



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

EVALUACIÓN ULTRASOGRÁFICA DE LA DINÁMICA FOLICULAR EN OVEJAS CRIOLLAS Y RIDEAU EN CLIMA TEMPLADO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
INNOVACIÓN GANADERA

PRESENTA:

ELÍAS ROMÁN ROMERO



Bajo la supervisión de: Ph.D. Raymundo Rangel Santos



Chapingo, Estado de México, Diciembre de 2009

**EVALUACIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE LA DINÁMICA FOLICULAR EN
OVEJAS CRIOLLAS Y RIDEAU EN CLIMA TEMPLADO**

Tesis realizada por Elías Román Romero, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR: Raymundo Rangel S.
Ph.D. Raymundo Rangel Santos

ASESOR: Lizbeth L. R.
Ph.D. Raymundo Rodríguez De Lara

ASESOR: Carlos Sánchez Del Real
M.C. Carlos Sánchez Del Real

CONTENIDO

	<i>Página</i>
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA.....	vi
DATOS BIOGRÁFICOS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Características reproductivas de la oveja	3
2.1.1 Ciclo estral	4
2.1.2 Endocrinología del ciclo estral.....	5
2.1.3 Ciclo anual	8
2.1.4 Endocrinología del ciclo anual.....	8
2.2 Desarrollo y diferenciación folicular	10
2.2.1 Folículos primordiales	12
2.2.2 Folículos reclutados	12
2.2.3 Folículos sensibles a las gonadotropinas.....	13
2.2.4 Folículos dependientes de gonadotropinas.....	14
2.2.5 Folículos ovulatorios	15
2.3 Dinámica folicular	16
2.3.1 Reclutamiento	17
2.3.2 Selección.....	18
2.3.3 Dominancia	19
2.3.4 Atresia	20
2.3.5 Ovulación	22

2.4 Patrón de desarrollo folicular en la oveja.....	23
2.5 Ultrasonografía	26
2.6 Literatura citada.....	28
3 EVALUACIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE LA DINÁMICA FOLICULAR EN OVEJAS CRIOLLAS Y RIDEAU EN CLIMA TEMPLADO	43
3.1 Resumen	43
3.2 Abstract	44
3.3 Introducción.....	45
3.4 Materiales y métodos	46
3.4.1 Localización	46
3.4.2 Manejo y alimentación de los animales.....	46
3.4.3 Procedimiento ultrasonográfico.....	47
3.4.4 Variables analizadas	47
3.4.5 Análisis estadísticos.....	49
3.5 Resultados y discusión.....	49
3.6 Conclusión.....	60
3.7 Literatura citada.....	60

AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater*, la Universidad Autónoma Chapingo por permitirme concluir con un sueño más en mi vida personal.

A los miembros del comité asesor por sus acertados comentarios y sugerencias para la culminación de este trabajo.

A todos los profesores del Posgrado en Producción Animal que contribuyeron en mi formación profesional.

Al CONACYT y COMECYT por el apoyo económico otorgado para el desarrollo de mis estudios de posgrado.

Sinceramente *Elías Román Romero*

DEDICATORIA

A mis queridos padres y hermanos, por su invaluable esfuerzo y apoyo incondicional.

A mi esposa Janeth y a mis pequeños Carlos Alfonso y Valeria, por ser la inspiración de este logro en mi vida.

Eliás Román Romero

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales



Nombre	Elías Román Romero
Fecha de nacimiento	28 de marzo de 1980
Lugar de nacimiento	Juan Rodríguez Clara, Veracruz
No. cartilla militar	3978529
CURP	RORE800328HVZMML09
Profesión	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia
Cédula profesional	5089866

Desarrollo académico

1997-2000	Preparatoria Departamento de Preparatoria Agrícola Universidad Autónoma Chapingo.
2000-2004	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo.
2007-2008	Maestro en Ciencias en Innovación Ganadera Posgrado en Producción Animal Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación funcional y características de folículos ovinos.	13
Cuadro 2. Resumen de las características de la dinámica folicular en razas de ovinos realizada mediante ultrasonografía transrectal.	24
Cuadro 3. Medias ² de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) del efecto de la raza ovina en la longitud del ciclo estral, duración del celo, diámetro del folículo preovulatorio más grande y tasa ovulatoria.	49
Cuadro 4. Medias ² de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) para las características del cuerpo lúteo de ovejas Criollas y Rideau determinadas mediante ultrasonografía.....	53
Cuadro 5. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) para la población folicular por clase en ovejas Criollas y Rideau determinada mediante ultrasonografía.	55
Cuadro 6. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) para las características de la dinámica folicular en ovejas Criollas y Rideau con tres ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral.	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cambios endocrinos durante el ciclo estral de la oveja (Adaptado de Scaramuzzi <i>et al.</i> , 1993; Bartlewski, 2001; Jimeno, 2001).	7
Figura 2. Características del crecimiento folicular en ovinos (modificado de Viñoles, 2003).	11
Figura 3. Diámetros de folículos medidos <i>in vivo</i> usando ultrasonografía en ovejas con a) 2, b) 3 ó c) 4 ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral (modificado de Evans <i>et al.</i> , 2000).	25
Figura 4. Diámetro del cuerpo lúteo determinado mediante ultrasonografía en ovejas Criollas y Rideau durante un ciclo estral. El asterisco (*) indica diferencias entre razas ($p \leq 0.05$).	54
Figura 5. Perfil de crecimiento del folículo dominante para las ondas 1, 2 y 3 en ovejas Criollas y Rideau durante un ciclo estral.	58

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Las tecnologías de reproducción asistida se han utilizado en la ganadería por décadas para incrementar el potencial reproductivo de los animales domésticos de granja (Grazul-Bilska *et al.*, 2007). El conocimiento de la fisiología y de la endocrinología reproductiva en la oveja tuvieron un avance importante durante los pasados 30 años, debido a la combinación de técnicas de inmunoanálisis, ultrasonografía de tiempo real y de procedimientos moleculares (Davies, 2005). El entendimiento y conocimiento del patrón de desarrollo folicular, ha sido un paso importante para el desarrollo de nuevas técnicas enfocadas a maximizar la fertilidad en ovinos (Singh *et al.*, 2003; Ali *et al.*, 2006).

El uso *in vivo* de la ultrasonografía de tiempo real es uno de los avances más significativos en el área de la medicina y de la biología reproductiva. La técnica ha sido adoptada como una herramienta de investigación y de diagnóstico en especies domésticas (Garcia, 2001; Duggavathi *et al.*, 2003b). La capacidad para visualizar los cambios estructurales de manera serial, sin interrupción o distorsión de la función, ha retomado fuerza para estudiar la biología ovárica en pequeños rumiantes (Singh *et al.*, 2003).

El primer estudio sobre la dinámica folicular *in vivo* en ovinos mediante laparoscopia (Nöel *et al.*, 1993) reportó tres ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral. No obstante, en los primeros estudios usando ultrasonografía transrectal, no revelaron patrones de desarrollo folicular en forma de ondas (Schrack *et al.*, 1993; Ravindra *et al.*, 1994), lo cual hizo suponer que el crecimiento folicular en la oveja se daba de manera continua y aleatoria. Sin embargo, estudios posteriores combinados con análisis hormonales más

detallados demostraron la existencia de ondas de desarrollo folicular (Ginther *et al.*, 1995; Bartlewski *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2002).

Estudios sobre dinámica folicular usando ultrasonografía de tiempo real se han realizado en varias razas de ovinos y en varios países del mundo, reportando diferentes patrones de desarrollo folicular dependiendo de la raza estudiada. En Canadá, Leyva *et al.* (1998b) reportaron la presencia de dos, tres y cuatro ondas de desarrollo folicular en 43, 50 y 7% de las ovejas Suffolk, similar a lo publicado por Contreras-Solís *et al.* (2008) en ovejas West African de Venezuela, donde 13.3, 66.7 y 20% de los ciclos presentaron dos, tres y cuatro ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral. Mientras que en Uruguay, Viñoles *et al.* (2002) encontraron que 25 y 75% de las ovejas Polwarth, presentaron dos y tres ondas de desarrollo folicular, lo que coincide con lo publicado por Ali *et al.* (2006) en Egipto, donde en ovejas Ossimi 35 y 65% de los ciclos estudiados presentaron dos y tres ondas. Por otra parte, en Polonia, Zięba *et al.* (2002) señalaron que 16.7, 66.6 y 16.7% de los ciclos de las ovejas Olkuska presentaron tres, cuatro y cinco ondas de desarrollo folicular.

En México no se encontraron trabajos detallados de la dinámica folicular en ovinos; por lo cual, el objetivo del estudio fue caracterizar el desarrollo folicular en ovejas Criollas y Rideau durante un ciclo estral.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Características reproductivas de la oveja

La entrada a la pubertad marca el inicio de la actividad reproductiva y está determinada en la hembra por la aparición de la primera ovulación (González *et al.*, 2003) y el primer incremento sostenido de las concentraciones plasmáticas de progesterona (P_4) (López-Sebastián *et al.*, 2005). Sin embargo, generalmente se considera que el primer estro representa el inicio de la pubertad en la oveja (Quirke *et al.*, 1985). El momento de la aparición de la pubertad está determinado principalmente por el genotipo y por factores ambientales como el fotoperiodo y la nutrición (Quirke *et al.*, 1985). A partir de la pubertad las hembras desarrollan la capacidad para producir gametos funcionales de forma cíclica, coincidiendo con los periodos de receptividad sexual. Durante ellos ocurren de forma continua los procesos de crecimiento y desarrollo folicular que tienen como objetivo la formación y liberación de gametos maduros, capaces de ser fecundados (López-Sebastián *et al.*, 2005).

Las ovejas son rumiantes poliéstricos estacionales que usualmente comienzan la actividad sexual durante el periodo de días cortos (Rawlings *et al.*, 1977). El patrón de la función ovárica en la oveja adulta es dominado por dos ritmos distintos (Bartlewski, 2001). El primero se presenta durante la estación reproductiva, donde la oveja muestra ciclos sucesivos regulares de 16-17 días de duración; en general, la mayoría de los ciclos varían entre 14 y 18 días con una duración promedio que van de 16.5 a 17.5 días (Gordon, 1997; Thiéry *et al.*, 2002), la cual es una característica altamente repetible (0.95; Nephew *et al.*, 1991). También presentan un ciclo reproductivo anual, influenciado por el fotoperiodo y regulado por la secreción de melatonina de la glándula pineal

(Nöel *et al.*, 1999; Forcada y Abecia, 2006), el cual se caracteriza por la ausencia de estro y ovulación (anestro estacional, Leyva *et al.*, 1998a; Thiéry *et al.*, 2002).

2.1.1 Ciclo estral

El ciclo estral es el intervalo entre dos periodos de celo o estro consecutivos. El estro es el periodo de receptividad sexual de la hembra, se caracteriza por permitir ser montada por sus compañeras o compañeros de rebaño (Gordon, 1999), el cual varía entre 24-36 h (Downey, 1980) y 36-40 h, según la raza y edad del animal (Jimeno *et al.*, 2001).

