OCCM	30	2	6.7	
OACM	24	4	16.7	

OCSM = Ovejas cíclicas sin miel, OASM = Ovejas amamantando sin miel, OCCM = Ovejas cíclicas con miel, OACM = Ovejas amamantando con miel.

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$).

n = número de ovejas que respondieron al estro; n´ = número de ovejas que retornaron al estro.

No se encontraron diferencias en el porcentaje de gestación determinado por no retorno al estro en el día 19 posteriores a la monta, de la misma forma los porcentajes de gestación fueron similares entre los tratamientos cuando se determinaron mediante ecografía transrectal el día 35 posteriores a la monta (Cuadro 5.4.). En todos los tratamientos, se observó disminución numérica entre las ovejas gestantes en el día 19 y las del día 35. Lo anterior podría deberse a fallas en la ovulación, fecundación o la existencia de muerte embrionaria o fetal tardía, tal como lo reportan Bari *et al.* (2003), Dixon *et al.* (2007) y Yotov (2012).

Cuadro 2.4. Porcentaje de gestación en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante un protocolo de sincronización.

Estado fisiológico	n	Ovejas gestantes d 19 J		Ovejas gestantes d 35 E	
		n'	%	n''	%
OCSM	29	22	75.8	19	65.52
OASM	24	22	91.7	19	79.17
OCCM	31	29	93.5	27	87.10
OACM	25	21	84.0	19	76.00

OCSM = Ovejas cíclicas sin miel, OASM = Ovejas amamantando sin miel, OCCM = Ovejas cíclicas con miel, OACM = Ovejas amamantando con miel.

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$)

n = número de ovejas por tratamiento; n' = número de ovejas gestantes al día 19; n'' = número de ovejas gestantes al día 35.

J Determinada por no retorno al estro el día 19 posteriores a la monta

E Determinada por ecografía el día 35 posterior a la monta

2.5.3. Porcentaje de parición y fecundidad

La alimentación de las ovejas es uno de los factores más importantes que influyen en el porcentaje de parición. Algunos estudios han demostrado que la tasa de ovulación aumenta en ovejas que reciben un suplemento de nutrientes antes del apareamiento (Branca *et al.*, 2000; Forcada y Abecia, 2006; Petrović *et al.*, 2012). Por otra parte, la reducción del intervalo parto-apareamiento por debajo de los 50 días induce una disminución significativa del porcentaje de parición. La mayoría de los autores recomiendan no inseminar a las ovejas antes de los 50 días (Anel *et al.*, 2005; Palacín *et al.*, 2012). Sin embargo, en este estudio el porcentaje de parición de las ovejas no fue afectado por el estado fisiológico o la suplementación con miel ($p > 0.05$), como se muestra en el Cuadro 5.5.

El promedio de la fecundidad en este estudio fue de 1.36. La suplementación con miel incrementó ($p < 0.05$) la fecundidad en OCCM contra OCSM (Cuadro 5.5.). La fecundidad esta relacionada con el porcentaje de respuesta al estro, gestación y prolificidad, por lo que estos factores que afectan a los anteriores repercuten en esta variable. Las ovejas cíclicas suplementadas con miel presentaron los valores más altos en la respuesta al estro (Cuadro 5.2.), el mayor porcentaje de ovejas gestantes (Cuadro 5.4.) y la mayor prolificidad (Cuadro 5.6.).

Estos resultados podrían ser explicados debido a que la suplementación con miel mejora las características del epitelio del útero (Zaid *et al.*, 2010), lo que podría contribuir a una mejor implantación embrionaria. Por otra parte, los compuestos bioactivos con actividad antioxidante (Polifenoles antioxidantes como flavonoides y ácidos fenólicos) proporcionan a los órganos reproductores un sistema de defensa vigoroso contra el estrés oxidativo inducido por niveles elevados de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Hashem *et al.*, 2021), lo que podría favorecer la supervivencia embrionaria.

Cuadro 2.5. Porcentaje de parición y fecundidad en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante un protocolo de sincronización.

Estado fisiológico	Ovejas paridas			Corderos nacidos n''	Fecundidad
	n	n'	%		
OCSM	29	19	65.52	30	1.03 ^b
OASM	24	19	79.17	35	1.45 ^{ab}
OCCM	31	27	87.10	56	1.80 ^a
OACM	25	18	72.00	29	1.16 ^{ab}

OCSM = Ovejas cíclicas sin miel, OASM = Ovejas amamantando sin miel, OCCM = Ovejas cíclicas con miel, OACM = Ovejas amamantando con miel.

^{a, b} Valores con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

n = número de ovejas por tratamiento; n' = número de ovejas paridas; n'' = número de corderos nacidos.

Dentro de las diferentes alternativas que existen para incrementar la fecundidad está la nutrición y el acceso a alimentos de mejor calidad. Una de las estrategias que permite un uso eficiente de los recursos es la suplementación corta o focalizada (Martin *et al.*, 2014).

Como se puede observar en el Cuadro 5.5 la suplementación con miel de abeja incrementó la fecundidad en ovejas cíclicas, sin embargo es probable que este efecto no haya sido observado en ovejas amamantando debido al efecto negativo de la lactancia dado que la concentración de prolactina se eleva en el anestro post parto y disminuye los pulsos de LH deprimiendo la fecundidad (Gordon, 1997).

2.5.4. Prolificidad

La suplementación con miel no influyó en la prolificidad ($p > 0.05$), esto puede atribuirse a que la progesterona después del retiro del CIDR, estimula la secreción de sustancias en la mucosa del oviducto y del útero que nutrirán al embrión hasta que éste comience a hacerlo a través de la placenta (Hernández y Zarco, 1998). No obstante, se observó un mayor valor numérico en la prolificidad de OCCM (Cuadro 5.6.). La suplementación poco antes y poco después del periodo de apareamiento podría aumentar la liberación de óvulos y mejorar la supervivencia del embrión. El manejo de la reproducción en relación con la nutrición es un recurso fundamental que se tiene que considerar en la práctica, ya que tiene un efecto directo en el índice de ovulación y prolificidad (Plakkot *et al.*, 2020).

Cuadro 2.6. Prolificidad en ovejas cíclicas y amamantando suplementadas con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante un protocolo de sincronización.

Estado fisiológico	Ovejas paridas	Corderos nacidos	Prolificidad
OCSM	19	30	1.57
OASM	19	35	1.84
OCCM	27	56	2.07
OACM	18	29	1.61

OCSM = Ovejas cíclicas sin miel, OASM = Ovejas amamantando sin miel, OCCM = Ovejas cíclicas con miel, OACM = Ovejas amamantando con miel.

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$)

2.6. CONCLUSIONES

La suplementación con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante un protocolo de sincronización de estros incrementó la fecundidad en ovejas cíclicas, la fecundidad es una variable de gran importancia económica que repercute en la cantidad de corderos disponibles, tanto para la venta como para el reemplazo del mismo rebaño, por lo que el efecto de la miel podría ser utilizado en protocolos de manejo reproductivo. Para proporcionar una mayor comprensión del efecto de la miel de abeja en el desempeño reproductivo de las ovejas, es necesario realizar estudios más sistemáticos, ya que la información de sus efectos sobre la actividad reproductiva es muy escasa y solo se han desarrollado estudios en roedores.

Por otra parte el estado fisiológico de las ovejas afectó el inicio al estro siendo más corto en ovejas cíclicas sin suplementación con miel durante el protocolo de sincronización.

CAPITULO III. INFLUENCIA DE LA JALEA REAL EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE OVEJAS DE PELO

3.1. RESUMEN

Estudios han demostrado que la jalea real (JR) producida por abejas obreras (*Apis mellifera*), mejora los parámetros reproductivos en diferentes especies. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de una dosis de JR (2.5g por 3d) vía endovenosa (EV) los días 7, 8 y 9 de un protocolo de sincronización de estros, y una dosis de JR (7.5g por 1d) vía subcutánea (SC) el día tres de un protocolo de sincronización de estros en ovejas amamantando, bajo la hipótesis de que la JR puede mejorar la respuesta reproductiva en ovejas amamantando. Eighty three sheep were synchronized with CIDR for 9 days. y recibieron una dosis de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) el día siete del protocolo. El diseño experimental fue completamente al azar y las ovejas fueron distribuidas en cuatro tratamientos: CIDR (n=20), CIDR+eCG (n=21), CIDR+ JR EV (n=21), CIDR+JR SC (n=21). El análisis para el inicio al estro se realizó con el método de homogeneidad de curvas de supervivencia con el procedimiento Lifetest. Las variables respuesta de estro, retorno a estro, porcentaje de gestación y parición, se analizaron utilizando PROC FREQ y las medias entre tratamientos se compararon con la prueba de Chi cuadrado. Para el análisis de fecundidad y prolificidad se utilizó PROC GLM y la comparación de medias con la prueba de Tukey. El tiempo al inicio del estro fue menor con el tratamiento CIDR+eCG (26.82 ± 9.97 h) seguido por CIDR+JR EV (44.57 ± 6.72 h). El porcentaje de parición fue mayor con el tratamiento CIDR+JR EV (90.5%) y menor en CIDR+300 UI de eCG (47.6%). El porcentaje de gestación, fecundidad y prolificidad fueron similares entre tratamientos. La aplicación de JR VE durante los tres últimos días de un protocolo de sincronización de 9 d disminuye el tiempo de inicio al estro e incrementa el porcentaje de parición. En protocolos de sincronización de estro con CIDR, tanto la aplicación de 2.5g d¹ de JR EV los días 7, 8 y 9 posteriores a la inserción de CIDR, como la aplicación de 300 UI de eCG 48 h antes de retirar el CIDR son eficaces en la sincronización del estro.

Palabras clave: Oveja de pelo, jalea real, eCG, CIDR, estro, manejo reproductivo.

3.2. ABSTRACT

Royal jelly (RJ) is produced by the hypopharyngeal glands of worker bees (*Apis mellifera*), and some studies have shown that it improves reproductive parameters in different species. The objective of this study was to evaluate the effect of a dose of RJ (2.5 g per 3 d) intravenously (IV) on days 7, 8 and 9 of an estrus synchronization protocol, and a dose of RJ (7.5 g per 1 d) subcutaneously (SC) on day three of a estrus synchronization protocol sheep suckling, under the hypothesis that RJ may improve reproductive response in sheep suckling. The sheep were synchronized with CIDR for 9 d and received a dose of prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) on day seven of the protocol. The experimental design was completely random, and the treatments were randomly assigned to 83 sheep: CIDR +SS; (n=20), CIDR + eCG (n=21), CIDR + RJ IV (n=21), CIDR + RJ SC (n=21). The analysis for the initiation of estrus was performed with the method of homogeneity of survival curves with the Lifetest method. The variables estrus response, return to estrus, gestation and calving percentage, were analyzed using the PROC FREQ and the averages between treatments were compared with the Chi square test. For the analysis of fertility and prolificacy, the PROC GLM was used and the comparison of averages with the Tukey test. The time at the beginning of estrus was shorter in the treatment CIDR + eCG (26.82 ± 9.97 h) followed by RJ IV (44.57 ± 6.72 h). The calving percentage was higher with RJ IV (90.5%) and less in eCG (52.6%). The percentage of gestation, fertility and prolificacy were similar between treatments. Administering RJ IV, the last three days of a synchronization protocol shortens the onset time to estrus and improves fertility. The use of 2.5 g d1 of royal jelly intravenously and 300 IU of eCG are effective in estrus synchronization.

Keywords: Sheep, royal jelly, eCG, CIDR, estrus, reproductive management.

3.3. INTRODUCCIÓN

Los protocolos de sincronización de estros con hormonas exógenas permite manipular los eventos reproductivos (Abecia y Forcada, 2011). Sin embargo, la producción animal está siendo desafiada por un cambio de actitud de los consumidores, lo cual ha tenido impacto en el mercado presentándose una demanda creciente de productos que sean

"limpios, verdes y éticos". Esto quiere decir que se deben cambiar hacia prácticas que reduzcan al mínimo o eviten completamente los tratamientos químicos y hormonales, así como prácticas que comprometan el bienestar de los animales (Martin, 2005). En los ovinos los protocolos más utilizados para la sincronización del estro se basan en tratamientos con progestágenos a través de dispositivos intravaginales (Boscos *et al.*, 2002; Estrada-Gandarilla *et al.*, 2009; Amiridis y Cseh, 2012). Los protocolos que utilizan progesterona o sus análogos se basan en la simulación de la acción de la progesterona natural, responsable del control de la secreción de LH (Awel *et al.*, 2009; Abecia *et al.*, 2011). En el caso de la eCG que es usada en protocolos de sincronización para promover el crecimiento folicular ya no está permitida en EE. UU. y países de la Unión Europea (Abecia *et al.*, 2011). Por otra parte, administraciones repetidas de eCG conducen a la producción de anticuerpos anti-eCG, con lo que disminuye su efectividad (Hervé *et al.*, 2004).

Por lo anterior, se está en la búsqueda de alternativas sustentables en la reproducción animal, una de ellas es la JR la cual es producida por las glándulas hipofaríngeas de las abejas obreras (*Apis mellifera*) y está compuesta por una secreción ácida de color blanco amarillento (Ramadan y Al-Ghamdi, 2012). Se considera un producto vital en la producción de abejas melíferas con altas propiedades biológicas y nutricionales. Algunos estudios realizados en ovejas han demostrado que la JR aumenta las concentraciones de progesterona (Husein y Kridli, 2002) y la tasa de gestación (Kridli *et al.*, 2003). También se ha demostrado que la JR modula la actividad estrogénica mediante la interacción con los receptores de estrógenos y mejora la expresión de ARNm en genes que responden a los estrógenos (Mishima *et al.*, 2005). El ácido 10-hidroci-trans-2decenoico (10-H2DA), ácido 10-hidroxidocanoico (HDAA), ácido trans-2-decenoico y 24-metilcolesterol son compuestos que están presentes en la JR y se han identificado en los sitios de unión a los ligandos más eficaces para los RE (Suzuki *et al.*, 2008). A partir de estos antecedentes, el propósito de este estudio fue evaluar la aplicación de JR vía subcutánea y endovenosa, en un protocolo de sincronización de estros en ovejas de pelo, bajo la hipótesis de que la JR puede mejorar la respuesta reproductiva en ovejas de pelo.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio los animales fueron manejados de acuerdo a las normas establecidas por el “Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados” (COLPOS, 2016).

3.4.1. Localización del área de estudio

El experimento se desarrolló de enero a julio de 2021, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, ubicado en Montecillo, Estado de México, localizado a 19° 29' N y 98° 53' W a 2250 msnm. El clima se clasifica como C (w0) (w) (i) g, templado subhúmedo con lluvias en verano y una precipitación anual de 636.5 mm, donde el porcentaje de lluvias invernales es menor al 5% total y la temperatura media es de 15.2 °C (García, 2004).

3.4.2. Animales y alimentación

En este estudio se usaron 83 ovejas de pelo lactantes (35 días postparto), edad de 3.5 ± 1.5 años y peso promedio 52.5 ± 15.7 Kg; fueron despezuzadas, desparasitadas (Ivermectina al 1 % Ivomec 1 ml 50 Kg⁻¹, Merial y Closantel® 2 ml Kg⁻¹, Chinoin, México) y se les aplicó una dosis de selenito de sodio (1 ml 50 Kg⁻¹ Selenie®, Virbac, México) 20 días antes de iniciar el experimento. El manejo profiláctico de los 20 carneros usados, fue similar al de las ovejas, y se evaluó la libido exponiendo a los carneros a ovejas en estro, observando su comportamiento y disponibilidad para la monta, la evaluación del semen fue macroscópica (volumen, aspecto y color) y microscópica (motilidad, concentración, morfología y viabilidad). Las ovejas permanecieron en corrales de 40 m² provistos de sombra, comederos y bebederos, garantizando su espacio vital.

Durante el desarrollo del experimento, todas las ovejas postparto consumieron 2.5 Kg oveja⁻¹ d⁻¹ de una dieta integral (15% PC, 2.5 Mcal EM) elaborada con avena henificada molida (40%), alfalfa henificada molida (29%), concentrado comercial (20%), maíz molido (5%), premezcla de minerales (1%) y melaza (5%). La ración diaria se ofreció a las 9:00 y 16:00 h.

Amamantamiento

El amamantamiento fue continuo; las ovejas y sus corderos permanecieron juntos desde el momento del nacimiento, hasta el momento del destete (55 días postparto).

Jalea real

La JR para este estudio se adquirió con un apicultor de la Mixteca Oaxaqueña y se mantuvo a 4 °C hasta su uso. La JR se diluyó (0.5 g mL⁻¹) en solución salina fisiológica 0.9 % (Pisa[®] Farmacéutica), para facilitar su administración endovenosa (EV) y subcutánea (SC) a las ovejas de los tratamientos T3: CIDR + JR EV y T4 CIDR + JR SC.

3.4.3. Tratamientos

T1: (CIDR, n=20); CIDR[®], Zoetis, México, por 9 d, aplicación de 250 mg PGF_{2α} (LUTALYSE[®], Zoetis, México) el día 7 después de la inserción del CIDR.

T2: (CIDR + eCG, n=21); CIDR[®], Zoetis, México, por 9 d, aplicación de 250 mg PGF_{2α}, (LUTALYSE[®], Zoetis, México) y 300 UI eCG el día 7 después de la inserción del CIDR.

T3: (CIDR + JR EV, n=21); CIDR[®], Zoetis, México, por 9 d, aplicación de 250 mg PGF_{2α}, (LUTALYSE[®], Zoetis, México) el día 7 después de la inserción de CIDR y aplicación de 2.5 g d⁻¹ oveja⁻¹ de JR vía endovenosa los días 7, 8 y 9 posteriores a la inserción de CIDR.

T4: (CIDR + JR SC, n=21); CIDR por 9 d, aplicación de 7.5 g de JR vía subcutánea el día tres después de la inserción del CIDR y aplicación de 250 mg PGF_{2α}, el día 7 después de la inserción de CIDR.

3.4.4. Detección de estros

La detección de estros se realizó después del retiro del CIDR, con intervalos de 30 min, hasta las 84 h con un carnero provisto de mandil. Se consideró que una oveja no había respondido al tratamiento si no presentó estro durante este tiempo. Las ovejas que manifestaron signos externos de estro (se mantiene inmóvil y permite la monta del carnero) se separaron del grupo para recibir monta controlada. Doce horas después de la primera monta, cada oveja recibió una segunda monta.

3.4.5. Retorno al estro

El retorno al estro se determinó al exponer a las ovejas a un carnero con mandil por 30 min con intervalos de 12 h, por 19 días después de la monta. Se consideró que las ovejas retornaron al estro cuando manifestaron signos externos de estro (la hembra acepta y se queda quieta cuando la monta el macho).

3.4.6. Diagnóstico de gestación

El primer diagnóstico de gestación se determinó mediante la observación del no retorno a estro, durante los siguientes 19 días posteriores a la monta.

El segundo diagnóstico de gestación se realizó 35 días después de la monta mediante ecografía transrectal, con un ecógrafo veterinario portátil (UMS 900® Universal Medical System Inc. NY) con transductor rectal de 3.5-7 Mhz.

3.4.7. Variables evaluadas

- a. Respuesta al estro. - Porcentaje de ovejas que mostraron signos externos de estro.
- b. Inicio al estro. - Tiempo transcurrido (h) a partir del retiro del CIDR hasta la manifestación de signos de estro.
- c. Retorno al estro. - Porcentaje de ovejas que mostraron signos de estro en el periodo evaluado después de la inseminaciónmonta por el macho.
- d. Porcentaje de gestación (%). - Relación porcentual entre el número de hembras gestante y el total de ovejas expuestas al empadre.
- e. Porcentaje de parición. - Es el porcentaje de ovejas paridas entre el número total de ovejas del tratamiento.
- f. Fecundidad. - Es el número total de corderos nacidos entre el total de ovejas del tratamiento.

g. Prolificidad. - Es el número total de corderos nacidos entre el total de ovejas paridas de cada tratamiento.

3.4.8. Análisis estadístico

Diseño experimental y tratamientos

Para evaluar la respuesta de las ovejas de pelo al efecto de JR en la actividad reproductiva se utilizó un diseño completamente al azar.

El modelo del diseño experimental utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor observado de la variable respuesta

μ = Media poblacional.

A_i = Efecto del tratamiento en su i-ésimo (nivel $i= 1, 2, 3$)

E_{ijk} = Error experimental asociado a Y_{ijk}

El análisis estadístico se realizó con el software SAS 9.0 (SAS, 2002). El análisis para el inicio del estro se realizó con el análisis de homogeneidad de curvas de supervivencia con el procedimiento Lifetest. Las variables respuesta de estro, retorno a estro, porcentaje de gestación y porcentaje de parición, se analizaron utilizando la rutina PROC FREQ y las medias entre tratamientos fueron comparadas con la prueba de Chi cuadrado. Para el análisis de fecundidad y prolificidad se utilizó el procedimiento GLM y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey. Las diferencias fueron establecidas usando un nivel de confianza menor al 5% ($p < 0.05$).

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1. Respuesta e inicio al estro

La incidencia general de estro detectada dentro de las 84 horas posteriores a la retirada del CIDR fue del 92.8%. La respuesta al estro no difirió significativamente ($p > 0.05$) entre los tratamientos (Cuadro 6.1.). Ello es acorde con lo reportado por Husein y Haddad (2006), ellos informaron que la ocurrencia del estro no difirió ($p > 0.05$) entre los grupos tratados con JR (85%), eCG (92.8%) y testigo (64.3%). Datos similares presentaron Kridli y Al-Khetib (2006), cuando compararon el efecto de la administración de dosis crecientes de JR contra eCG sobre los parámetros reproductivos en ovejas, ellos no detectaron diferencias significativas entre los grupos experimentales respecto a la respuesta al estro. Estos resultados demuestran que tanto la JR como eCG producen respuestas similares en los protocolos con dispositivos intravaginales con progesterona.

El tiempo de aparición del estro fue diferente significativamente ($p < 0.05$) entre los tratamientos. Los intervalos al inicio del estro fueron más cortos en el grupo de ovejas tratadas con eCG seguido del obtenido en el grupo JR EV, no se encontraron diferencias entre el grupo testigo y JR SC (Cuadro 6.1. y Figura 6.1.).). Estos resultados se deben a que la eCG estimula la producción de FSH y en menor medida LH, lo que incrementa el crecimiento folicular y el reclutamiento de folículos pequeños, aumentando la tasa ovulatoria (Dias *et al.*, 2001), permitiendo que el inicio del estro y la ovulación se presenten más rápido y uniforme (Uribe-Velásquez *et al.*, 2002), la eCG disminuye los efectos negativos de la P_4 e incrementa la secreción de E_2 (Bozkurt y Aköz, 2006; Martínez *et al.*, 2007), haciendo que el estros aparezca precozmente (Uribe-Velásquez *et al.*, 2008).