Los cambios hormonales que ocurren durante el ciclo estral regulan los cambios en la morfología y función de las estructuras ováricas (folículos y cuerpo lúteo), y en los genitales femeninos (oviducto, cuernos uterinos, cérvix y vagina). Dichos cambios son divididos en cuatro periodos: 1) estro (periodo de receptividad); 2) metaestro (periodo desde el término del estro al desarrollo temprano del cuerpo lúteo); 3) diestro (periodo durante el cual el cuerpo lúteo es totalmente funcional); y 4) proestro (periodo del momento de la regresión del cuerpo lúteo al inicio del estro) (Rathbone *et al.*, 2001).

El ciclo estral se puede dividir en dos fases, folicular (periodo de crecimiento folicular) y lútea (periodo de dominancia del cuerpo lúteo) (Rathbone *et al.*, 2001). La fase folicular definida como el intervalo entre la luteólisis y la ovulación, abarca un corto periodo de 3 a 4 días, durante el cual ocurren una serie de interacciones entre las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Karsch *et al.*, 1992). La fase folicular representa el último paso de la maduración de las estructuras foliculares y también se produce la ovulación (Baird *et al.*, 1975). Si el ovocito no es fertilizado, el endometrio del útero no gestante comienza a secretar prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), hormona responsable de la regresión del cuerpo lúteo, para iniciar un nuevo ciclo estral (Jimeno *et al.*, 2001).

La fase lútea se extiende desde el día 2 hasta el día 14 a partir del inicio del estro. Después de la ovulación se desarrolla el cuerpo lúteo que dura alrededor de 12 días, y su función principal es producir y secretar P_4 y oxitocina (Baird *et al.*, 1975). En caso de que ocurra la gestación, el cuerpo lúteo se transformará en un cuerpo lúteo de la gestación, el cual estará continuamente liberando P_4 para favorecer la existencia del embrión en el útero y bloquear la actividad cíclica del ovario (Garverick *et al.*, 1992).

2.1.2 Endocrinología del ciclo estral

Un balance y coordinación del sistema endocrino son importantes para una función reproductiva normal (Leslie, 1983). Esto incluye una homeostasis entre la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) del hipotálamo; hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) de la adenohipófisis; prostaglandinas ($PGF_{2\alpha}$ y PGE_2) del útero, y estradiol (E_2), inhibina y P_4 de los ovarios (Leslie, 1983; Scaramuzzi *et al.*, 1993; Gordon, 1999).

Los cambios cíclicos en las concentraciones de las gonadotropinas bajo el control de GnRH son esenciales para el adecuado funcionamiento del sistema reproductivo de los mamíferos. Los estímulos sensoriales y ambientales que perciben las ovejas se transmiten al sistema nervioso central y a través del eje hipotálamo-hipófisis a las gónadas (Jimeno *et al.*, 2001).

Durante la estación reproductiva, el E_2 ovárico deja de bloquear al centro hipotalámico generador de pulsos de GnRH y permite que aumenten la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH (Schillo, 1992; Jimeno *et al.*, 2001), donde al menos un estímulo de GnRH, en términos de duración y amplitud, es necesario para generar el pico preovulatorio de LH en la oveja (Karsch *et al.*, 1997). La secreción de E_2 e inhibina son estimulados mediante los pulsos episódicos de LH en los folículos preovulatorios (Baird, 1978; Huchkowsky *et al.*, 2002).

A medida que las concentraciones de P_4 disminuyen, el folículo dominante produce cantidades crecientes de E_2 , desencadenando finalmente la conducta de estro, vía retroalimentación positiva en el centro hipotálamo-hipófisis (Baird, 1978). Esto estimula la liberación de GnRH que induce los pulsos de LH y el pico preovulatorio de LH (Karsch *et al.*, 1980), responsable de la ovulación del folículo dominante y de la formación del cuerpo lúteo (Garverick *et al.*, 1992). En este sentido, Rawlings y Cook (1993) estimaron el pico preovulatorio de LH en $39.28 \pm 4.21 \text{ ng ml}^{-1}$, la duración del pico fue de $13.5 \pm 0.75 \text{ h}$ y el tiempo desde el inicio del pico hasta el pico preovulatorio fue de $4.4 \pm 0.42 \text{ h}$. La ovulación ocurre 24-25 h después del pico preovulatorio de LH (Cumming *et al.*, 1973). Previo al pico de LH, ocurre un pico de FSH (L'Hermite *et al.*, 1972).

La secreción de FSH no es afectada por la P_4 , pero es regulada por el E_2 e inhibina producidas por el folículo dominante (Baird *et al.*, 1991). Durante el ciclo estral se producen nuevos picos de FSH que coinciden con el inicio de nuevas ondas de desarrollo folicular (Souza *et al.*, 1998; Huchkowsky *et al.*, 2002), dichos picos de FSH coinciden con concentraciones mínimas de E_2 (Huchkowsky *et al.*, 2002). Después de la ovulación, la secreción de E_2 disminuye abruptamente (Rexroad, 1981); mientras la secreción de P_4 incrementa progresivamente y reduce la frecuencia de pulsos de LH a valores incompatibles con los de la ovulación (Souza *et al.*, 1998). Durante la fase lútea del ciclo, cuando la P_4 es la hormona dominante, la frecuencia de pulsos de GnRH disminuye marcadamente (Seekallu *et al.*, 2009).

Alrededor del día 15 del ciclo estral, si no ha ocurrido la gestación, la P_4 desciende a concentraciones mínimas (Algire *et al.*, 1992), mediante un sistema de retroalimentación positiva entre la oxitocina y la secreción endometrial de $\text{PGF}_{2\alpha}$, el útero comienza a secretar $\text{PGF}_{2\alpha}$ en forma creciente (Kieborz-Loos *et al.*, 2003). La $\text{PGF}_{2\alpha}$ es la responsable de la lisis del cuerpo lúteo y del inicio de un nuevo ciclo sexual (Murdoch *et al.*, 1981), favoreciendo la secreción pulsátil de LH, y la síntesis y secreción de E_2 en los folículos preovulatorios (Souza *et*

al., 1997a; Seekallu *et al.*, 2009), hasta alcanzar las concentraciones máximas el día 17 del ciclo estral, mediante un mecanismo de retroalimentación positivo. El incremento en las concentraciones de E₂ estimula la descarga preovulatoria de GnRH y LH (Saïd *et al.*, 2007), hasta el momento del pico preovulatorio de LH, la ocurrencia del estro y la ovulación (Baird *et al.*, 1981). Los cambios endocrinos que ocurren durante el ciclo estral se resumen en la Figura 1.

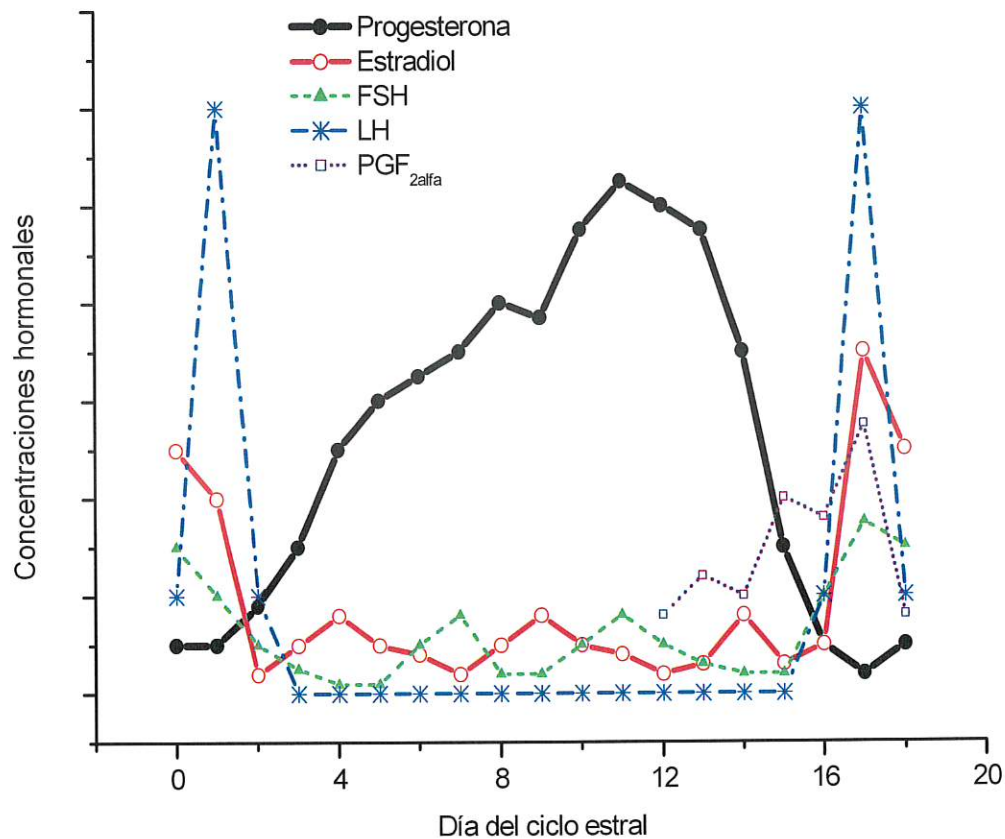


Figura 1. Cambios endocrinos durante el ciclo estral de la oveja (Adaptado de Scaramuzzi *et al.*, 1993; Bartlewski, 2001; Jimeno, 2001).

2.1.3 Ciclo anual

En razas ovinas originarias de clima templado (latitudes $>35^{\circ}$), la actividad reproductiva inicia a finales del verano y principios del otoño cuando la longitud del día disminuye, mientras que ésta se detiene a finales del invierno y principios de la primavera cuando la longitud del día incrementa (Zarazaga *et al.*, 2003; Arroyo *et al.*, 2007). En ovinos, existe considerable variación en la estación de anestro estacional dependiente del origen geográfico de la raza; razas adaptadas a latitudes altas tienen periodos de anestro largos como una característica adaptativa a su medio ambiente natural (Santiago-Moreno *et al.*, 2000), para aumentar la posibilidad de sobrevivencia de ambos; madre y cría, asegurando que las temperaturas sean favorables y la abundancia de forrajes coincidan con la parte final de la gestación e inicio de la lactancia (Martin *et al.*, 2002).

La melatonina es secretada por la glándula pineal con un ritmo diario y estacional. El ritmo endógeno circadiano de la melatonina, es generado en el núcleo supraquiasmático y está determinado por el ciclo luz-oscuridad, actuando vía tracto retino-hipotalámico (Arendt, 1998). La melatonina actúa como un reloj biológico y el patrón de secreción nocturno provee una señal endócrina para la longitud del día (Nöel *et al.*, 1999). Al respecto, O'Callaghan *et al.* (1992) apoyan el concepto que tanto el inicio como el final de la estación reproductiva son la consecuencia de un ritmo endógeno sincronizado por el cambio de la longitud del día a través del ciclo anual.

2.1.4 Endocrinología del ciclo anual

En la oveja un cambio de días largos a días cortos inicia la época reproductiva, y un cambio de días cortos a días largos finaliza dicha época (Nöel *et al.*, 1999). El anestro estacional es identificado por la ausencia de las manifestaciones externas del estro e internamente por la ausencia de ovulación (Rosa y Bryant, 2003).

La glándula pineal es la única glándula endocrina influenciada directamente por el ambiente externo vía la retina, la cual convierte las señales medioambientales en mensajes neuroendocrinos (Aleandri *et al.*, 1996). La glándula pineal responde a la oscuridad con un incremento en la secreción de melatonina y a la luz con una disminución en su secreción. Estas diferencias en el patrón de secreción de melatonina transmiten la señal del fotoperiodo al eje neuroendocrino (Karsch *et al.*, 1988; Molik *et al.*, 2006). La duración de la secreción de melatonina regula neuralmente la secreción de GnRH. La disminución en la secreción pulsátil de LH es causada por el efecto negativo de las bajas concentraciones de E₂ en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, las cuales mantienen una reducida liberación pulsátil de GnRH fuera de la estación reproductiva (Malpaux *et al.*, 1997). En ovinos, alrededor del 60% de la población de cuerpos celulares que producen LH se localizan en el área preóptica del cerebro, las cuales sufren cambios morfológicos en relación con la estación del año (Malpaux *et al.*, 1997). El efecto negativo del E₂ activa los sistemas dopaminérgicos, los cuales inhiben las células secretoras de GnRH, induciendo los cambios correspondientes en la secreción de melatonina (Malpaux *et al.*, 1997; Thiéry *et al.*, 2002).

Según Ravindra y Rawlings (1997), la única diferencia observada durante la época reproductiva y la de anestro, es un incremento en el número de folículos antrales pequeños durante la época de anestro. Noël *et al.* (1993), reportaron similar número de ondas de desarrollo folicular y diámetro del folículo preovulatorio (≥ 5 mm), en ovejas Suffolk en anestro o época reproductiva. Bartlewski *et al.* (2000b) encontraron que durante el anestro en ovejas Finnish Landrace, los folículos crecieron a tamaños periovulatorios ≥ 5 mm, los cuales fueron similares en todos los estadios del anestro y a los observados en la época reproductiva. El análisis de la información permite concluir que el patrón cíclico de crecimiento folicular y atresia que ocurre durante la estación reproductiva, también está presente durante el periodo de anestro estacional.

En el ovario de la oveja intacta, la baja pulsatilidad de GnRH y LH durante la fase lútea es debida al efecto de la retroalimentación negativa ejercido por las elevadas concentraciones plasmáticas de P_4 . Durante el anestro, la frecuencia de la secreción episódica de GnRH y LH son bajas, a pesar de la ausencia de un cuerpo lúteo y de las bajas concentraciones de P_4 en plasma (Forcada y Abecia, 2006).

2.2 Desarrollo y diferenciación folicular

La foliculogénesis es definida como la formación del folículo preovulatorio maduro, a partir de la población de folículos primordiales en el ovario (Spicer y Echternkamp, 1986). El desarrollo del ovario es un proceso complejo que inicia con su formación durante la embriogénesis, progresa con la maduración en la pubertad para convertirse en el órgano responsable de la maduración de los óvulos, producción de hormonas esteroideas y la ovulación, y termina al final de la vida reproductiva por una transición gradual a la quiescencia (Juengel *et al.*, 2002; Vanderhyden, 2002). La formación del ovario es el resultado de tres procesos: 1) especificación de las células germinales primordiales; 2) migración y proliferación de las células germinales primordiales; y 3) colonización del borde urogenital por las células germinales primordiales y formación de los folículos primordiales (Vanderhyden, 2002).

El desarrollo folicular está asociado con cambios progresivos tanto estructurales como funcionales a nivel del óvulo. Durante el crecimiento folicular inicial, el óvulo se mantiene detenido en el estadio de diploteno de la primera división meiótica. La maduración final del óvulo en la metafase II es inducida en el folículo ovárico maduro por el pico preovulatorio de LH, durante el cual, el óvulo adquiere la capacidad para ser fertilizado (Bartlewski, 2001).

Las hembras de las especies domésticas y primates tienen un almacén finito de células germinales, que es establecido durante la oogénesis y usado más tarde para la foliculogénesis (Reynaud y Driancourt, 2000). En algunos mamíferos la

formación de folículos primordiales ocurre alrededor del nacimiento, mientras en otros (vacas y ovejas) la foliculogénesis inicia durante la vida fetal (Reynaud y Driancourt, 2000). Una población grande de folículos primordiales son originados durante la vida fetal de las ovejas, los primeros folículos inician a formarse alrededor del día 70 de la gestación, y el número máximo se alcanza aproximadamente el día 75 y este es seguido por un alto nivel de atresia de las células germinales debido a la apoptosis celular (Juengel *et al.*, 2002).

Durante la vida adulta la población de folículos desarrollan a los estadios primarios, secundarios y terciarios (antrales) antes de la ovulación (Evans, 2003b; Silva *et al.*, 2004). Pocos folículos llegan hasta la ovulación y la mayoría mueren por atresia en algún estadio de desarrollo. Mientras esto es altamente variable, se ha estimado que una oveja al nacimiento contiene alrededor de 100 000-200 000 folículos primordiales (Evans, 2003b) y una población más limitada de folículos preantales (100 a 1000) y antrales (50 a 300) (Driancourt, 2001). El desarrollo de un folículo del estadio preantral al preovulatorio dura alrededor de 6 meses y aproximadamente de 34-43 días desde la formación del antro a la fase preovulatoria (Evans, 2003b) (Figura 2).

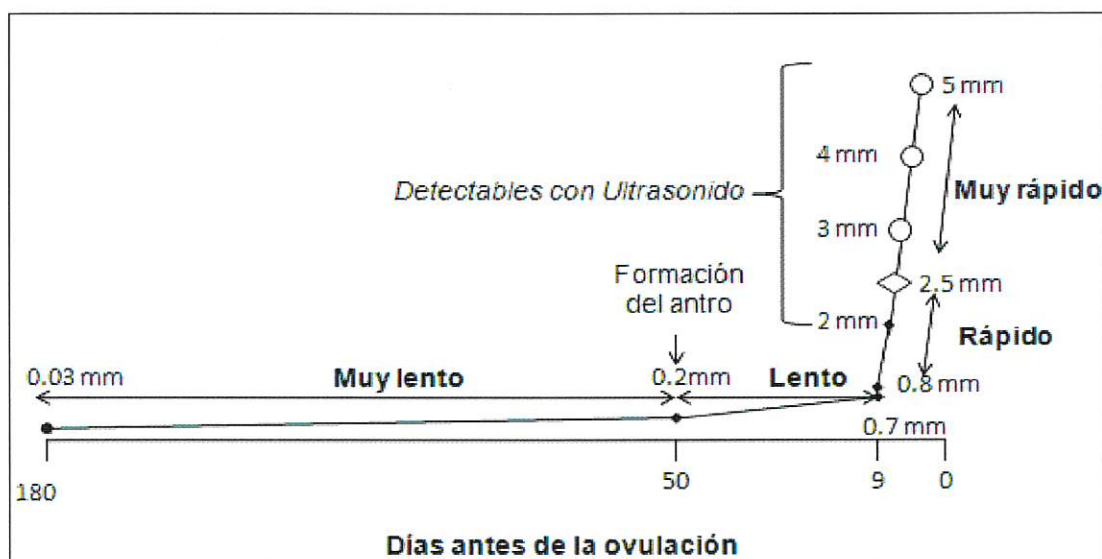


Figura 2. Características del crecimiento folicular en ovinos (modificado de Viñoles, 2003).

Scaramuzzi *et al.* (1993) desarrollaron un modelo funcional acerca del desarrollo folicular en ovejas, en el modelo se describen cinco clases de folículos basado en su dependencia y sensibilidad a las hormonas gonadotrópicas (Cuadro 1).

2.2.1 Folículos primordiales

Los folículos primordiales constituyen el reservorio de células germinales en el ovario después del nacimiento, los cuales son gradualmente reclutados durante la vida productiva del animal (Braw-Tal, 2002; Viñoles, 2003) y su número varía con la especie y la edad del animal (Pincton, 2001). Los ovarios de ovejas jóvenes contienen entre 40 000 y 300 000 folículos primordiales (Scaramuzzi *et al.*, 1993), los cuales son caracterizados por contener un ovocito en la profase de la primera división meiótica, desprovistos de una zona pelúcida y rodeados por una sola capa de células de pregranulosa aplanadas (Pincton, 2001). El ovocito en este momento tiene alrededor de 0.023 ± 0.005 mm de diámetro y el número de células de pregranulosa en el corte de la sección más grande de un folículo ha sido estimado en 6.0 ± 0.3 células (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

2.2.2 Folículos reclutados

Los folículos se desarrollan continuamente a partir de la población de folículos primordiales durante la vida productiva del animal (Vanderhyden, 2002), en una secuencia ordenada de eventos (Viñoles, 2003). En esta fase, los folículos crecen muy lentamente por aproximadamente 130 días (Viñoles, 2003) y el crecimiento está determinado por el ritmo de proliferación de las células de la granulosa (Monniaux *et al.*, 1997).

Los primeros eventos detectables en la transformación de un folículo primordial a un folículo reclutado son: síntesis de RNA por el ovocito, agrandamiento del ovocito, actividad mitótica en las células de la pregranulosa, desarrollo de las células de la pregranulosa cuboidales y formación de la zona pelúcida (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Braw-Tal, 2002). El desarrollo futuro de los folículos

reclutados involucra el continuo agrandamiento del ovocito y la proliferación de las células cuboidales de la granulosa en capas concéntricas alrededor del ovocito. Cuando 2-3 capas de células de la granulosa están formadas, las células de la teca se diferencian de las que rodean al estroma con alineamiento concéntrico a la membrana basal. Los folículos reclutados varían en diámetro de 0.03 a 0.1 mm y contienen aproximadamente 100 000 células de granulosa de un diámetro de 0.1 mm. Estas estructuras son conocidas comúnmente como folículos preantrales. Una oveja mono ovulatoria contiene más de 4 000 folículos reclutados (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

Cuadro 1. Clasificación funcional y características de folículos ovinos.

Tipo de folículos	Número de folículos	Tamaño (mm)	LHr en células de la teca	Células de la granulosa		Actividad aromatasa
				FSHr	LHr	
Primordiales	40 000 a 30 000	0.03	-	-	-	-
Reclutados	4 000	0.03 a 0.1	+	+	-	-
Sensibles a las gonadotropinas	25	1 a 2.5	++	++	-	++
Dependientes de gonadotropinas	1 a 8	2.5	+++	++	+	++
Ovulatorio	1 a 2	2.5 a 6	+++	++	++	+++

LHr= receptor de la hormona luteinizante, FSHr= receptor de la hormona folículo estimulante. Los símbolos positivos (+) y negativos (-) representan la expresión de los receptores y actividad aromatasa. Tomado de Viñoles (2003).