Cuadro 3.1. Respuesta e inicio al estro en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.

Tratamiento	n	Respuesta a estro		Inicio al estro
		n´	%	h
T1: CIDR	20	17	85.0	48.94 ± 7.81 ^{bc}
T2: CIDR + eCG	21	19	90.5	26.82 ± 9.97 ^a
T3: CIDR + JR EV	21	21	100.0	44.57 ± 6.72 ^b
T4: CIDR + JR SC	21	20	95.2	52.50 ± 10.40 ^c

^{a, b, c} Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)
n = número de ovejas por tratamiento; n´ = número de ovejas que respondieron al estro.

Estos resultados son acordes con los encontrados en otros estudios, Perez-Ruiz (2017) reportó diferencias en el tiempo de respuesta al estro ($p \leq 0.001$), el menor tiempo lo obtuvo con la aplicación de 300 UI de eCG (21.1 h), seguido del obtenido con la aplicación de JR 1g d⁻¹ los tres últimos días del protocolo (29.2 h) que fue mas corto que el grupo testigo (36.1 h). Por su parte, Husein y Haddad (2006) reportaron que el intervalo al estro fue mas corto en las ovejas tratadas con JR (31.3 h) y eCG (29.8 h) que en las del grupo testigo (41.3 h). La JR también muestra actividad estrogénica, mediada por la interacción con respecto a los estrógenos (Mishima *et al.*, 2005), lo cual podría explicar el menor tiempo de inicio al estro en las ovejas a las que se les administró JR via endovenosa 2.5 g d⁻¹ los días 7, 8, y 9 del protocolo, en comparación con las del grupo testigo.

En el presente estudio si bien la eCG mostró un menor tiempo de respuesta al estro, la JR aun cuando no hubo diferencias significativas fue la que presentó una mayor respuesta al estro (Cuadro 6.1) y una respuesta mas homogénea al estro (Figura 6.1) lo que facilita el manejo reproductivo de las ovejas. Por lo tanto, es factible sustituir a la eCG por la JR EV en los protocolos de sincronizacion de estros.

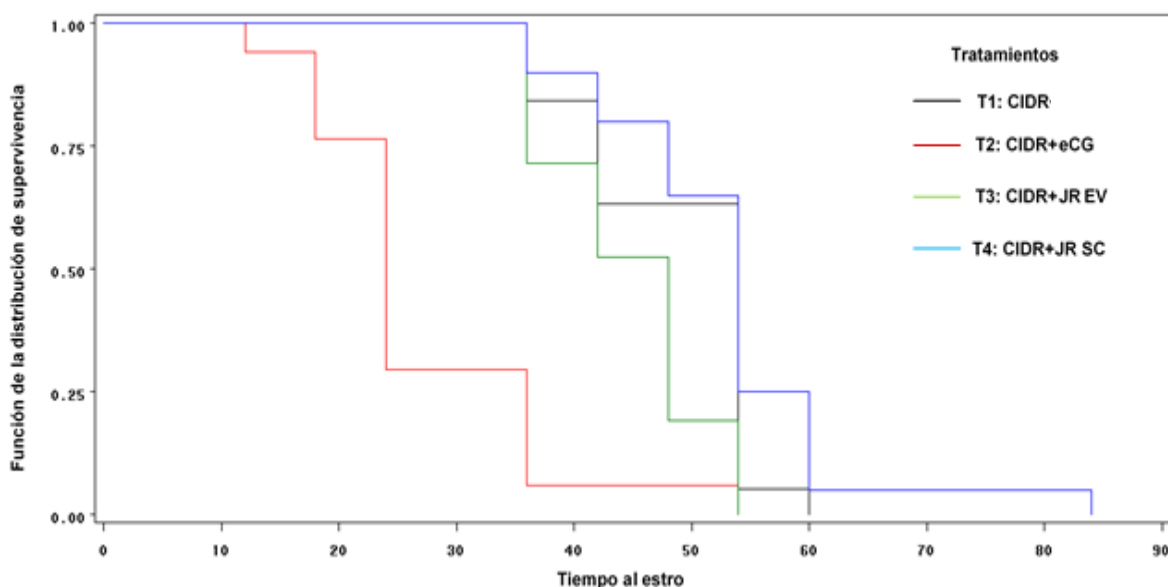


Figura 3.1 Curvas de supervivencia de inicio al estro en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.

En el presente estudio la vía de administración fue un factor determinante tanto en la respuesta al estro como en el tiempo al inicio a estro debido a que la administración por vía endovenosa elimina el proceso de absorción y descomposición de la JR al depositarlo directamente en la sangre. Esto da como resultado la elevación inmediata de los niveles séricos y una alta concentración en los órganos (corazón, cerebro, riñon y ovarios) (Anita McCutcheon y Rees Doyle, 2015). Por otro lado, la administración por vía subcutánea se deposita en el tejido subcutáneo lo que implica introducir la aguja hasta el tejido celular que está debajo de la piel. En este caso la velocidad de absorción también es lenta pero sostenida, por tanto, la absorción de la JR administrada por esta vía es más lenta (Dougherty y Lister, 2015), esto permite una absorción continua durante un periodo más prolongado (Hunter, 2008).

Estos resultados plantean la necesidad de continuar evaluando la administración de JR SC en diferentes momentos y dosis.

3.5.2. Retorno al estro y porcentaje de gestación

El porcentaje de ovejas que retornaron al estro (Cuadro 6.2.) no fue afectado por los tratamientos ($p > 0.05$), lo anterior muestra que la aplicación de JR es tan eficaz como la eCG lo que sugiere que ésta puede ser sustituida por JR en los protocolos de sincronización. Estos resultados concuerdan con los reportados por Pérez-Ruiz (2017) quien no encontró diferencias entre tratamientos cuando evaluó el efecto de dos dosis de JR (0.5 y 1.0 g por 3 d) al final de un protocolo de sincronización de estros. Esto podría estar relacionado con una de las principales causas de fallas reproductivas en los animales domésticos que es la mortalidad embrionaria (Walsh *et al.*, 2011). En los ovinos, la mayor mortalidad embrionaria ocurre alrededor de la implantación uterina (9 a 15 días de gestación), sin manifestar alteraciones del ciclo estral (Hafez, 2007), esto puede explicar el resultado similar entre tratamientos. Por otra parte Husein y Haddad, (2006) informaron que la administración de 12 dosis de JR 400 mg d⁻¹, vía intramuscular disminuyó el porcentaje de retorno a estro (28.6%) en comparación con el grupo testigo (57.1%).

Cuadro 3.2. Retorno al estro en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.

Tratamiento	n	Retorno al estro	
		n´	%
T1: CIDR	17	4	23.5
T2: CIDR + eCG	19	4	21.0
T3: CIDR + JR EV	21	2	9.5
T4: CIDR + JR SC	20	3	15.0

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$).

n = número de ovejas que respondieron al estro; n´ = número de ovejas que retornaron al estro.

El porcentaje de gestación al día 19 y 35 después de la monta no fue afectado ($p > 0.05$) por los tratamientos (Cuadro 6.3.), sin embargo los valores numéricos más altos corresponden a los tratamientos JR EV y JR SC, es probable que al incrementar el número de unidades experimentales pudieran hacerse evidentes estas diferencias de

manera estadística. Se observó disminución numérica de ovejas gestantes al día 35 en T2: CIDR + eCG. Del mismo modo Husein y Kridli, (2002) y Kridli, *et al.* (2003) informaron que la aplicación de JR no incrementó el porcentaje de gestación. Por otra parte, Husein y Haddad, (2006) mostraron que la administración de 12 dosis de JR 400 mg d⁻¹ vía IM incrementó el porcentaje de gestación (71.4%), en comparación con el grupo testigo (42.9%). En el presente estudio, tanto los tratamientos con JR como con eCG produjeron porcentajes de gestación similares. Es probable que la JR ejerza una función similar a la de eCG, provocando un mejor desarrollo folicular y mejores porcentajes de gestación.

Cuadro 3.3. Porcentaje de gestación en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.

Tratamiento	Ovejas gestantes d 19 †			Ovejas gestantes d 35 ‡	
	n	n´	%	n´´	%
T1: CIDR	20	13	65.0	13	65.0
T2: CIDR + eCG	21	15	71.4	14	66.7
T3: CIDR + JR EV	21	19	90.5	19	90.5
T4: CIDR + JR SC	21	17	80.9	17	80.9

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$)

n = número de ovejas por tratamiento; n´ = número de ovejas gestantes al día 19; n´´ = número de ovejas gestantes al día 35.

† Determinada por no retorno al estro en los 19 días posteriores a la monta

‡ Determinada por ecografía el día 35 posterior a la monta

3.5.3. Porcentaje de parición y fecundidad

Las pérdidas que ocurren durante la gestación se clasifican en mortalidad embrionaria (de la concepción a 35 días de gestación) y fetal (del día 35 al final de la gestación), presentándose un mayor porcentaje de las mismas durante la etapa embrionaria (30% de los ovocitos liberados), mientras que las pérdidas durante la etapa fetal generalmente son inferiores (5-7%) (Wilkins y Croker, 1990). Como consecuencia de las pérdidas gestacionales se observa una reducción de los porcentajes de parición del rebaño, que incrementa las pérdidas económicas para los sistemas de producción ovina (Dixon *et al.*, 2007).

El porcentaje de parición en el presente estudio fue superior ($p < 0.05$) en las ovejas tratadas con JR EV seguidas del grupo tratado con JR SC (Cuadro 6.4). Es probable que la aplicación de JR ejerza un efecto positivo en el reconocimiento materno de la gestación manteniendo durante las diferentes etapas de la misma un mayor porcentaje de sobrevivencia embrionaria y fetal. Por otro lado el tratamiento CIDR + eCG presentó el menor porcentaje de parición ($p < 0.05$), además se observa un paulatino descenso en la sobrevivencia embrionaria y fetal (Cuadros 6.3 y 6.4).

Lo anterior difiere con los estudios realizados por Husein y Haddad, (2006) y Kridli y Al-Khetib, (2006) quienes no encontraron diferencias estadísticas entre las ovejas tratadas con JR o eCG y las del grupo testigo. Los efectos de JR sobre el porcentaje de parición pueden deberse a que se indujo a las enzimas hepáticas para eliminar la JR (que es una sustancia extraña y potencialmente tóxica), lo que acelera la eliminación de progesterona y facilita la producción endógena de gonadotropinas, lo que mejora el desarrollo folicular (Kridli y Al-Khetib, 2006).

La fecundidad en las ovejas no fue estadísticamente diferente ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 6.3.). Estos hallazgos son similares a los reportados por Husein y Haddad, (2006) y Kridli y Al-Khetib, (2006), quienes no encontraron diferencias estadísticas en la fecundidad cuando las ovejas fueron tratadas con JR o eCG. Lo anterior sugiere que el efecto de la aplicación de JR es similar al que ejerce eCG.

Cuadro 3.4. Porcentaje de parición y fecundidad en ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.

Tratamiento	Ovejas paridas			Corderos nacidos	Fecundidad
	n	n'	%	n''	
T1: CIDR	20	13	65.0 ^{ab}	25	1.25
T2: CIDR + eCG	21	10	47.6 ^b	20	0.95
T3: CIDR + JR EV	21	19	90.5 ^a	34	1.62
T4: CIDR + JR SC	21	16	76.2 ^{ab}	25	1.19

a, b Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

n = número de ovejas por tratamiento; n' = número de ovejas paridas; n'' = número de corderos nacidos.

3.5.4. Prolificidad

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) en prolificidad, (Cuadro 6.5.). Esto concuerda con los informes de Husein y Haddad, (2006) y Kridli y Al-Khetib, (2006), quienes no encontraron diferencias estadísticas en la prolificidad cuando las ovejas fueron tratadas con JR o eCG. La prolificidad está relacionada con la tasa de ovulación, el número de óvulos fertilizados y la supervivencia embrionaria (Alabart *et al.*, 2016; Pineda *et al.*, 2018). Además, la prolificidad está determinada por factores genéticos y no genéticos, estos últimos pueden incluir la nutrición de la oveja antes del empadre, la condición corporal de la hembra, la estación del año, la edad cronológica de la hembra, el número de partos y el uso de diferentes tratamientos hormonales (Vicente-Pérez *et al.*, 2015; Alabart *et al.*, 2016), por lo que la prolificidad es altamente variable entre razas y condiciones de manejo.

Cuadro 3.5. Prolificidad de ovejas de pelo amamantando con un protocolo de sincronización del estro con la aplicación de jalea real vía endovenosa y subcutánea.

Tratamiento	Ovejas paridas n	Corderos nacidos	Prolificidad
T1: CIDR	13	25	1.92
T2: CIDR + eCG	10	20	2.00
T3: CIDR + JR EV	19	34	1.78
T4: CIDR + JR SC	16	25	1.56

No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$)

3.6. CONCLUSIONES

Si bien la eCG acorta el tiempo al estro, la jalea real vía endovenosa incrementa el porcentaje de parición cuando se aplica 2.5 g d^{-1} los tres últimos días de un protocolo de sincronización por nueve días. Aun cuando no se encontraron diferencias significativas en el resto de las variables, el uso de jalea real vía endovenosa y subcutánea en ovejas de pelo lactantes mostró valores numéricos más favorables en todas las variables, por lo que es probable que la jalea real por ambas vías pueda sustituir a la eCG en protocolos de sincronización de estros con progestágenos en ovejas de pelo lactantes, ya que variables como respuesta al estro, porcentaje de gestación y parición así como fecundidad son de interés económico ya que éstas reflejan la eficiencia en el manejo reproductivo. Por lo anterior, es de interés realizar más estudios en donde se pueda hacer pruebas en ambas vías evaluando dosis y tiempos de aplicación de la jalea real e incrementar el número de unidades experimentales.

CONCLUSIONES GENERALES

Los protocolos basados en tratamientos con CIDR durante nueve días y la aplicación de eCG mejoran la ocurrencia de ovulaciones fértiles y sincronizadas, sin embargo, es importante tomar en cuenta las exigencias del mercado global que demanda la disminución o incluso la eliminación de tratamientos hormonales en el manejo reproductivo de los animales.

La suplementación focalizada con miel de abeja (*Apis mellifera*) durante el protocolo de sincronización del estro con CIDR mejoró la fecundidad en ovejas de pelo cíclicas, dado su contenido de antioxidantes, estas sustancias podrían explicar algunos de los beneficios potenciales en el desempeño reproductivo. La fecundidad es una variable de gran importancia económica que repercute en la cantidad de corderos disponibles, tanto para la venta como para el reemplazo del mismo rebaño, por lo que el efecto de la suplementación con miel durante los protocolos de sincronización podría ser utilizado en el manejo reproductivo.

La inserción de un dispositivo intravaginal (CIDR) conteniendo progesterona durante nueve días combinado con la aplicación de jalea real vía endovenosa o subcutánea, mostraron un desempeño reproductivo aceptable en ovejas de pelo lactantes, por lo que es probable que la aplicación de JR pueda sustituir a eCG en los protocolos de sincronización del estro. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que permitan precisar la dosis, el momento y las estrategias de aplicación de JR.

El uso de productos naturales en el manejo reproductivo de las ovejas de pelo puede ser una alternativa para responder a la demanda de los consumidores de reducir el uso de fármacos sintéticos. Los productos de la abeja (miel y jalea real) pueden mejorar el comportamiento reproductivo de las ovejas de pelo, dado los componentes químicos de estos productos.

Es necesario desarrollar nuevos estudios que permitan evaluar el efecto de los productos apícolas (miel y jalea real) en el manejo reproductivo de los ovinos en donde se evalúen aspectos como vía de administración, dosis, periodos y momentos de aplicación, así

como la combinación entre la suplementación con miel y la aplicación de jalea real por vía endovenosa o subcutánea.

LITERATURA CITADA

- Abdelhafiz, A. T., and Muhamad, J. A. (2008). Midcycle pericoital intravaginal bee honey and royal jelly for male factor infertility. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 101(2), 146-149.
- Abecia, J. A., Forcada, F., and González-Bulnes, A. (2011). Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 27(1), 67-79.
- Abecia, J. A., Forcada, F., and González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal reproduction science*, 130(3-4), 173-179.
- Abdul-Ghani, A. S., Dabdoub, N., Muhammad, R., Abdul-Ghani, R., and Qazzaz, M. (2008). Effect of Palestinian honey on spermatogenesis in rats. *Journal of medicinal food*, 11(4), 799-802.
- Abu-Tarboush, H. M., Al-Kahtani, H. A., and El-Sarrage, M. S. (1993). Floral-type identification and quality evaluation of some honey types. *Food Chemistry*, 46(1), 13-17.
- Agarwal, A., Prabakaran, S. A., and Said, T. M. (2005). Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal of andrology*, 26(6), 654-660.
- Al-Hamedawi, T. M., Khammas, D. J., and Al-Ubaidi, A. S. (2003). Effect of estrus synchronization on vaginal flora and subsequent fertility in ewes. *Iraqi J. Vet. Sci*, 16, 73-79.
- Alabart, J. L., Lahoz, B., Calvo, J. H., Jurado, J. J., Fantova, E., and Folch, J. (2016). Studies and state of the art of the prolific genetic variant ROA (FecXR) in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Archivos de Zootecnia*, 65(251), 449-452.
- Alavez Ramírez, A., Arroyo Ledezma, J., Montes Pérez, R., Zamora Bustillos, R., Navarrete Sierra, L. F., and Magaña Sevilla, H. (2014). Estrus synchronization using progestogens or cloprostenol in tropical hair sheep. *Tropical animal health and production*, 46(8), 1515-1518.
- Albert, Š., and Kludiny, J. (2004). The MRJP/YELLOW protein family of *Apis mellifera*: identification of new members in the EST library. *Journal of Insect Physiology*, 50(1), 51-59.
- Alcay, S., Toker, M. B., Onder, N. T., and Gokce, E. (2017). Royal jelly supplemented soybean lecithin-based extenders improve post-thaw quality and incubation resilience of goat spermatozoa. *Cryobiology*, 74, 81-85.
- Alvarez-Suarez, J. M., Gonzalez-Paramas, A. M., Santos-Buelga, C., and Battino, M. (2010). Antioxidant characterization of native monofloral Cuban honeys. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(17), 9817-9824.

- Amiridis, G. S., and Cseh, S. (2012). Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. *Animal reproduction science*, 130(3-4), 152-161.
- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J. C., and De Paz, P. (2005). Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology*, 63(4), 1235-1247.
- Anita McCutcheon, J., & Rees Doyle, G. (2015). *Clinical procedures for safer patient care*. BCcampus.
- Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food chemistry*, 63(4), 549-562.
- Anselmo, J. M., Vara, I. A. D., y Rebollar, S. R. (2012). Margins of sheep meat marketing in Capulhuac, State of México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(1).
- Arroyo, J., Pérez, P., Porras, A. I., Vaquera, H., Pro, A., y Gallegos, J. (2000). Amamantamiento y concentracion serica de progesterona (P₄) postparto en ovejas Pelibuey. *Revista Chapingo. Serie Ingeniería Agropecuaria*. 3: 47-54.
- Arroyo-Ledezma, J., Gallegos-Sánchez, J., Villa Godoy, A., and Valencia Méndez, J. (2006). Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: una revisión. *Interciencia*, 31(1), 8-15.
- Arroyo, J., Magaña-Sevilla, H., and Camacho-Escobar, M. A. (2009). Regulación neuroendocrina del anestro posparto en la oveja. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(3), 301-312.
- Ascari, I. J., Alves, N. G., Alves, A. C., Garcia, I. F. F., and Junqueira, F. B. (2016). Resumption of cyclic ovarian activity in postpartum ewes: A review. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(2), 1101-1115.
- Asiyah, H.A.; Syazana, N.S.; Hashida, N.H.; Durriyyah Sharifah, H.A.; Kamaruddin, M.Y. (2011). Effects of nicotine and Gelam honey on testisparameters and sperm qualities of juvenile rats. *Scientific Research and Essays*, 6, 5471–5474.
- Atanassova, J., and Lazarova, M. (2012). Pollen and inorganic characteristics of Bulgarian unifloral honeys. *Czech Journal of Food Sciences*, 30(6), 520-526.
- Awel, H., Eshetu, L., Tadesse, G., Birhanu, A., and Khar, S. K. (2009). Estrus synchronization in sheep with synthetic progestagens. *Tropical animal health and production*, 41(7), 1521-1524.
- Balan-May, D., Chiquini-Medina, R., Flota-Bañuelos, C., Hernández-Marín, A., Rosales-Martínez, V., and Fraire-Cordero, S. (2021). Short-term protocols for the estrus synchronization in hair sheep in Campeche, Mexico. *Abanico veterinario*, 11.
- Ball, D. W. (2007). The chemical composition of honey. *Journal of chemical education*, 84(10), 1643.