2.2.3 Folículos sensibles a las gonadotropinas

A medida que los folículos reclutados desarrollan, receptores para LH y FSH son identificados en las células de la teca y de la granulosa, respectivamente. Los folículos >1 mm de diámetro son sensibles a la FSH. La aplicación de FSH a folículos >1 mm de diámetro induce la síntesis de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) y esteroides *in vitro*. La aplicación de gonadotropinas a folículos de 0.1 a 0.6 mm de diámetro induce la capacidad para sintetizar progesterona y andrógenos (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

El crecimiento de folículos antrales es rápido debido principalmente al desarrollo del antro folicular (Monniaux *et al.*, 1997). Las células de la granulosa en respuesta a la FSH sintetizan y secretan proteoglicanos, los cuales

posiblemente están involucrados en la formación del antro folicular (Scaramuzzi *et al.*, 1993). Después de la formación del antro, al folículo le toma aproximadamente 30 días crecer de 0.2 a 0.7 mm, pero al final de este estadio dependiente de gonadotropinas la velocidad de crecimiento aumenta, y le toma alrededor de 5 días incrementar de 0.8 a 2.5 mm (Viñoles, 2003).

El número de folículos sensibles a las gonadotropinas es relativamente alto en ovejas, con aproximadamente 25 folículos de entre 1 a 2.5 mm. Estos folículos forman la población a partir de la cual se desarrollan los folículos ovulatorios, la mayoría son inmaduros, dependientes de las gonadotropinas y ovulan durante la fase folicular (Webb *et al.*, 1989; Scaramuzzi *et al.*, 1993).

2.2.4 Folículos dependientes de gonadotropinas

Los folículos dependientes de gonadotropinas en esta etapa requieren LH para la producción de andrógenos, sustrato necesario para su aromatización a E₂ (Monniaux *et al.*, 1997). La exposición a LH no es esencial y si la concentración de LH es alta los folículos no desarrollan y sufren atresia (Scaramuzzi *et al.*, 1993). Las altas concentraciones de FSH causan un incremento en la actividad aromatasas de las células de la granulosa a aproximadamente 25% del nivel máximo observado en los folículos ovulatorios. Consecuentemente, el folículo aumenta la producción de E₂ resultando en un incremento en las concentraciones de AMPc, a la sensibilidad a FSH y a un incremento en la cantidad del sustrato andrógenos, que más tarde está asociado con un incremento en el número de receptores de LH.

Los folículos dependientes de gonadotropinas tienen un alto requerimiento de FSH, lo cual los hace más sensibles a las gonadotropinas que los folículos ovulatorios, característica que además de distinguirlos, los hace más vulnerables a la atresia (Eppig, 2001). En parte, esto puede ser debido a que el número de folículos >2.5 mm de diámetro son usualmente bajos y variables (1-8). El folículo ovulatorio seleccionado tiene la capacidad de prevenir el futuro

desarrollo de otros folículos dependientes de gonadotropinas debido al efecto negativo que ejercen el E_2 y la inhibina para reducir la producción de FSH. Muchos de los folículos dependientes de gonadotropinas se vuelven atrésicos debido a las variaciones cíclicas de FSH durante el ciclo estral (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

2.2.5 Folículos ovulatorios

La transformación de un folículo dependiente de gonadotropinas a uno capaz de ovular (folículo ovulatorio) requiere de bajas, pero críticas concentraciones de FSH para la maduración final de las células de la granulosa. La actividad aromatasa por las células de la granulosa es máxima y las secreciones de E_2 e inhibina se incrementan parcialmente como consecuencia del alto número de células de granulosa en el folículo ovulatorio (Scaramuzzi *et al.*, 1993). Asimismo, los folículos ovulatorios tienen células de la granulosa con un mayor número de receptores tanto para LH como FSH. El incremento en la secreción de E_2 e inhibina suprimen a la FSH por debajo de las concentraciones mínimas requeridas por los folículos dependientes de gonadotropinas. El aumento en tamaño del folículo ovulatorio es debido a un incremento en el número de células de la granulosa y a la acumulación de fluido en el antro folicular (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Viñoles, 2003).

En el estadio de desarrollo preovulatorio los folículos ováricos expresan los receptores para LH y son capaces de responder al inminente pico de LH. Los folículos que sobreviven al estadio periovulatorio son dependientes del pico endógeno de LH (Markström *et al.*, 2002). La actividad aromatasa es máxima, por lo cual, el folículo ovulatorio tiene las concentraciones intrafoliculares de E_2 altas. El folículo ovulatorio es responsable de más del 90% de las concentraciones circulantes de E_2 (Viñoles, 2003).

El número de folículos que pasan de un estadio de desarrollo al siguiente disminuye en cada paso, y la mayoría de los folículos se pierden mediante el

proceso de atresia. Esta es la forma en que el número de folículos destinados a ovular y la cuota ovulatoria son estrictamente regulados. Durante el proceso de desarrollo, los folículos secuencialmente se hacen más sensibles a las gonadotropinas. Los estadios de desarrollo folicular que pueden ser modulados por gonadotropinas ocurren en un patrón organizado y de manera cíclica, referido como desarrollo folicular en ondas (Viñoles, 2003).

2.3 Dinámica folicular

El uso de imágenes de ultrasonido en serie, han ayudado a entender de mejor forma el patrón de desarrollo folicular en diversas especies domésticas (Evans, 2003a). Los estudios revelaron que los folículos ovulatorios se desarrollan como parte de una onda o población de folículos antrales, los cuales son reclutados y comienzan su crecimiento sincronizado. Durante el proceso de selección únicamente un determinado número de folículos se convierten en dominantes y son capaces de ovular, mientras el resto (subordinados) se vuelven atrésicos y degeneran (Fortune *et al.*, 2004). En ovejas ocurren ondas foliculares durante el ciclo estral (Driancourt, 1991; Ginther *et al.*, 1995), pero bajo condiciones naturales únicamente el folículo dominante presente al momento de la luteólisis ovula (Evans, 2003a).

Una onda de desarrollo folicular se ha definido como el desarrollo sincronizado de un número grande de folículos (3 a 6) de 2 a 4 mm en diámetro (Evans, 2003a), seguido por la selección y crecimiento del folículo dominante y la supresión de los folículos subordinados. Una onda folicular finaliza con la ovulación de uno ó más folículos de un diámetro aproximado de 6 a 8 mm, ó la atresia del folículo dominante (Driancourt, 1991). La mayoría de los estudios describen de dos a cuatro ondas durante el ciclo estral en ovejas (Evans *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2002; Evans, 2003a), y el folículo preovulatorio deriva de la última onda de desarrollo folicular. Sin embargo, en muchos de los casos el folículo ovulatorio puede derivar de la penúltima onda folicular (Bartlewski *et al.*, 1999; Evans, 2003a). Las ondas foliculares también ocurren en condiciones de

anestro incluyendo: la preñez, el anestro postparto y anestro prepúber (Evans, 2003a; Rawlings *et al.*, 2003). Durante cada periodo de crecimiento de un folículo dominante se presentan cuatro fases: reclutamiento, selección, dominancia y atresia u ovulación (Sunderland *et al.*, 1994).

2.3.1 Reclutamiento

El término reclutamiento es usado para marcar la entrada de los folículos primordiales (folículos rodeados por una sola capa de células cuboidales de pregranulosa) a la población en crecimiento, y señalar los procesos asociados con la entrada de los folículos en un patrón de crecimiento parecido a ondas (Kanitz, 2003). Los folículos son recluidos en grupos, lo cual sugiere que han recibido una señal que les permite continuar creciendo y desarrollando antes de sufrir regresión.

Al parecer la señal que estimula el reclutamiento es un ligero incremento en la concentración de FSH en plasma (Fortune, 1993). Los folículos sensibles responden al incremento en las concentraciones de FSH para formar un grupo de folículos en crecimiento (Fair, 2003), que les permite entrar de una fase de crecimiento lento a una fase de crecimiento rápido. En ovejas, las fluctuaciones en las concentraciones de FSH han sido asociadas con ondas de crecimiento folicular, sugiriendo un efecto estimulante de la FSH en la emergencia de cada onda folicular (Ginther *et al.*, 1995; Gibbons *et al.*, 1999; Viñoles *et al.*, 2002). La emergencia de la siguiente onda folicular ocurre sólo después de que el folículo dominante, estrogénicamente activo (O'Rourke *et al.*, 2000) ha perdido su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los folículos subordinados (Evans *et al.*, 2000).

El desarrollo de folículos terciarios saludables >2 mm, terminan en reclutamiento y desarrollo (Maracek *et al.*, 2002). Los factores que regulan el recurrente incremento de FSH son principalmente de origen ovárico, particularmente del folículo dominante que produce grandes cantidades de E₂

(Ireland *et al.*, 1979; O'Rourke *et al.*, 2000). El reclutamiento termina cuando los folículos sintetizan y secretan cantidades crecientes de inhibina y E_2 . La retroalimentación negativa de estas hormonas sobre la secreción de FSH, reduce la concentración de ésta por debajo del umbral necesario para el futuro reclutamiento (Riesenberg *et al.*, 2001).

2.3.2 Selección

La selección, es el proceso mediante el cual sólo un folículo de muchos presentes se convierte en folículo ovulatorio (Ginther, 2000). Scaramuzzi *et al.* (1993) han considerado que ésta es la etapa en la que ocurre una reducción en el número de folículos de la población en crecimiento a la cuota ovulatoria específica para cada especie. La selección del folículo dominante en especies monovulatorias (bovinos, caballos y humanos) determina el tipo de ovulación en las hembras, y está asociada con la disminución en la concentración plasmática de FSH (Martínez *et al.*, 1999), la cual disminuye durante los primeros tres días después de la emergencia de la onda. La concentración mínima de FSH se alcanza el día 4 y continúa baja por los siguientes 2-3 días (Adams *et al.*, 2008), coincidiendo con un aumento en la secreción de inhibina y E_2 , sugiriendo que inhibina es el principal producto de los folículos diferenciados (Souza *et al.*, 1997b; Gonzalez-Bulnes y Veiga-Lopez, 2008).

En bovinos y caballos, la selección es caracterizada por una divergencia en el ritmo de crecimiento entre el folículo más grande y los folículos subordinados de una onda, evento que termina con la divergencia entre el diámetro de los dos folículos más grandes (Kulick *et al.*, 2001). Al inicio de la divergencia, únicamente el folículo más desarrollado es capaz de utilizar las bajas concentraciones de FSH (Ginther *et al.*, 2001; Kulick *et al.*, 2001). Esta divergencia en diámetro entre los dos folículos más grandes ha sido asociada con un incremento transitorio en las concentraciones periféricas de FSH y una reducción intrafolicular de E_2 (Webb *et al.*, 1989).

2.3.3 Dominancia

La dominancia es el proceso mediante el cual un folículo en crecimiento de una onda excede a otros en el ritmo de crecimiento, finalmente en tamaño y suprime el crecimiento de otros folículos subordinados de la misma onda (Webb y Armstrong, 1998; Barret *et al.*, 2006), en un ambiente de mínimas concentraciones hormonales, para evitar la competencia de otros folículos. La dominancia previene la emergencia de la siguiente onda folicular hasta que el folículo dominante de la onda anterior sufra regresión u ovulación (Ko *et al.*, 1991; Bo *et al.*, 2000). Superada la etapa de selección, el folículo dominante continúa su crecimiento y diferenciación hacia un camino que lo prepara para la ovulación.

El número de folículos reclutados es mayor que el número de folículos ovulatorios para una especie. Sin embargo, sólo un número específico de folículos continúa creciendo más rápido y alcanzan el tamaño ovulatorio. Los cuales son llamados folículos dominantes, debido a que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de los folículos contemporáneos de la misma onda de crecimiento folicular (Matton *et al.*, 1981). La dominancia folicular al parecer es controlada por un número de mecanismos que actúan en conjunto (Armstrong y Webb, 1997). Estos incluyen alteraciones en las concentraciones periféricas de FSH, causadas por el E_2 e inhibina, que son sintetizadas por las células de la granulosa del folículo dominante (Evans *et al.*, 2001), las cuales mantienen las concentraciones a niveles basales durante el periodo de dominancia (Mihm y Bleach, 2003; Kandiel *et al.*, 2008). Otros factores ováricos locales como el sistema IGF, la superfamilia TGF- β , el sistema activina/inhibina y la follistatina que pueden ejercer alguna acción sobre el desarrollo folicular (Armstrong y Webb, 1997; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2006), sin embargo; el papel específico de estos factores no han sido totalmente explicados (Webb *et al.*, 1999).

Los receptores para FSH se encuentran sólo en las células de la granulosa, mientras que los receptores para LH se localizan en las células de la granulosa

y de la teca en la pared de los folículos antrales (Adams *et al.*, 2008). Esto sugiere que el folículo dominante adquiere más receptores para LH en las células de la granulosa que los folículos subordinados (Adams *et al.*, 2008), y una vez que las concentraciones de FSH son mínimas, el folículo dominante se hace dependiente de LH para continuar su crecimiento y desarrollo (Evans *et al.*, 1997; Wolfsdorf *et al.*, 1997), mientras que los folículos subordinados sufren regresión (Adams *et al.*, 2008).

La existencia de dominancia folicular en la oveja ha generado debate en el pasado (Drinacourt *et al.* 1991; Viñoles, 2003), debido a que la magnitud de la dominancia es definida por la diferencia de tamaño entre el folículo dominante y el folículo subordinado más grande (Driancourt, 2001). Resultados en ovejas Muflón (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2001), mostraron que el folículo preovulatorio inhibió el crecimiento de los otros folículos presentes en los ovarios al momento de la emergencia. En otro estudio, Gonzalez-Bulnes *et al.* (2004) reportaron que la presencia de folículos grandes coincidió con baja amplitud y alta frecuencia de pulsos de LH que inhibieron el crecimiento de los otros folículos presentes en el ovario. El efecto inhibitorio posiblemente se debió a factores sistémicos, dado que el crecimiento de los folículos grandes estuvo relacionado con una disminución en los niveles de FSH y al número de folículos en ambos ovarios (Gonzalez-Bulnes y Veiga-Lopez, 2008); mientras Bartlewski *et al.* (2000a) concluyeron que la dominancia es menos aparente en la oveja, debido a que varios folículos pueden emerger y crecer hasta un estadio final similar en una misma onda.

2.3.4 Atresia

En cada ciclo se produce el reclutamiento folicular, pero sólo uno de los folículos reclutados se selecciona para ser dominante, mientras el resto degenera por atresia (Ginther *et al.*, 2001). La atresia es el proceso de degradación fisiológica que afecta a todos los componentes foliculares y progresivamente conduce a la eliminación de folículos (Isobe y Yoshimura,

2000) que no han sido seleccionados para la ovulación (D'haeseleer *et al.*, 2006).

La apoptosis, es el principal mecanismo que contribuye a la atresia folicular. Este es un proceso regulado hormonalmente y afectado por diferentes factores. Aunque un número de factores de crecimiento producidos localmente afectan la sobrevivencia celular folicular, los principales reguladores fisiológicos de ésta son las gonadotropinas (Markström *et al.*, 2002). Los folículos antrales grandes requieren soporte gonadotrópico para sostener su crecimiento y prevenir la atresia folicular (Jablonka-Shariff *et al.*, 1994).

Los primeros estadios de la apoptosis son caracterizados por la activación de las endonucleasas, degradación de la cromatina y condensación nuclear (Murdoch, 1995). Las células apoptóticas se reducen en tamaño y pierden contacto con las células vecinas. Los cuerpos residuales son reabsorbidos por células epiteliales adyacentes o macrófagos (Murdoch, 1995). Los primeros signos de atresia en los folículos antrales son la degeneración de las células de la granulosa y la pérdida de su actividad aromatasa. En la oveja, la atresia de folículos >3 mm está asociada con una disminución de la actividad aromatasa en las células de la granulosa, en la síntesis folicular de AMPc en respuesta a FSH y LH, en las concentraciones de E₂ en el fluido folicular, y en la población de las células de la granulosa (Jolly *et al.*, 1997a; Austin *et al.*, 2001). Por otro lado, Yuan y Rajamahendran (2000) mencionan que una alta relación estradiol:progesterona (>1) en fluido folicular es una característica de folículos saludables, mientras una baja relación (<1) es indicativo de un estado atrésico. La disminución en la producción de E₂ puede ser resultado de una reducción en el número de células de la granulosa viables, de la actividad aromatasa o ambas (Jolly *et al.*, 1997b; Yuan y Rajamahendran, 2000).

2.3.5 Ovulación

La ovulación es un proceso complejo que permite la liberación de un óvulo viable, capaz de ser fertilizado (Richards, 2005). Durante el estro, las altas concentraciones de E_2 estimulan la liberación de GnRH, induciendo la síntesis y secreción de LH (Martínez *et al.*, 2003), y finalmente un pico de LH culminando con la ovulación (Algire *et al.*, 1992; Herat *et al.*, 2007).

El proceso tiene características parecidas a las de una fina reacción inflamatoria que incluye hiperemia, edema, extravasación de leucocitos e inducción de actividades proteolíticas (Sirois *et al.*, 2004). El folículo preovulatorio sintetiza progesterona y prostaglandinas (PGE_2 y $PGF_{2\alpha}$) en respuesta al pico preovulatorio de LH (Murdoch *et al.*, 1986). El incremento en el tamaño del folículo prevulatorio es debido a una expansión de la membrana basal entre la teca interna y el estrato de la granulosa, ocasionando la ruptura en diversos puntos, lo que resulta en el pasaje de sangre de la teca interna a la granulosa para que fluya repentinamente hacia afuera el ovocito (Reed *et al.* 1979).

La selección del folículo preovulatorio normalmente ocurre durante el proceso de luteólisis (Souza *et al.*, 1997a), bajo la influencia de un incremento en la secreción de LH y disminución de FSH, uno o más folículos estrogénicos emergen de la población de folículos dependientes de gonadotropinas que pueden normalmente ovular (Campbell *et al.*, 1997). Leyva *et al.* (1998a) estimaron que los folículos ovulatorios derivan de la población de folículos mayores de 2 mm que emergen como folículos estrogénicos dentro de las primeras 10 h después de inducida la luteólisis. El folículo dominante presente al inicio de la luteólisis se convierte en el folículo que ovulará, y la emergencia de la siguiente onda se retarda hasta el día que ocurra la ovulación (Adams *et al.*, 2008).

2.4 Patrón de desarrollo folicular en la oveja

Antes de la aplicación de la ultrasonografía transrectal al estudio de la dinámica folicular en ovinos, el patrón de desarrollo folicular fue deducido indirectamente a partir del estudio de patrones cíclicos de hormonas gonadotrópicas y esteroides, y fueron estudiadas experimentalmente usando técnicas de medición y conteo de folículos en ovarios obtenidos de animales sacrificados, seguimiento de folículos por laparoscopia, y análisis del desarrollo folicular después de la destrucción de folículos de tamaño seleccionados. Las técnicas generaron información valiosa; sin embargo, no demostraron claramente el patrón de desarrollo folicular en la oveja (Rubianes, 2000; Evans, 2003a).

Los primeros estudios usando ultrasonografía transrectal no encontraron evidencias que el desarrollo folicular en la oveja se presentara en forma de ondas (Schrick *et al.*, 1993; Ravindra *et al.*, 1994), lo cual hacia suponer que se daba de forma continua y aleatoria. Sin embargo, Ginther *et al.* (1995) y Gibbons *et al.* (1999) encontraron una estrecha relación entre las fluctuaciones en las concentraciones de FSH y la emergencia de las ondas foliculares durante el ciclo estral de ovejas, confirmando la existencia del desarrollo folicular en forma de ondas.

Las ondas de crecimiento folicular en ovinos son similares a las reportadas en bovinos (Evans, 2003b; Rawlings *et al.*, 2003). Estudios de ultrasonografía transrectal han demostrado que pueden ocurrir dos (Leyva *et al.*, 1998b; Viñoles *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2002; Ali *et al.*, 2006; Contreras-Solis *et al.*, 2008), tres (Leyva *et al.*, 1998b; Bartlewski *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2002; Ali *et al.*, 2006; Contreras-Solis *et al.*, 2008; Seekallu *et al.*, 2009), o cuatro (Ginther *et al.*, 1995; Leyva *et al.*, 1998b; Bartlewski *et al.*, 1999; Contreras-Solis *et al.*, 2008; Seekallu *et al.*, 2009) ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral en la oveja (Figura 3). En el Cuadro 2 se resumen algunas características de la dinámica folicular en hembras de varias razas ovinas.

La emergencia de la primer onda folicular del ciclo es predecible, y ocurre alrededor del momento de la ovulación, independientemente del número de ondas que se desarrollen durante el ciclo estral (Fortune, 1993; Viñoles *et al.*, 2007). Posteriormente, emergen folículos antrales de forma continua, en promedio cada 4 días antes de la regresión u ovulación (Rawlings *et al.*, 2003). En ciclos con dos ondas, la segunda emerge el día 7.29; mientras que para ciclos con tres ondas, la segunda emerge el día 5.31 y la tercera el día 11.69 (Ali *et al.*, 2006); y para ciclos con cuatro ondas, la segunda emerge el día 4.9, la tercera el día 9.0 y la cuarta el día 14.2 (Ginther *et al.*, 1995).

Cuadro 2. Resumen de las características de la dinámica folicular en razas de ovinos realizada mediante ultrasonografía transrectal.