- Bari, F., Khalid, M., Haresign, W., Murray, A., & Merrell, B. (2003). Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. *Theriogenology*, 59(5-6), 1265-1275.
- Bărnuțiu, L. I., Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D. S., Mihai, C. M., and Bobiș, O. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of Royal Jelly-REVIEW. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 44(2), 67-72.
- Baroni, M. V., Arrua, C., Nores, M. L., Fayé, P., del Pilar Díaz, M., Chiabrando, G. A., and Wunderlin, D. A. (2009). Composition of honey from Córdoba (Argentina): Assessment of North/South provenance by chemometrics. *Food Chemistry*, 114(2), 727-733.
- Barrett, D. M., Duggavathi, R., Davies, K. L., Bartlewski, P. M., Bagu, E. T., and Rawlings, N. C. (2007). Differential effects of various estradiol-17beta treatments on follicle-stimulating hormone peaks, luteinizing hormone pulses, basal gonadotropin concentrations, and antral follicle and luteal development in cyclic ewes. *Biology of reproduction*, 77(2), 252-262.
- Bartlewski, P. M., Beard, A. P., and Rawlings, N. C. (1999). Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Animal Reproduction Science*, 57(1-2), 51-66.
- Bartlewski, P. M., Beard, A. P., and Rawlings, N. C. (2000). Ultrasonographic study of ovarian function during early pregnancy and after parturition in the ewe. *Theriogenology*, 53(3), 673-689.
- Bartlewski, P. M., Beard, A. P., and Rawlings, N. C. (2001). Ultrasonographic study of the effects of the corpus luteum on antral follicular development in unilaterally ovulating western white-faced ewes. *Animal Reproduction Science*, 65(3-4), 231-244.
- Bartlewski, P. M., Baby, T. E., and Giffin, J. L. (2011). Reproductive cycles in sheep. *Animal reproduction science*, 124(3-4), 259-268.
- Batista, B. L., Da Silva, L. R. S., Rocha, B. A., Rodrigues, J. L., Berretta-Silva, A. A., Bonates, T. O., and Barbosa, F. (2012). Multi-element determination in Brazilian honey samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and estimation of geographic origin with data mining techniques. *Food Research International*, 49(1), 209-215.
- Bazzan, A. P., Tedesco, D., Menestrina, A. L., Machado, S. A., da Rocha, R. X., and Bragança, J. F. M. (2013). Re-utilization of an intravaginal device with progesterone in the induction/synchronization of estrus in the sheep. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 108(587/588), 143-146.
- Belitz, H. D., Grosch, W., and Schieberle, P. (2004). Sugars, sugar alcohols and honey. In *Food chemistry* (pp. 862-891). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Bilikova, K., and Simuth, J. (2010). New criterion for evaluation of honey: quantification of royal jelly protein apalbumin 1 in honey by ELISA. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(15), 8776-8781.
- Bjelakovic, G., Nikolova, D., Simonetti, R. G., and Gluud, C. (2004). Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 364(9441), 1219-1228.
- Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P., Albertini, M. C., and Piatti, E. (2006). Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*, 97(2), 217-222.
- Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P., and Piatti, E. (2007). Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. *Food chemistry*, 104(4), 1635-1640.
- 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*, 963-982.
- Bogdanov, S., Haldimann, M., Luginbühl, W., and Gallmann, P. (2007). Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research*, 46(4), 269-275.
- Boscos, C. M., Samartzi, F. C., Dellis, S., Rogge, A., Stefanakis, A., and Krambovitis, E. (2002). Use of progestagen–gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*, 58(7), 1261-1272.
- Boselli, E., Caboni, M. F., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., and Lercker, G. (2003). Determination and changes of free amino acids in royal jelly during storage. *Apidologie*, 34(2), 129-137.
- Bozkurt, M., and Aköz, M. (2006). GNRH-PGF2 α and PGF2 α -PGF2 α synchronization in akkaraman cross-bred sheep in the breeding season. *Bull Veterinary Institute Pulawy*, 50, 101-104.
- Branca, A., Molle, G., Sitzia, M., Decandia, M., and Landau, S. (2000). Short-term dietary effects on reproductive wastage after induced ovulation and artificial insemination in primiparous lactating Sarda ewes. *Animal Reproduction Science*, 58(1-2), 59-71.
- Brunet, A. G., Santiago-Moreno, J., Toledano-Diaz, A., and LÃ³pez-SebastiÃ¡n, A. (2011). Reproductive seasonality and its control in Spanish sheep and goats. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(S1).
- Buratovich, O. (2010). Eficiencia reproductiva en ovinos: factores que la afectan. Parte II: otros factores no nutricionales. Sitio Argentino de Producción Animal www.produccion-animal.com.ar.

- Burns, B. M., Fordyce, G., and Holroyd, R. G. (2010). A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf-Implications for reproductive efficiency in northern Australia. *Animal Reproduction Science*, 122(1-2), 1-22.
- Buttstedt, A., Moritz, R. F., and Erler, S. (2014). Origin and function of the major royal jelly proteins of the honeybee (*Apis mellifera*) as members of the yellow gene family. *Biological Reviews*, 89(2), 255-269.
- Caraty, A., Smith, J. T., Lomet, D., Ben Said, S., Morrissey, A., Cognie, J., and Clarke, I. J. (2007). Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinology*, 148(11), 5258-5267.
- Cavia, M. M., Fernández-Muino, M. A., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F., and Sancho, M. T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food chemistry*, 100(4), 1728-1733.
- Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., and Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, 83(3), 924-929.
- COLPOS. (2016). Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados. México.
- Contreras-Solis, I., Vasquez, B., Diaz, T., Letelier, C., Lopez-Sebastian, A., and Gonzalez-Bulnes, A. (2009). Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and "male effect". *Theriogenology*, 71(6), 1018-1025.
- Córdova-Izquierdo, A., Córdova-Jiménez, M. S., Córdova-Jiménez, C. A., y Guerra-Liera, J. E. (2008). Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. *Revista Veterinaria*, 19(1), 67-79.
- Córdova-Izquierdo, A., Xolalpa-Campos, V. M., Ruiz-Lang, C. G., Espinosa-Cervantes, R., Cordova-Jimenez, C. A., Méndez-Mendoza, M., and Guerra-Liera, E. (2012). Effect of cloprostenol and fluorogestone acetate more PMSG on synchronization and no return to estrus in seasonal anestrus dorper sheep. *Journal of Applied Sciences Research*, (March), 1612-1614.
- Crane, E. (1990). The traditional hive products: honey and beeswax, Chapter 13, pp: 388-451. *Bees and Beekeeping*.
- Cutshaw, J. L., Hunter, J. F., and Williams, G. L. (1992). Effects of transcutaneous thermal and electrical stimulation of the teat on pituitary luteinizing hormone, prolactin and oxytocin secretion in ovariectomized, estradiol-treated beef cows following acute weaning. *Theriogenology*, 37(4), 915-934.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., and Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food chemistry*, 196, 309-323.

- Daniele, G., Maitre, D., and Casabianca, H. (2012). Identification, quantification and carbon stable isotopes determinations of organic acids in monofloral honeys. A powerful tool for botanical and authenticity control. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 26(17), 1993-1998.
- Delgadillo, J. A., y Martin, G. B. (2015). Alternative methods for control of reproduction in small ruminants: A focus on the needs of grazing industries. *Animal Frontiers*, 5(1), 57-65.
- Dias, F. E. F., Lopes Junior, E. S., Villaroel, A. B. S., Rondina, D., Lima-Verde, J. B., Paula, N. R. O., y Freitas, V. J. F. (2001). Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica eqüina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 53, 618-623.
- Díaz-Sánchez, C. C., Jaramillo-Villanueva, J. L., Bustamante-González, Á., Vargas-López, S., Delgado-Alvarado, A., Hernández-Mendo, O., y Casiano-Ventura, M. Á. (2018). Evaluación de la rentabilidad y competitividad de los sistemas de producción de ovinos en la región de Libres, Puebla. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 9(2), 263-277.
- Dimitrova, B., Gevrenova, R., and Anklam, E. (2007). Analysis of phenolic acids in honeys of different floral origin by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 18(1), 24-32.
- Dixon, A. B., Knights, M., Winkler, J. L., Marsh, D. J., Pate, J. L., Wilson, M. E., and Inskeep, E. K. (2007). Patterns of late embryonic and fetal mortality and association with several factors in sheep. *Journal of Animal Science*, 85(5), 1274-1284.
- Dougherty, L., and Lister, S. (Eds.). (2015). *The Royal Marsden manual of clinical nursing procedures*. John Wiley & Sons.
- Drapeau, M. D., Albert, S., Kucharski, R., Prusko, C., and Maleszka, R. (2006). Evolution of the Yellow/Major Royal Jelly Protein family and the emergence of social behavior in honey bees. *Genome Research*, 16(11), 1385-1394.
- Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M., 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(2), 393-407.
- Eisler, M. C., Lee, M. R., Tarlton, J. F., Martin, G. B., Beddington, J., Dungait, J. A., and Winter, M. (2014). Agriculture: steps to sustainable livestock. *Nature*, 507(7490), 32-34.

- Ekström, P., and Meissl, H. (2003). Evolution of photosensory pineal organs in new light: the fate of neuroendocrine photoreceptors. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 358(1438), 1679-1700.
- Elnagar, S. A. (2010). Royal jelly counteracts bucks' "summer infertility". *Animal reproduction science*, 121(1-2), 174-180.
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Ab Wahab, M. S., Sirajudeen, K. N. S., Salleh, M. S. M., and Gurtu, S. (2011). Glibenclamide or metformin combined with honey improves glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats. *International journal of biological sciences*, 7(2), 244.
- Eshtiyaghi, M., Deldar, H., Pirsaraei, Z. A., and Shohreh, B. (2016). Royal jelly may improve the metabolism of glucose and redox state of ovine oocytes matured in vitro and embryonic development following in vitro fertilization. *Theriogenology*, 86(9), 2210-2221.
- Estrada-Gandarilla, M., Tintori-Romero, B. C., Flores-Mariñalarena, A., Corral-Flores, G., Anchondo-Garay, A., y Rodríguez-Muela, C. (2009). Propuesta para la fabricación y uso de una esponja para sincronizar estros y su respuesta a la fertilidad en ovejas. *Tecnociencia Chihuahua*, 3(3), 154-159.
- 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(3), 399-408.
- Forcada, F., and Abecia, J. A. (2006). The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Reproduction Nutrition Development*, 46(4), 355-365.
- Forcada, F., Amer-Meziane, M. A., Abecia, J. A., Maurel, M. C., Cebrián-Pérez, J. A., Muíño-Blanco, T., and Casao, A. (2011). Repeated superovulation using a simplified FSH/eCG treatment for in vivo embryo production in sheep. *Theriogenology*, 75(4), 769-776.
- Fornazari, R., Mateus, Ó., Correia, T. M., Quintas, H., Maurício, R., Conradi, A., and Valentim, R. (2018). Estrus synchronization and artificial insemination with fresh and chilled semen in Assaf ewes. *Agricultural Sciences*, 9(1), 8-22.
- Fraire-Cordero, S., Rodríguez, P. P., Pérez-Hernández, P., Cortez-Romero, C., and Gallegos-Sánchez, J. (2018). Reproductive response of Pelibuey sheep to the application of recombinant bovine somatotropin and a metabolic restorative preparation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53, 1392-1398.
- Fraire-Cordero, S., Pró-Martínez, A., Ramírez-Valverde, G., Sánchez-del Real, C., and Gallegos-Sánchez, J. (2013). Selenio y vitamina E en la fertilidad de ovejas pelibuey sincronizadas con progesterona. *Universidad y ciencia*, 29(1), 33-44.
- Gallegos-Sánchez, J., G. Morales-Terán, O. Tejedo-Sartorius, y P. Pérez-Hernández. (2009). Manejo del anestro postparto para mejorar la eficiencia reproductiva de las ovejas. *Pequeños Rumiantes*. 10(3): 16-25.

- García, E. (2004). Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México, DF.
- García, B. O., and Castillo, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15), 6185-6205.
- Gasic, S., Vucevic, D., Vasilijic, S., Antunovic, M., Chinou, I., and Colic, M. (2007). Evaluation of the immunomodulatory activities of royal jelly components in vitro. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 29(3-4), 521-536.
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., y Tempio, G. (2013). Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Gheldof, N., Wang, X. H., and Engeseth, N. J. (2002). Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5870-5877.
- Gimenez-Diaz, C., Emsen, B., Emsen, E., Kutluca, M., and Koycegiz, F. (2012). Improved reproductive response of sheep in intrauterine insemination program with the use of royal jelly. *African Journal of Biotechnology*, 11(61), 12518-12521.
- Ginther, O. J., Kot, K., and Wiltbank, M. C. (1995). Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology*, 43(3), 689-703.
- Gonzalez-Bulnes, A., Veiga-Lopez, A., Garcia, P., Garcia-Garcia, R. M., Ariznavarreta, C., Sanchez, M. A., and Flores, J. M. (2005). Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, 63(9), 2523-2534.
- González-Paramás, A. M., Gómez-Bárez, J. A., Garcia-Villanova, R. J., Rivas-Palá, T., Ardanuy-Albajar, R., and Sánchez-Sánchez, J. (2000). Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(1), 157-165.
- González-Paramás A. M., Gómez-Bárez J. A., Cerdón-Marcos C., García-Villanova R. J., and Sánchez-Sánchez J. (2006) HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chemistr* 95:148–156.
- Goodman, R. L., and Inskeep, E. K. (2006). Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the sheep. In Knobil and Neill's physiology of reproduction (pp. 2389-2447). Academic Press.
- Gordon, I. (1997). Artificial control of oestrus and ovulation. *Controlled reproduction in sheep and goat*. CAB International, 2, 105.