Raza y animales empleados	Duración del estudio	Patrón encontrado	Referencia
Suffolk, cruzas (15)	Un ciclo/oveja	Ninguno	Schrick <i>et al.</i> (1993)
Western White-face, cruzas (8)	Un ciclo/oveja	Ninguno	Ravindra <i>et al.</i> (1994)
Polipay (5)	16 ciclos en total	3 a 6 ondas	Ginther <i>et al.</i> (1995)
Fin-Merino, cruzas (9)	10 días, época de anestro	1 y 2 ondas	Souza <i>et al.</i> (1996)
Merino (9)	15 ciclos en total	Ninguno	López-Sebastián <i>et al.</i> (1997)
Western White-face, cruzas (10)	Un ciclo/oveja	2 ondas	Ravindra y Rawlings (1997)
Suffolk (15)	Un ciclo/oveja	3 a 5 ondas	Leyva <i>et al.</i> (1998b)
Scottish Black-face Merino (6)	Fase lútea del ciclo, ovarios autotransplantados	3 ondas	Souza <i>et al.</i> (1998)
Finnish Landrace (7)	Un ciclo/oveja	3 y 4 ondas	Bartlewski <i>et al.</i> (1999)
Western White-face (10)	Un ciclo/oveja	3 y 4 ondas	Bartlewski <i>et al.</i> (1999)
RambouilletxBooroola Merino (21)	Un ciclo/oveja	2 a 4 ondas	Gibbons <i>et al.</i> (1999)
Texel (9)	Un ciclo	2 a 4 ondas	Evans <i>et al.</i> (2000)
Suffolk, cruzas (11)	Dos ciclos/oveja	2 a 4 ondas	Evans <i>et al.</i> (2000)
Suffolk-Texel (18)	10 días	2 ondas	Evans <i>et al.</i> (2002)
Polwarth (16)	Un ciclo/oveja	3 y 4 ondas	Viñoles <i>et al.</i> (2002)
Olkuska (6)	18 ciclos en total	3 a 5 ondas	Zięba <i>et al.</i> (2002)
Western White-face (7)	Un ciclo/oveja	2 a 4 ondas	Duggavathi <i>et al.</i> (2003a)
West African (12)	16 ciclos en total	2 y 3 ondas	Contreras <i>et al.</i> (2005)
Ossimi (7)	20 ciclos en total	2 y 3 ondas	Ali <i>et al.</i> (2006)
West African (12)	Un ciclo/oveja	2 a 4 ondas	Contreras-Solis <i>et al.</i> (2008)
Western White-face (13)	Un ciclo/oveja	3 y 4 ondas	Seekallu <i>et al.</i> (2009)
Western White-face (12)	Un ciclo/oveja	4 ondas	Seekallu <i>et al.</i> (2009)

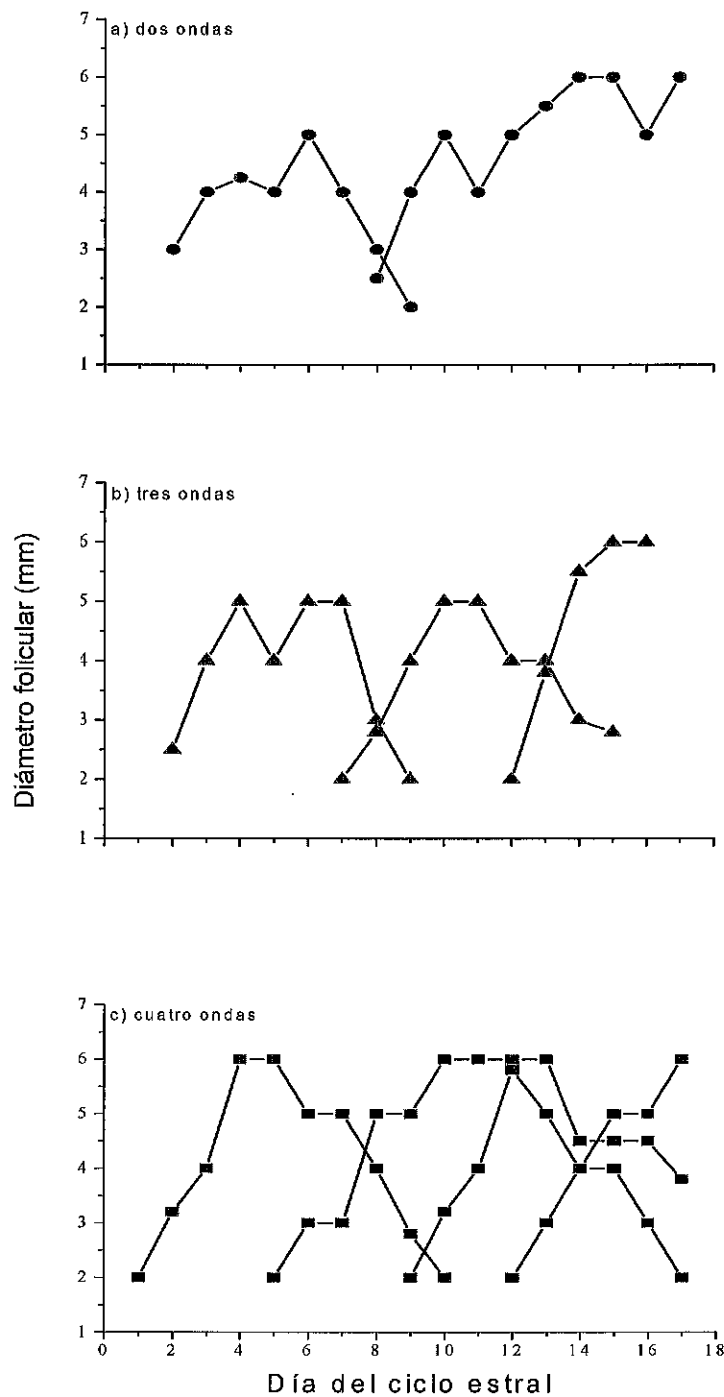


Figura 3. Diámetros de folículos medidos *in vivo* usando ultrasonografía en ovejas con a) 2, b) 3 ó c) 4 ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral (modificado de Evans *et al.*, 2000).

En ganado bovino, el número de ondas de desarrollo folicular determinan la longitud de la fase lútea y del ciclo estral (Yuan y Rajamahendran, 2000). Así, en ovinos Evans *et al.* (2000) encontraron que la longitud del ciclo estral fue de 15.6 ± 0.5 , 16.1 ± 1.1 , y 17 días; mientras Contreras-Solís *et al.* (2008) reportaron 16.5 ± 0.5 , 16.9 ± 0.4 y 16.7 ± 0.5 días para ovejas con dos, tres y cuatro ondas de desarrollo folicular.

Las características de las ondas foliculares en pequeños rumiantes han sido analizadas por Rubianes y Menchaca (2003) y Menchaca y Rubianes (2004), algunos de los aspectos más importantes frecuentemente observados en cada una de ellas son los siguientes: 1) al menos un folículo alcanza un diámetro ≥ 5 mm por onda; 2) el folículo más grande de cada onda crece aproximadamente 1 mm por día durante 5 a 7 días; 3) el diámetro máximo del folículo más grande de una onda difiere entre ondas; 4) a medida que la fase lútea progresa y las concentraciones de progesterona incrementan, el cambio folicular es facilitado y el intervalo entre ondas es más corto que durante la fase lútea temprana; 5) durante la fase lútea media los folículos que no crecen más de 4 mm no son a menudo parte de la onda, sugiriendo que representan una población dinámica subyacente; 6) de la mayoría de los folículos grandes presentes el día de la luteólisis, uno es el que ovula; 7) en la mayoría de ciclos ovulatorios dobles, los folículos ovulatorios emergen como parte de la misma onda folicular, pero en pocos casos también como parte de ondas diferentes; y 8) las dobles ovulaciones ocurren en un periodo de 24 h.

2.5 Ultrasonografía

La ultrasonografía de tiempo real para uso en diferentes especies domésticas ha sido desarrollada durante las últimas décadas (Davies *et al.*, 2006), la cual se ha establecido como una importante herramienta de diagnóstico en reproducción animal. La ultrasonografía es una técnica de diagnóstico que ayuda a la visualización tanto de órganos internos como de tejidos. Los equipos de ultrasonido se han utilizado en la comunidad médica desde inicios de 1970, y

en reproducción animal a finales de 1980, demostrando ser una técnica moderna de diagnóstico en reproducción asistida (García, 2001).

La ultrasonografía utiliza ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes seccionales y cruzadas de tejidos y órganos internos. Las ondas de sonido son vibraciones producidas por cristales especializados alojados en el transductor del ultrasonido. Las vibraciones de los cristales son producidas por pulsos de corriente eléctrica. Una proporción de las ondas de sonido son reflejadas a través del transductor y transformadas como un eco en la pantalla del ultrasonido (Ribadu y Nakao, 1999).

Las características ultrasónicas de un tejido dependen de su capacidad para reflejar las ondas de sonido. Los ecos son vistos en la pantalla como una escala de grises (negro a blanco). Los líquidos no reflejan las ondas de sonido (anecoicos) y son visualizados como estructuras negras en la pantalla. Las imágenes ultrasónicas de porciones de estructuras que contienen líquidos como los folículos ováricos y vesículas embrionarias aparecen como estructuras negras. Los tejidos densos como huesos y cérvix, reflejan una gran proporción de las ondas de sonido y son visualizadas en la pantalla como un gris ligero o blanco (Griffin y Ginther, 1992). La suavidad y contenido del tracto reproductivo aparecen en la pantalla en diferentes escalas de grises dependiendo de su ecogenicidad (Griffin y Ginther, 1992; Davies *et al.*, 2006).

La ultrasonografía transrectal de tiempo real permite el estudio de las estructuras ováricas en los ovinos (Schrack *et al.*, 1993; Gibbons *et al.*, 1999; Viñoles *et al.*, 1999) y como resultado el monitoreo de su evolución mediante observaciones sucesivas en diferentes tiempos (Baril *et al.*, 2000; Romano y Christians, 2008). Como método no invasivo, la ultrasonografía presenta algunas ventajas comparativamente con la laparoscopia o laparotomía. La técnica es menos estresante, la administración de anestésicos y agentes sedantes no son necesarios, además se pueden realizar observaciones diarias sin causar efectos adversos y es posible el escaneo completo de las estructuras

ováricas (Simões *et al.*, 2005; Teixeira *et al.*, 2008). Sin embargo, se requiere un alto nivel de entrenamiento para que la técnica de ultrasonografía pueda ser compatible con buenas prácticas de manejo y bienestar animal (Viñoles *et al.*, 2004).

2.6 Literatura citada

- Adams, G. P., R. Jaiswal, J. Singh, and P. Malhi. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69: 72-80.
- Aleandri, V., V. Spina, and A. Morini. 1996. The pineal gland and reproduction. *Human Reproduction* 2: 225-235.
- Algire, J. E., A. Srikandakumar, L. A. Guilbault, and B. R. Downey. 1992. Preovulatory changes in follicular prostaglandins and their role in ovulation in cattle. *Canadian Journal of Veterinary Research* 56: 67-69.
- Ali, A., R. Derar, and H. Hussein. 2006. Seasonal variation of the ovarian follicular dynamics and luteal functions of sheep in the subtropics. *Theriogenology* 66: 463-469.
- Arendt, J. 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of Reproduction* 3: 13-22.
- Arroyo, L. J., J. Gallegos-Sánchez, A. Villa-Godoy, J. M. Berruecos, G. Perera, and J. Valencia. 2007. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science* 102: 24-30.
- Armstrong, D. G., and R. Webb. 1997. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviews of Reproduction* 2: 139-146.
- Austin, E. J., M. Mihm, A. C. O. Evans, P. G. Knight, J. L. H. Ireland, J. J. Ireland, and J. F. Roche. 2001. Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biology of Reproduction* 64: 839-848.
- Baird, D. T. 1978. Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biology of Reproduction* 18: 359-364.