- Gündoğan, M., Baki, D., and Yeni, D. (2003). Reproductive seasonality in sheep. *Acta Agric Scand (A)*, 53(4), 175-179.
- Guo, H., Kouzuma, Y., and Yonekura, M. (2009). Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*, 113(1), 238-245.
- Gutierrez, C. G., Ferraro, S., Martinez, V., Saharrea, A., Cortez, C., Lassala, A., and Hernandez, J. (2011). Increasing ovulation quota: more than a matter of energy. *Acta Scientia e Veterinariae*, 39(1), s305-s316.
- Hafez, E. S. E., y Hafez, B. (2007). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. McGraw-hill.
- Hasani, N., Ebrahimi, M., Ghasemi-Panahi, B., and HosseinKhani, A. (2018). Evaluating reproductive performance of three estrus synchronization protocols in Ghezel ewes. *Theriogenology*, 122, 9-13.
- Hashem, N. M., Hassanein, E. M., and Simal-Gandara, J. (2021). Improving reproductive performance and health of mammals using honeybee products. *Antioxidants*, 10(3), 336.
- Hashemi, M., Safdarian, M., and Kafi, M. (2006). Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research*, 65(3), 279-283.
- Herbison, A. E. (2018). The gonadotropin-releasing hormone pulse generator. *Endocrinology*, 159(11), 3723-3736.
- Herbison, A. E., and Pape, J. R. (2001). New evidence for estrogen receptors in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Frontiers in neuroendocrinology*, 22(4), 292-308.
- Hernández, C. J., y Zarco, Q. L. A. (1998). Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia veterinaria*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México, DF, 8, 1-28.
- Hernández-Cortázar, I., Rejón-Ávila, M., Valencia-Heredia, E., and Araujo-Andrade, L. (2014). Sheep production investment analysis in the municipality of Tzucacab, Yucatan, Mexico. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 18(34), 677-687.
- 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(3).
- Hernández, C. J., & Zarco, Q. L. A. (1998). Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia veterinaria*. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, DF, 8, 1-28.

- Herrera, J., Jordán, H., y Senra, A. F. (2010). Aspectos del manejo y alimentación de la reproductora ovina Pelibuey en Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(3), 211-219.
- Hervé, V., Roy, F., Bertin, J., Guillou, F., and Maurel, M. C. (2004). Antiequine chorionic gonadotropin (eCG) antibodies generated in goats treated with eCG for the induction of ovulation modulate the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone bioactivities of eCG differently. *Endocrinology*, 145(1), 294-303.
- Hunter, J. (2008). Subcutaneous injection technique. *Nursing Standard*, 22(21).
- Husein, M. Q., and Haddad, S. G. (2006). A new approach to enhance reproductive performance in sheep using royal jelly in comparison with equine chorionic gonadotropin. *Animal Reproduction Science*. 93: 24-33.
- Husein, M., and Kridli, R. (2002). Reproductive responses following royal jelly treatment administered orally or intramuscularly into progesterone-treated Awassi ewes. *Animal Reproduction Science*, 74(1-2), 45–53.
- Iida, K., Kobayashi, N., Kohno, H., Miyamoto, A., and Fukui, Y. (2004). A comparative study of induction of estrus and ovulation by three different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. *Journal of Reproduction and Development*, 50(1), 63-69.
- Jendekova, L., Kojšová, S., Andriantsitohaina, R., and Pecháňová, O. (2006). The time-dependent effect of Provinols on brain NO synthase activity in L-NAME-induced hypertension. *Physiological research*, 55.
- Kadri, S. M., Zaluski, R., and de Oliveira Orsi, R. (2017). Nutritional and mineral contents of honey extracted by centrifugation and pressed processes. *Food Chemistry*, 218, 237-241.
- Kandaswami, C., and Middleton, E. (1994). Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. *Free radicals in diagnostic medicine*, 351-376.
- Kazu-Michi, S., Yoichiro, I., Hiroe, M., Yayoi, Y., Yukio, N., Shozo, O., Yoko, A., Takeshi, M., and Satoshi, M. (2008). Estrogenic Activities of Fatty Acids and a Sterol Isolated from Royal Jelly. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(3), 295-302.
- Khalil, M. I., Sulaiman, S. A., and Gan, S. H. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and chemical toxicology*, 48(8-9), 2388-2392.
- Khalil, M. L., and Sulaiman, S. A. (2010). The potential role of honey and its polyphenols in preventing heart disease: a review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 7(4).

- Kirschke, S., Bousquet, P., Ciais, P., Saunois, M., Canadell, J. G., Dlugokencky, E. J., y Zeng, G. (2013). Three decades of global methane sources and sinks. *Nature geoscience*, 6(10), 813-823.
- Kodai, T., Umebayashi, K., Nakatani, T., Ishiyama, K., and Noda, N. (2007). Compositions of royal jelly II. Organic acid glycosides and sterols of the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55(10), 1528-1531.
- Kridli, R. T., and Al-Khetib, S. S. (2006). Reproductive responses in ewes treated with eCG or increasing doses of royal jelly. *Animal reproduction science*, 92(1-2), 75-85.
- Kridli, R. T., Husein, M. Q., and Humphrey, W. D. (2003). Effect of royal jelly and GnRH on the estrus synchronization and pregnancy rate in ewes using intravaginal sponges. *Small Ruminant Research*, 49(1), 25-30.
- Kumar V. (1997). Photoperiodism in higher vertebrates: an adaptive strategy in temporal environment. *Indian Journal of Experimental Biology* 35, 427-437.
- Lee, D. C., Lee, S. Y., Cha, S. H., Choi, Y. S., and Rhee, H. I. (1998). Discrimination of native bee-honey and foreign bee-honey by SDS-PAGE. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 30(1), 1-5.
- Lercker, G., Capella, P., Conte, L. S., Ruini, F., and Giordani, G. (1981). Components of royal jelly: I. Identification of the organic acids. *Lipids*, 16(12), 912-919.
- Lercker, G., Caboni, M. F., Vecchi, M. A., Sabatini, A. G., and Nanetti, A. (1992). Characterization of the main constituents of royal jelly. *Apicoltura*, 8, 27-37.
- Li, X. A., Huang, C., and Xue, Y. (2013). Contribution of lipids in honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly to health. *Journal of medicinal food*, 16(2), 96-102.
- Lincoln G.A., Clarke IJ, Hut RA, and Hazlerigg D.G. (2006). Characterizing a mammalian circannual pacemaker. *Science*. 314, 1941-4.
- López-García, S., Sánchez-Torres, M. T., Cordero-Mora, J. L., Figueroa-Velasco, J. L., Martínez-Aispuro, J. A., García-Cué, J. L., and Cárdenas-León, M. (2021). Estrous synchronization in sheep with reused progesterone devices and eCG. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 50.
- Lozano-González, J. F., Uribe-Velásquez, L. F., y Osorio, J. H. (2012). Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (*Ovis aries*). *Veterinaria y zootecnia*, 6(2), 134-148.
- Luther, J. S., Grazul-Bilska, A. T., Kirsch, J. D., Weigl, R. M., Kraft, K. C., Navanukraw, C., and Redmer, D. A. (2007). The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. *Small Ruminant Research*, 72(2-3), 227-231.

- Macías-Cruz, U., Ponce-Covarrubias, J. L., Álvarez-Valenzuela, F. D., Correa-Calderón, A., Meza-Herrera, C. A., and Avendaño-Reyes, L. (2013). Reproductive efficiency of Pelibuey and Romanovx Pelibuey ewes synchronized with synthetic progesterone and low doses of PMSG under a hot environment. *Czech J Anim Sci*, 58, 546-553.
- Maghsoudlou, A., Mahoonak, A., Mohebodini, H., and Toldra, F. (2019). Jalea Real: Química, Almacenamiento y Bioactividades. *Journal of Apicultural Science*, 63(1), 17-40.
- Mandiki, S. N. M., Bister, J. L., and Paquay, R. (1990). Effects of suckling mode on endocrine control of reproductive activity resumption in Texel ewes lambing in July or November. *Theriogenology*, 33(2), 397-413.
- Martin, G. B., Milton, J. T. B., R. H. Davidson, G. E. Banchemo-Hunzicker, D. R. Lindsay, and D. Blanche. (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 82-83: 231-246.
- Martin, G. B. (2005). Métodos “limpios, verdes y éticos” para aumentar la eficiencia reproductiva en pequeños rumiantes. Curso Internacional IV. Reproducción de Rumiantes. Producción Limpia, Verde y Ética. Programa de Ganadería, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Mexico. 1, 1-15.
- Martin, G. B. (2009). The ‘clean, green and ethical’ concept in animal production. *Agrociencia*, 13(3), 1-7.
- Martin, G. B. (2014). An Australasian perspective on the role of reproductive technologies in world food production. *Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production*, 181-197.
- Martínez J. J., Sánchez M. T., Bucio L., Rojo R., Mendoza G. D., Cordero J. L., Mejía O. (2006). Efecto de ECG e inseminación laparoscópica sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (damara x merino). *Revista Científica*, 16, 1, 72-77.
- Martínez-González, S., Aguirre-Ortega, J., Gómez-Danés, A., Ruíz-Félix, M., Lemus-Flores, C., Macías-Coronel, H., Moreno Flores, L., Salgado-Moreno, S., y Ramírez-Lozano, M. (2010). Tecnología para mejorar la producción ovina en México. *Revista CONACYT*, 5, 41–51.
- Martínez-González, E. G., Muñoz-Rodríguez, M., García-Muñiz, J. G., Santoyo-Cortés, V. H., Altamirano-Cárdenas, J. R., y Romero-Márquez, C. (2011). El fomento de la ovinocultura familiar en México mediante subsidios en activos: lecciones aprendidas. *Agronomía mesoamericana*, 22(2), 367-377.
- Martinez-Ros, P., Lozano, M., Hernandez, F., Tirado, A., Rios-Abellan, A., López-Mendoza, M. C., and Gonzalez-Bulnes, A. (2018). Intravaginal device-type and treatment-length for ovine estrus synchronization modify vaginal mucus and microbiota and affect fertility. *Animals*, 8(12), 226.

- Martinez-Ros, P., Rios-Abellan, A., and Gonzalez-Bulnes, A. (2019). Influence of progesterone-treatment length and eCG administration on appearance of estrous behavior, ovulatory success and fertility in sheep. *Animals*, 9(1), 9.
- Martínez Tinajero, J. J., Izaguirre Flores, F., Sánchez Orozco, L., García Castillo, G., Martínez Priego, G., and Torres Hernández, G. (2007). Reproductive performance in blackbelly ewes synchronized with MPA and eCG during the low fertility season. *Revista Científica*, 17(1), 47-52.
- Mateus, L., Lopes da Costa, L., Bernardo, F., and Robalo Silva, J. (2002). Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 37(1), 31-35.
- Mato, I., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J., and Sancho, M. T. (2006). Analytical methods for the determination of organic acids in honey. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 36(1), 3-11.
- Mazangi, H. R., Deldar, H., Kashan, N. E., and Mohammadi-Sangcheshmeh, A. (2015). 305 royal jelly treatment during oocyte maturation improves *in vitro* meiotic competence of goat oocytes by influencing intracellular glutathione synthesis and apoptosis gene expression. *Reproduction, Fertility and Development*, 27(1), 241-241.
- McNeilly, A. S. (2001). Lactational control of reproduction. *Reproduction, Fertility and Development*, 13(8), 583-590.
- Melliou, E., and Chinou, I. (2005). Chemistry and bioactivity of royal jelly from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 8987-8992.
- Melliou, E., and Chinou, I. (2014). Chemistry and bioactivities of royal jelly. *Studies in Natural Products Chemistry*, 43, 261-290.
- Mellisho, E. (2007). Manual de inseminación artificial en ganado ovino. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Middleton, E., Kandaswami, C., and Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- Mishima, S., Suzuki, K.-M., Isohama, Y., Kuratsu, N., Araki, Y., Inoue, M., and Miyata, T. (2005). Royal jelly has estrogenic effects *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 215–220.
- Mizrahi, A., and Lensky, Y. (Eds.). (2013). Bee products: properties, applications, and apitherapy. Springer Science and Business Media.
- Moakhar, H. K., Kohram, H., Shahneh, A. Z., and Saberifar, T. (2012). Ovarian response and pregnancy rate following different doses of eCG treatment in Chall ewes. *Small Ruminant Research*, 102(1), 63-67.

- Mohamed, M., Sulaiman, S. A., Jaafar, H., and Sirajudeen, K. N. S. (2011). Antioxidant protective effect of honey in cigarette smoke-induced testicular damage in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9), 5508-5521.
- Mohebodini, H., Maqsoudlou, A., Dastar, B., and Tahmasebi, G. (2018). Royal jelly production, amount of royal jelly thiamine and hypopharyngeal glands development in Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*) colonies fed with different levels of thiamine. *Journal of Animal Researches*, 31, 152-159.
- Mondragón-Cortez, P., Ulloa, J. A., Rosas-Ulloa, P., Rodríguez-Rodríguez, R., and Resendiz Vázquez, J. A. (2013). Physicochemical characterization of honey from the West region of México. *CyTA-Journal of Food*, 11(1), 7-13.
- Moradi Kor, N., and Ziaei, N. (2012). Effect of PGF_{2α} administration and subsequent eCG treatments on the reproductive performance in mature raieni goats during the breeding season. *Asian J. Anim. Vet. Adv*, 7, 94-99.
- Moradi, A. R., Malekinejad, H., Farrokhi-Ardabili, F., Bernousi, I. (2013). Royal Jelly improves the sperm parameters of ram semen during liquid storage and serves as an antioxidant source. *Small ruminant research*, 113(2-3), 346-352.
- Morales-Terán, G., Herrera-Corredor, C. A., Pérez-Hernández, P., Salazar-Ortiz, J., and Sánchez, J. G. (2011). Influence of controlled suckling and the male effect on the resumption of postpartum ovarian activity in Pelibuey sheep. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13(3), 493-500.
- Mosavat, M., Ooi, F. K., and Mohamed, M. (2014). Stress hormone and reproductive system in response to honey supplementation combined with different jumping exercise intensities in female rats. *BioMed Research International*, 2014, 1-4.
- Moutsatsou, P., Papoutsis, Z., Kassi, E., Heldring, N., Zhao, C., Tsiapara, A., and Dahlman-Wright, K. (2010). Fatty acids derived from royal jelly are modulators of estrogen receptor functions. *Plos one*, 5(12), e15594.
- Nabas, Z., Haddadin, M. S. Y., Haddadin, J., and Nazer, I. K. (2014). Chemical composition of royal jelly and effects of synbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activities. *Polish Journal of Food And Nutrition Sciences*, 64(3), 171-180.
- Naqvi, S. M. K., A. Joshi, V. P. Maurya. (2007). Application of reproductive technologies for improvin reproductive efficiency of sheep – review. *Indian Journal of Small Ruminants* 13(2): 115-143.
- Nozaki, R., Tamura, S., Ito, A., Moriyama, T., Yamaguchi, K., and Kono, T. (2012). A rapid method to isolate soluble royal jelly proteins. *Food chemistry*, 134(4), 2332-2337.

- Ohashi, K., Natori, S., and Kubo, T. (1999). Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *European Journal of Biochemistry*, 265(1), 127-133.
- Palacín, I., Yániz, J. L., Fantova, E., Blasco, M. E., Quintín-Casorrán, F. J., Sevilla-Mur, E., and Santolaria, P. (2012). Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled semen in meat sheep. *Animal reproduction science*, 132(3-4), 139-144.
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., and Gan, S. H. (2017). Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- Park, M. J., Kim, B. Y., Park, H. G., Deng, Y., Yoon, H. J., Choi, Y. S., and Jin, B. R. (2019). Major royal jelly protein 2 acts as an antimicrobial agent and antioxidant in royal jelly. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(3), 684-689.
- Perez Hernandez, P., Hernandez Valdez, V. M., Figueroa Sandoval, B., Torres Hernandez, G., Diaz Rivera, P., and Gallegos Sanchez, J. (2009). Effect of suckling type on ovarian activity of postpartum Pelibuey ewes, and lamb growing rate during the first 90 days after birth. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia*, 19(4), 343-349.
- Pérez-Ruiz, E. (2017). Jalea real y su efecto en variables reproductivas de ovejas de pelo.
- Petelin, A., Kenig, S., Kopinč, R., Deželak, M., Černelič Bizjak, M., and Jenko Pražnikar, Z. (2019). Effects of royal jelly administration on lipid profile, satiety, inflammation, and antioxidant capacity in asymptomatic overweight adults. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Petrović, M. P., Caro Petrović, V., Ružić-Muslić, D., Maksimović, N., Ilić, Z. Z., Milošević, B., and Stojković, J. (2012). Some important factors affecting fertility in sheep. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 28(3), 517-528.
- Pineda, R., Montes, D., and Hernandez, D. (2018). Association of the polymorphisms *FecXR*, *FecGH*, and *FecGI* and non-genetic factors that affect the prolificacy of colombian creole sheep. *Indian Journal of Science and Technology*, 11(17), 1-7.
- Plakkot, B., Mohanan, A., and Kanakkaparambil, R. (2020). Prolificacy in small ruminants. *Journal of Dairy, Veterinary and Animal Research*, 9(3), 85-90.
- Plant, T. M. (2012). A comparison of the neuroendocrine mechanisms underlying the initiation of the preovulatory LH surge in the human, Old World monkey and rodent. *Frontiers in neuroendocrinology*, 33(2), 160-168.
- Popescu, O., Marghitasl, A., and Dezmireand, L. (2008). A study about physicochemical composition of fresh and lyophilized royal jelly. *Zootehnie și Biotehnologii*, 41(2), 328-332.

- Popescu, O., Marghitas, L., Bobis, O., Stanciu, O., Bonta, V., Moise, A., and Dezmiorean, D. (2009). Sugar profile and total proteins content of fresh royal jelly. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 66(1-2), 265-696.
- Quintero-Elisea, J. A., Macías-Cruz, U., Álvarez-Valenzuela, F. D., Correa-Calderón, A., González-Reyna, A., Lucero-Magaña, F. A., and Avendaño-Reyes, L. (2011). The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. *Tropical Animal Health and Production*, 43(8), 1567-1573.
- Ramadan, M. F., and Al-Ghamdi, A. (2012). Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of functional foods*, 4(1), 39-52.
- Ramírez, F. J. P., Sánchez, G. E. M., y Krassel, F. J. (1988). Perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 26(1), 96-108.
- Ramírez, L. Á., and Quintero, L. A. Z. (2001). Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Veterinaria México*, 32(2), 117-129.
- Rawlings, N. C., y Bartlewski, P. M. (2007). Clinical reproductive physiology of ewes. In *Current therapy in large animal theriogenology* (pp. 642-649). WB Saunders.
- Redmond, J. S., Macedo, G. G., Velez, I. C., Caraty, A., Williams, G. L., and Amstalden, M. (2011). Kisspeptin activates the hypothalamic–adenohypophyseal–gonadal axis in prepubertal ewe lambs. *Reproduction*, 141(4), 541-548.
- Rensing L., Meyer-Grahle U., Ruoff P. (2001). Biological timing and the clock metaphor: oscillatory and hourglass mechanisms. *Chronobiology International* 18, 329–369.
- Ronquillo, J. C. C., Martínez, A. P., Pérez, C. M. B., Sandoval, B. F., Martin, G. B., Valencia, J., and Sánchez, J. G. (2008). Prevention of suckling improves postpartum reproductive responses to hormone treatments in Pelibuey ewes. *Animal reproduction science*, 107(1-2), 85-93.
- Rosa, H. J. D., and Bryant, M. J. (2003). Seasonality of reproduction in sheep. *Small ruminant research*, 48(3), 155-171.
- Roshani, B., Hokmabad, R. V., and Mohebalipour, N. (2018). Effect of controlled internal drug release device and progesterone sponge on short-term estrus synchronization in Zandi ewes during the breeding season. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 40(4).
- Rossano, R., Larocca, M., Polito, T., Perna, A. M., Padula, M. C., Martelli, G., and Riccio, P. (2012). What are the proteolytic enzymes of honey and what they do tell us? A fingerprint analysis by 2-D zymography of unifloral honeys. *PLoS One*, 7(11), e49164.
- Rubianes, E., and Ungerfeld, R. (1993). Uterine involution and ovarian changes during early post partum in autumn-lambing Corriedale ewes. *Theriogenology*, 40(2), 365-372.

- Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., Bogdanov, S., and Almeida-Muradian, L. B. D. (2009). Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1(1), 1-6.
- Salem, F. (2013). Modulatory effects of *Trifolium pratense* extract and royal jelly on the function of hypothalamic-pituitary-ovarianaxis in ovariectomized rates. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical*, 5(3), 593-597
- Santos-Buelga, C., and González-Paramás, A. M. (2017). Chemical composition of honey. In *Bee Products-Chemical and Biological Properties* (pp. 43-82). Springer, Cham.
- Santos, G. M. G., Silva-Santos, K. C., Melo-Sterza, F. A., Mizubuti, I. Y., Moreira, F. B., and Seneda, M. M. (2011). Reproductive performance of ewes treated with an estrus induction/synchronization protocol during the spring season. *Animal Reproduction*, 8(1), 3-8.
- SAS. (2002) Versión 9.0 SAS Institute Inc. Cary. NC, USA.
- Scaramuzzi, R. J., and Martin, G. B. (2008). The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 129-136.
- Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., and Somchit, A. (2006). A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, 46(4), 339-354.
- Schönleben, S., Sickmann, A., Mueller, M. J., and Reinders, J. (2007). Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 389(4), 1087-1093.
- Sébert, M. E., Lomet, D., Saïd, S. B., Monget, P., Briant, C., Scaramuzzi, R. J., and Caraty, A. (2010). Insights into the mechanism by which kisspeptin stimulates a preovulatory LH surge and ovulation in seasonally acyclic ewes: potential role of estradiol. *Domestic animal endocrinology*, 38(4), 289-298.
- Shahidi, F., and Zhong, Y. (2011). Revisiting the polar paradox theory: a critical overview. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(8), 3499-3504.
- Shahneh, Z., Sadeghipanah, A., Barfourrooshi, H. J., and Emami-Mibody, M. A. (2008). Effects of equine chorionic gonadotropin (eCG) administration and flushing on reproductive performance in Nadooshan goats of Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7(18), 3373-3379.
- Shahzad, Q., Mehmoodb, M. U., Khan, H., Husna, A., Qadeerd, S., Azam, A., Naseere, A., Ahmad, E., Safdar, M., Ahmad, M. (2016). Royal jelly supplementation in