- Baird, D. T., B. K. Campbell, G. E. Mann, and A. S. McNeilly. 1991. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 43(Supplement): 125-138.
- Baird, D. T., I. A. Swanston, and A. S. McNeilly. 1981. Relationship between LH, FSH, and prolactin concentration and the secretion of androgens and estrogens by the preovulatory follicle in the ewe. *Biology of Reproduction* 24: 1013-1025.
- Baird, D. T., T. G. Baker, K. P. McNatty, and P. Neal. 1975. Relationship between the secretion of the corpus luteum and the length of the follicular phase of the ovarian sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 45: 611-619.
- Baril, G., J. L. Touze, R. Pignon, and J. Saumande. 2000. Evaluation of the efficiency of transrectal ultrasound to study ovarian function in goats. *Theriogenology* 53(Abstract): 370.
- Barret, D. M. W., P. M. Bartlewski, R. Duggavathi, K. L. Davies, and N. Rawlings. 2006. Suppression of follicle wave emergency in cyclic ewes by supraphysiologic concentrations of estradiol-17 beta and induction with a physiologic dose of exogenous ovine follicle-stimulating hormone. *Biology of Reproduction* 75: 633-641.
- Bartlewski, P. M. 2001. The relationships between ovarian antral follicle dynamics, luteal function and endocrine variables in ewes. Doctoral thesis. University of Saskatchewan. Saskatchewan, Canada. 335 p.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, S. J. Cook, R. K. Chandolia, A. Honaramooz, and N. C. Rawlings. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility* 115: 111-124.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 2000a. An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology* 54: 229-245.
- Bartlewski, P. M., J. Vanderpol, A. P. Beard, S. J. Cook, and N. C. Rawlings. 2000b. Ovarian antral follicular dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotrophins and ovarian steroids in anoestrus Finnish Landrace ewes. *Animal Reproduction Science* 58: 273-291.
- Bo, G. A., D. R. Bergfelt, G. M. Brogliatti, R. A. Pierson, G. P. Adams, and R. J. Mapletoft. 2000. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-

- 17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progestagen implants. *Animal Reproduction Science* 59: 141-157.
- Braw-Tal, R. 2002. The initiation of follicle growth: the oocyte or the somatic cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* 187: 11-18.
- Campbell, B. K., H. Dobson, D. T. Baird, and R. J. Scaramuzzi. 1997. Studies on the role of LH in the maturation of the pre-ovulatory follicle in sheep using a GnRH-antagonist. *Animal Reproduction Science* 48: 219-234.
- Contreras, I., T. Díaz, G. López, A. Caigua, and A. B. González. 2005. Waves of follicle development during two consecutive estrous cycles in West African ewes in Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 13(Abstract): 127.
- Contreras-Solis, I., T. Diaz, G. Lopez, A. Caigua, A. Lopez-Sebastian, and A. Gonzalez-Bulnes. 2008. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. *Animal Reproduction Science* 104: 47-55.
- Cumming, I. A., J. M. Buckmaster, M. A. de B. Blockey, J. R. Goding, C. G. Winfield, and R. W. Baxter. 1973. Constancy of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. *Biology of Reproduction* 9: 24-29.
- Davies, K. L. 2005. Ovarian antral follicular dynamics and regulation in sheep. Doctoral thesis. University of Saskatchewan. Saskatchewan, Canada. 153 p.
- Davies, K. L., P. M. Bartlewski, R. A. Pierson, and N. C. Rawlings. 2006. Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: a comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. *Animal Reproduction Science* 96: 165-175.
- D'haeseleer, M., G. Cocquyt, S. V. Cruchten, P. Simoes, and W. V. D. Broeck. 2006. Cell-specific localization of apoptosis in the bovine ovary at different stages of the oestrus cycle. *Theriogenology* 65: 757-772.
- Downey, B. R. 1980. Regulation of the estrous cycle in domestic animals. *Canadian Journal of Veterinary Research* 21: 301-306.
- Driancourt, M. A. 1991. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* 35: 55-79.

- Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55: 1211-1239.
- Driancourt, M. A. R. Webb, and R. C. Fry. 1991. Does follicular dominance occur in ewes? *Journal of Reproduction and Fertility* 93: 63-70.
- Duggavathi, R., P. M. Bartlewski, D. M. W. Barrett, and N. C. Rawlings. 2003a. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of ovarian follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology* 60: 495-510.
- Duggavathi, R., P. M. Bartlewski, R. A. Pierson, and N. C. Rawlings. 2003b. Luteogenesis in cyclic ewes: echotextural, histological, and functional correlates. *Biology of Reproduction* 69: 634-639.
- Eppig, J. J. 2001. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 122: 829-838.
- Evans, A. C. O. 2003a. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals* 38: 240-246.
- Evans, A. C. O. 2003b. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal Reproduction Science* 78: 289-306.
- Evans, A. C. O., C. M. Komar, S. A. Wandji, and J. E. Fortune. 1997. Changes in androgen secretion and luteinizing hormone pulse amplitude are associated with the recruitment and growth of ovarian follicles during the luteal phase of the bovine estrous cycle. *Biology of Reproduction* 57: 394-401.
- Evans, A. C. O., J. D. Flynn, P. Duffy, G. P. Knight, and M. P. Boland. 2002. Effects of ovarian follicle ablation on FSH, oestradiol and inhibin A concentrations and growth of other follicles in sheep. *Reproduction* 123: 59-66.
- Evans, A. C. O., P. Duffy, K. M. Quinn, G. P. Knight, and P. Boland. 2001. Follicular waves are associated with transient fluctuations in FSH but not oestradiol or inhibin-A concentrations in anoestrus ewes. *Animal Science* 72: 547-554.
- Evans, A. C. O., P. Duffy, N. Hynes, and M. P. Boland. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 53: 699-715.

- Fair, T. 2003. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Animal Reproduction Science* 78: 203-216.
- Forcada, F., and J. A. Abecia. 2006. The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Reproduction Nutrition and Development* 46: 355-365.
- Fortune, J. E. 1993. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility? *Animal Reproduction Science* 33: 111-125.
- Fortune, J. E., G. M. Rivera, and M. Y. Yang. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 109-126.
- Garcia, A. 2001. Applied reproductive ultrasonography in cattle. *In: Virginia Tech 2001 Dairy Conferences*. Virginia, United States. pp: 62-73.
- Garverick, H. A., W. G. Zollers, and M. F. Smith. 1992. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Animal Reproduction Science* 28: 111-124.
- Gibbons, J. R., K. Kot, D. L. Thomas, M. C. Wiltbank, and O. J. Ginther. 1999. Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology* 52: 1005-1020.
- Ginther, O. J. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science* 60-61: 61-79.
- Ginther, O. J., D. R. Bergfelt, M. A. Beg, and K. Kot. 2001. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. *Biology of Reproduction* 64: 197-205.
- Ginther, O. J., K. Kot, and M. C. Wiltbank. 1995. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43: 689-703.
- Gonzalez-Bulnes, A., and A. A. Veiga-Lopez. 2008. Evidence of intraovarian follicular dominance effects during controlled ovarian stimulation in a sheep model. *Fertility and Sterility* 89: 1507-1513.
- Gonzalez-Bulnes, A., C. J. H. Souza, B. K. Campbell, and D. T. Baird. 2004. Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Animal Reproduction Science* 84: 107-119.
- Gonzalez-Bulnes, A., C. J. H. Souza, R. J. Scaramuzzi, B. K. Campbell, and D. T. Baird. 2006. Long-term suppression of reproductive function by a

single dose of gonadotropin-releasing hormone antagonists in a sheep model. *Fertility and Sterility* 86(Supplement): 1121-1128.

- Gonzalez-Bulnes, A., J. Santiago-Moreno, J. Garcia-Garcia, A. del Campo, A. Gomez-Brunet, and A. Lopez-Sebastian. 2001. Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on the growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrus cycle. *Animal Reproduction Science* 65: 265-272.
- González, B. A., A. S. López, M. J. Cocero, J. M. Santiago, y R. M. G. García. 2003. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *In: III Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. pp: 1-15.
- Gordon, I. 1999. El ciclo estral de la vaca y manifestaciones asociadas. *In: Reproducción Controlada del Ganado Vacuno y Búfalos*. Gordon, I. (ed), Acribia. pp:103-135.
- Gordon, I. 1997. The ewe's oestrous cycle and seasonal breeding activity. *In: Controlled Reproduction in Sheep and Goats*. Gordon, I. (ed), CABI publishing. pp: 53-85.
- Grazul-Bilska, A. T., J. D. Kirsch, J. J. Bilski, K. C. Kraft, E. J. Windorski, J. S. Luther, K. A. Vonnahme, L. P. Reynolds, and D. A. Redmer. 2007. Superovulation in sheep: number and weight of the corpora lutea and serum progesterone. *Sheep and Goat Research Journal* 22: 26-31.
- Griffin, P. G., and O. J. Ginther. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *Journal of Animal Science* 70: 953-972.
- Herat, S., E. J. Williams, S. T. Lilly, R. O. Gilbert, H. Dobson, C.E. Bryant, and I. M. Sheldon. 2007. Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction* 134: 683-693.
- Huchkowsky, S. L., P. M. Bartlewski, and N. C. Rawlings. 2002. Ovarian follicular development and endocrine function in non-prolific Western White Face ewes with early or late onset of seasonal anestrus. *Small Ruminant Research* 46: 191-199.
- Ireland, J. J., P. B. Coulson, and R. L. Murphree. 1979. Follicular development during four stages of the estrous cycle of beef cattle. *Journal of Animal Science* 49: 1261-1269.
- Isobe, N., and Y. Yoshimura. 2000. Localization of apoptotic cells in the cystic ovarian follicles of cows: a DNA-end labeling histochemical study. *Theriogenology* 53: 897-904.

- Jablonka-Shariff, A., P. M. Fricke, A. T. Grazul-Bilska, L. P. Reynolds, and D. A. Redmer. 1994. Size, number, cellular proliferation, and atresia of gonadotropin-induced follicles in ewes. *Biology of Reproduction* 51: 531-540.
- Jimeno, V., T. Castro, y P. G. Rebollar. 2001. Interacción nutrición-reproducción en ovinos de leche. *In: XVII Curso de Especialización Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. España. pp: 131-160.*
- Jolly, P. D., D. J. Tisdall, G. De'ath, D. A. Heath, S. Lun, N. L. Hudson, and K. P. McNatty. 1997a. Granulosa cell apoptosis, aromatase activity, cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate response to gonadotropins, and follicular fluid steroid levels during spontaneous and induced follicular atresia in ewes. *Biology of Reproduction* 56: 830-836.
- Jolly, P. D., P. R. Smith, D. A. Heath, N. L. Hudson, S. Lun, L. A. Still, C. H. Watts, and K. P. McNatty. 1997b. Morphological evidence of apoptosis and prevalence of apoptosis versus mitotic cells in the membrane granulosa of ovarian follicles during spontaneous and induced atresia in ewes. *Biology of Reproduction* 56: 837-846.
- Juengel, J. L., H. R. Sawyer, P. R. Smith, L. D. Quirke, D. A. Health, S. Lun, S. J. Wakefield, and K. P. McNatty. 2002. Origins of follicular cells and ontogeny of steroidogenesis in ovine fetal ovaries. *Molecular and Cellular Endocrinology* 191: 1-10.
- Kandiel, M. M. M., G. Watanabe, J. Y. Li, N. Manabe, A. E. S. I. El Azab, and K. Taya. 2008. Physiological roles of inhibin in regulation of FSH secretion and follicular development during early pregnancy in goats. *Domestic Animal Endocrinology* 35: 157-163.
- Kanitz, W. 2003. Follicular dynamic and ovulation in cattle: a review. *Archiv Fur Tierzucht Dummerstorf* 46: 187-198.
- Karsch, F. J., B. Malpaux, N. L. Wayne, and J. E. Robinson. 1988. Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. *Reproduction Nutrition and Development* 28: 459-472.
- Karsch, F. J., J. M. Bowen, A. Caraty, N. P. Evans, and S. M. Moenter. 1997. Gonadotropin releasing hormone requirements for ovulation. *Biology of Reproduction* 56: 303-309.
- Karsch, F. J., S. J. Legan, K. D. Ryan, and D. L. Foster. 1980. Importance of estradiol and progesterone and estrous behavior during the sheep estrous cycle. *Biology of Reproduction* 23: 404-413.