- semen extender enhances post-thaw quality and fertility of Nili-Ravi buffalo bull sperm. *Animal Reproduction Science*, 167, 83-88.
- Shirzad, M., Kordyazdi, R., Shahinfard, N., and Nikokar, M. (2013). Does Royal jelly affect tumor cells? *Journal of HerbMed Pharmacology*, 2(2).
- SIAP-SAGARPA. Anuario Estadístico de la Producción Ganadera. Disponible en: http://nube.siap.gob.mx/cierre_pecuario/ Acceso en diciembre 28, 2021.
- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Eraslan, G., and Demirtas, A. (2009). Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage. *Urology*, 74(3), 545-551.
- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Kanbur, M., and Deniz, K. (2011). The protective effect of royal jelly against cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *World Journal of Urology*, 29(1), 127–132.
- Silva, B. D. M., Sartori, R., Silva, T. A. S. N., Cardozo, D. M. M., Oliveira, M. A. L., and Neves, J. P. (2010). Estrus synchronization with prostaglandin $f_{2\alpha}$ compared to progestogen treatment associated with equine chorionic gonadotropin (eCG) in Santa Inês breed ewes reared in Federal District, Brazil. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, 11, 417-424
- Silva, L. R., Videira, R., Monteiro, A. P., Valentão, P., and Andrade, P. B. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, 93(1), 73-77.
- Šimúth, J., Bíliková, K., Kováčová, E., Kuzmová, Z., and Schroder, W. (2004). Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: physiologically active royal jelly protein stimulating TNF- α release is a regular component of honey. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(8), 2154-2158.
- Singh, R. P., and Singh, P. N. (1996). Amino acid and lipid spectra of larvae of honey bee (*Apis cerana Fabr*) feeding on mustard pollen. *Apidologie*, 27(1), 21-28.
- Smith, M. S., and Grove, K. L. (2002). Integration of the regulation of reproductive function and energy balance: lactation as a model. *Frontiers in neuroendocrinology*, 23(3), 225-256.
- Smith, J. T., Clay, C. M., Caraty, A., and Clarke, I. J. (2007). KiSS-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology*, 148(3), 1150-1157.
- Smith, J. T., Li, Q., Yap, K. S., Shahab, M., Roseweir, A. K., Millar, R. P., and Clarke, I. J. (2011). Kisspeptin is essential for the full preovulatory LH surge and stimulates GnRH release from the isolated ovine median eminence. *Endocrinology*, 152(3), 1001-1012.
- Smith, J. T., Hawken, P. A., Lehman, M. N., and Martin, G. B. (2014). The role of kisspeptin in reproductive function in the ewe. In *Reproduction in Domestic Ruminants VIII: Proceedings of the Ninth International Symposium on*

- Reproduction in Domestic Ruminants (pp. 105-116). Madison, MS, USA: Context Publishing.
- Sosa-Pérez, G., Pérez-Hernández, P., Vaquera-Huerta, H., Salazar-Ortiz, J., Sánchez-del-Real, C., Cadena-Villegas, S., and Gallegos-Sánchez, J. (2014). Somatotropina bovina recombinante en sincronización de estros y prolificidad de ovejas Pelibuey. *Archivos de zootecnia*, 63(241), 219-222.
- Sosa-Pérez, G., Pérez-Ruiz, E., Pérez-Hernández, P., Cortez-Romero, C., y Gallegos-Sánchez, J. (2017). Administración endovenosa de jalea real en la actividad ovárica y tasa ovulatoria de ovejas pelibuey. *Agroproductividad*, 10(2).
- Suárez, G., Zunino, P., Carol, H., and Ungerfeld, R. (2006). Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrous ewes. *Small Ruminant Research*, 63(1-2), 39-43.
- Suzuki, K.-M., Isohama, Y., Maruyama, H., Yamada, Y., Narita, Y., Ohta, S., and Mishima, S. (2008). Estrogenic Activities of Fatty Acids and a Sterol Isolated from Royal Jelly. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(3), 295–302.
- Swartz, J. D., Lachman, M., Westveer, K., O'Neill, T., Geary, T., Kott, R. W., and Yeoman, C. J. (2014). Characterization of the vaginal microbiota of ewes and cows reveals a unique microbiota with low levels of lactobacilli and near-neutral pH. *Frontiers in veterinary science*, 1, 19.
- Swelum, A. A. A., Saadeldin, I. M., Moumen, A. F., Ali, M., Ba-Awadh, H., and Alowaimer, A. N. (2019). Effects of long-term controlled internal drug release reuse on reproductive performance, hormone profiles, and economic profit of sheep. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48.
- Taberlet P., Coissac E., Pansu J., Pompanon F. (2011). Conservation genetics of cattle, sheep, and goats. *Comptes rendus biologies* 334, 247-254.
- Tamura, S., Amano, S., Kono, T., Kondoh, J., Yamaguchi, K., Kobayashi, S., and Moriyama, T. (2009). Molecular characteristics and physiological functions of major royal jelly protein 1 oligomer. *Proteomics*, 9(24), 5534-5543.
- Taormina, P. J., Niemira, B. A., and Beuchat, L. R. (2001). Inhibitory activity of buhydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International journal of food microbiology*, 69(3), 217-225.
- Tejedor M.T., Monteagudo L.V., Laviña A. y Macías A. (2016). Factores ambientales que influyen en el éxito de la inseminación artificial en la raza ovina Rasa Aragonesa. *Revista. Archivos de Zootecnia*. 65 (251): 321-325.
- Terada, Y., Narukawa, M., and Watanabe, T. (2011). Specific hydroxy fatty acids in royal jelly activate TRPA1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(6), 2627-2635.

- Terrab, A., Hernanz, D., and Heredia, F. J. (2004). Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of minerals in thyme honeys and their contribution to geographical discrimination. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3441-3445.
- Texeira, T. A., Da Fonseca, J. F., de Souza-Fabjan, J. M. G., de Rezende Carvalheira, L., de Moura Fernandes, D. A., and Brandão, F. Z. (2016). Efficiency of different hormonal treatments for estrus synchronization in tropical Santa Inês sheep. *Tropical animal health and production*, 48(3), 545-551.
- Titi, H., Kridli, R., and Alnimer, M., (2010). Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GnRH, progestagen and prostaglandin F_{2α}. *Reproduction in Domestic Animals*, 45, 594-599.
- Trautvetter, S., Koelling-Speer, I., and Speer, K. (2009). Confirmation of phenolic acids and flavonoids in honeys by UPLC-MS. *Apidologie*, 40(2), 140-150.
- Truzzi, C., Annibaldi, A., Illuminati, S., Finale, C., and Scarponi, G. (2014). Determination of proline in honey: comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology. *Food chemistry*, 150, 477-481.
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S., and Velioglu, Y. S. (2006). Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*, 95(4), 653-657.
- Ungerfeld, R., and Rubianes, E. (2002). Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, 46(1), 63-66.
- Ungerfeld, R., and Sanchez-Davila, F. (2012). Oestrus synchronization in postpartum autumn-lambing ewes: effect of postpartum time, parity, and early weaning. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 10(1), 62-68.
- Ungerfeld, R., and Bielli, A. (2012). Seasonal and social factors affecting reproduction. *Livestock reproduction: bovine, swine, and ruminants*” Encyclopaedia of life support systems (EOLSS).
- Uribe-Velásquez, L. F., Oba, E., Lara-Herrera, L. C., Souza, M. I. L., Villa-Velásquez, H., Trinca, L. A., y Fernandes, C. A. D. C. (2002). Respostas endócrinas e ovarianas associadas com o folículo dominante da primeira onda folicular em ovelhas sincronizadas com CIDR ou PGF₂alfa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(2), 944-953.
- Uribe-Velásquez, L. F., Oba, E., e Souza, M. I. L. (2008). Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60, 58-65.
- Valiollahpoor Amiri, M., Deldar, H., and Ansari Pirsaraei, Z. (2016). Impact of supplementary royal jelly on in vitro maturation of sheep oocytes: genes involved

- in apoptosis and embryonic development. *Systems biology in reproductive medicine*, 62(1), 31-38.
- Vázquez-Martínez, I., Vargas-López, S., Zaragoza-Ramírez, J. L., Bustamante-González, A., Calderón-Sánchez, F., RojasÁlvarez, J., y Casiano-Ventura, M. A. (2009). Tipología de las explotaciones ovinas en la sierra norte del estado de Puebla. *Técnica Pecuaria en México*, 47(4), 357–369.
- Viñoles, C., Meikle, A., and Martin, G. B. (2009). Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. *Animal reproduction science*, 113(1-4), 82-92.
- Viñoles, C., Paganoni, B., Milton, J. T. B., Driancourt, M. A., and Martin, G. B. (2011). Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronisation with prostaglandin, sponges, or sponges with bactericide. *Animal Production Science*, 51(6), 565-569.
- Vicente-Pérez, R., Avendaño-Reyes, L., Álvarez, F. D., Correa-Calderón, A., Meza-Herrera, C. A., Mellado, M., and Macías-Cruz, U. (2015). Productive performance, nutrient intake and productivity at lambing of hair breed ewes supplemented with energy in the pre-partum during summer and winter. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 47(3), 301-309.
- Walsh, S. W., Williams, E. J., and Evans, A. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal reproduction science*, 123(3-4), 127-138.
- Wei, S., Chen, S., Wei, B., Liu, Z., Bai, T., and Lin, J. (2016). Estrus synchronization schemes and application efficacies in anestrus lanzhou fat-tailed ewes. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1), 466-473.
- White Jr, J. W. (1978). Honey. *Advances in food research*, 24, 287-374.
- Wildeus, S. (2000). Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal Animal Science*, 77, 1-14.
- Wilkins, J. F., and Croker, K. P. (1990). Embryonic wastage in ewes. *Reproductive physiology of Merino sheep. School of Agriculture (Animal Science), University of Western Australia*, 169-177.
- Wilkins, A. L., and Lu, Y. (1995). Extractives from New Zealand honeys. 5. Aliphatic dicarboxylic acids in New Zealand rewarewa (*Knightea excelsa*) honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(12), 3021-3025.
- Won, S. R., Li, C. Y., Kim, J. W., and Rhee, H. I. (2009). Immunological characterization of honey major protein and its application. *Food Chemistry*, 113(4), 1334-1338.
- Wright, P. J., Geytenbeek, P. E., Clarke, I. J., and Findlay, J. K. (1981). Evidence for a change in oestradiol negative feedback and LH pulse frequency in post-partum ewes. *Reproduction*, 61(1), 97-102.

- Wunnachit, W., Jenner, C. F., and Sedgley, M. (1992). Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae): an andromonoecious species. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3, Part 1), 413-420.
- Yamada, S., Uenoyama, Y., Kinoshita, M., Iwata, K., Takase, K., Matsui, H., and Tsukamura, H. (2007). Inhibition of metastin (kisspeptin-54)-GPR54 signaling in the arcuate nucleus-median eminence region during lactation in rats. *Endocrinology*, 148(5), 2226-2232.
- Yotov, S. (2012). Ultrasound diagnostics of late embryonic and foetal death in three sheep breeds. *Journal of Veterinary Advances*, 2(3), 120-125.
- Zaid, S. S., Sulaiman, S. A., Sirajudeen, K. N., and Othman, N. H. (2010). The effects of Tualang honey on female reproductive organs, tibia bone and hormonal profile in ovariectomised rats-animal model for menopause. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 1-7.
- Zelege, M., Greyling, J. P. C., Schwalbach, L. M. J., Muller, T., and Erasmus, J. A. (2005). Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Ruminant Research*, (1-3), 47-53.