- Karsch, F. J., S. M. Moenter, and A. Caraty. 1992. The neuroendocrine signal for ovulation. *Animal Reproduction Science* 28: 329-341.
- Kieborz-Loos, K. R., H. A. Garverick, D. H. Keisler, S. A. Hamilton, B. E. Salfen, R. S. Youngquist, and M. F. Smith. 2003. Oxytocin-induced secretion of prostaglandin F2 α in postpartum beef cows: effects of progesterone and estradiol-17 β treatment. *Journal of Animal Science* 81: 1830-1836.
- Ko, J. C., J. P. Kastelic, M. R. Del Campo, and O. J. Ginther. 1991. Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 91: 511-519.
- Kulick, L. J., D. R. Berfelt, K. Kot, and O. J. Ginther. 2001. Follicle selection in cattle: follicle deviation and codominance within sequential waves. *Biology of Reproduction* 65: 839-846.
- Leslie, E. K. 1983. The events of normal and abnormal postpartum reproductive endocrinology and uterine involution in dairy cows: a review. *Canadian Veterinary Journal* 24: 67-71.
- L'Hermite, M., G. D. Niswender, L. E. Reichert, and A. R. Midgley. 1972. Serum follicle-stimulating hormone in sheep as measured by radioimmunoassay. *Biology of Reproduction* 6: 325-332.
- Leyva, V., B. C. Buckrell, and J. S. Walton. 1998a. Follicular activity and ovulation regulated by exogenous progestagen and PMSG in anestrus ewes. *Theriogenology* 50: 377-393.
- Leyva, V., B. C. Buckrell, and J. S. Walton. 1998b. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50: 395-416.
- López-Sebastián, A., A. B. González, J. M. Santiago, A. Gomez-Brunet, E. C. Townsend, and E. K. Inskeep. 1997. Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes. *Animal Reproduction Science* 48: 279-291.
- López-Sebastián, A., A. González-Bulnes, J. Santiago-Moreno, A. Veiga-López, A. Toledano-Díaz, y I. Contreras. 2005. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *In: IV Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. pp: 83-104.
- Malpaux, B., C. Viguié, D. C. Skinner, J. C. Thiéry, and P. Chemineau. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin* 44: 431-438.

- Maracek, I., M. Krajnicáková, M. Kostecký, G. Gréserová, and I. Valocký. 2002. Tertiary follicular growth wave dynamics after oestrus synchronization and superovulation in ewes and goats. *Acta Veterinaria* 71: 481-486.
- Markström, E., E. C. Svensson, R. Shao, B. Svanberg, and H. Billig. 2002. Survival factors regulating ovarian apoptosis-dependence on follicle differentiation. *Reproduction* 123: 23-30.
- Martin, G. B., M. J. Hötzel, D. Blache, S. W. Walkden-Brown, M. A. Blackberry, R. Boukhliq, J. S. Fisher, and D. W. Miller. 2002. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of response to photoperiod by an annual cycle in food supply. *Reproduction Fertility and Development* 14: 165-175.
- Martínez, M. F., G. P. Adams, D. R. Bergfelt, J. P. Kastelic, and R. J. Mapletoft. 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Animal Reproduction Science* 57: 23-33.
- Martínez, M. F., R. J. Mapletoft, J. P. Kastelic, and T. Carruthers. 2003. The effects of 3 gonadorelin products on luteinizing hormone release, ovulation, and follicular wave emergence in cattle. *Canadian Veterinary Journal* 44: 125-131.
- Matton, P., V. Adalakoun, Y. Couture, and J. J. Dufour. 1981. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. *Journal of Animal Science* 52: 813-820.
- Menchaca, A., and E. Rubianes. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development* 16: 403-413.
- Mihm, M., and E. C. L. Bleach. 2003. Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science* 78: 217-237.
- Monniaux, D., P. Monget, N. Besnard, C. Huet, and C. Pisselet. 1997. Growth factors and follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology* 47: 3-12.
- Molik, E., T. Misztal, K. Romanowicz, and E. Wierzchos. 2006. The influence of length day on melatonin and prolactin secretion during lactation in seasonal sheep. *Archiv Fur Tierzucht Dummerstorf* 49: 359-364.
- Murdoch, W. J. 1995. Programmed cell death in preovulatory ovine follicles. *Biology of Reproduction* 53: 8-12.

- Murdoch, W. J., R. A. Dayley, and E. K. Inskeep. 1981. Preovulatory changes in prostaglandins E_2 and $F_{2\alpha}$ in ovine follicles. *Journal of Animal Science* 53: 192-205.
- Murdoch, W. J., T. A. Peterson, E. A. Van Kirk, D. L. Vincent, and E. K. Inskeep. 1986. Interactive roles of progesterone, prostaglandins, and collagenase in the ovulatory mechanism of the ewe. *Biology of Reproduction* 35: 1187-1194.
- Nephew, K. P., K. E. McClure, T. L. Ott, D. H. Dubois, F. W. Bazer, and W. E. Pope. 1991. Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration in ewes. *Biology of Reproduction* 44: 536-539.
- Nöel, B., J. L. Bister, and R. Paquay. 1993. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *Journal of Reproduction and Fertility* 99: 695-700.
- Nöel, B., S. M. N. Mandiki, B. Perrad, J. L. Bister, and R. Paquay. 1999. Terminal follicular growth, ovulation rate and hormonal secretion after melatonin pretreatment prior to FGA-PMSG synchronisation in Suffolk ewes at the onset of the breeding season. *Small Ruminant Research* 32: 269-277.
- O'Callaghan, D., F. J. Karsch, M. P. Boland, J. P. Hanrahan, and J. F. Roche. 1992. Variation in the timing of the reproductive season among breeds of sheep in relation to differences in photoperiodic synchronization of an endogenous rhythm. *Journal of Reproduction and Fertility* 96: 443-452.
- O'Rourke, M., M. G. Diskin, J. M. Sreenan, and J. F. Roche. 2000. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. *Animal Reproduction Science* 59: 1-12.
- Pincton, H. M. 2001. Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology* 55: 1193-1210.
- Quirke, J. F., G. H. Stabenfeldt, and G. E. Bradford. 1985. Onset of puberty and duration of the breeding season in Suffolk, Rambouillet, Finnish Landraceish Landrace, Dorset and Finnish Landrace-Dorset ewe lambs. *Journal of Animal Science* 60: 1463-1471.
- Rathbone, M. J., J. E. Kinder, K. Fike, F. Kojima, D. Clopton, C. R. Ogle, and C. R. Bunt. 2001. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews* 50: 277-320.

- Ravindra, J. P., and N. C. Rawlings. 1997. Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anoestrus to the breeding season. *Journal of Reproduction and Fertility* 110: 279-289.
- Ravindra, J. P., N. C. Rawlings, A. C. O. Evans, and G. P. Adams. 1994. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the estrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 501-509.
- Rawligns, N. C., A. C. O. Evans, A. Honaramooz, and P. M. Bartlewski. 2003. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Animal Reproduction Science* 78: 259-270.
- Rawligns, N. C., and S. J. Cook. 1993. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Animal Reproduction Science* 30: 289-299.
- Rawligns, N. C., S. W. Kennedy, C. H. Chang, J. R. Hill, and D. M. Henricks. 1977. Onset of seasonal anestrus in the ewe. *Journal of Animal Science* 44: 791-797.
- Reed, M., F. A. Burton, and P. A. Van Diest. 1979. Ovulation in the guinea-pig. I. The ruptured follicle. *Journal of Anatomy* 128: 195-206.
- Rexroad, E. C. Jr. 1981. Estrogen and progestagen binding in the myometrium of the ewe. I. During the estrous cycle. *Journal of Animal Science* 53: 1057-1069.
- Reynaud, K., and M. A. Driancourt. 2000. Oocyte attrition. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163: 101-108.
- Ribadu, A. Y., and T. Nakao. 1999. Bovine reproductive ultrasonography: a review. *Journal of Reproduction and Development* 45: 13-28.
- Richards, J. S. 2005. Ovulation: new factors that prepare the oocyte for fertilization. *Molecular and Cellular Endocrinology* 234: 75-79.
- Riesenberg, S., S. Meinecke-Tiltmann, and B. Meinecke. 2001. Ultrasonic study of follicular dynamics following superovulation in German Merino ewes. *Theriogenology* 55: 847-865.
- Romano, J. E., and C. J. Christians. 2008. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in ewes. *Small Ruminant Research* 77: 52-57.
- Rosa, H. J. D., and M. J. Bryant. 2003. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research* 48: 155-171.

- Rubianes, E., and A. Menchaca. 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science* 78: 271-287.
- Rubianes, E. 2000. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Actas de Fisiología* 6: 93-103.
- Saïd, S. B., D. Lomet, D. Chesneau, L. Lardic, S. Canepa, D. Guillaume, C. Briant, C. Fabre-Nys, and A. Caraty. 2007. Differential estradiol requirement for the induction of estrus behavior and the luteinizing hormone surge in two breeds of sheep. *Biology of Reproduction* 76: 673-680.
- Santiago-Moreno, J., A. López-Sebastián, A. González-Bulnes, A. Gómez-Brunet, and P. Chemineau. 2000. Seasonal changes in ovulatory activity, plasma prolactin, and melatonin concentrations, in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega (*Ovis aries*) ewes. *Reproduction Nutrition and Development* 40: 421-430.
- Scaramuzzi, R. J., N. R. Adams, D. T. Baird, B. K. Campbell, J. A. Downing, J. K. Findlay, K. M. Henderson, G. B. Martin, K. P. McNatty, A. S. McNeilly, and C. G. Tsonis. 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction Fertility and Development* 5: 459-578.
- Schillo, K. K. 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science* 70: 1271-1282.
- Schrick, F. N., R. A. Surface, J. Y. Pritchard, R. A. Dailey, E. C. Townsend, and E. K. Inskeep. 1993. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biology of Reproduction* 49: 1133-1140.
- Seekallu, S. V., B. M. Toosi, and N. C. Rawlings. 2009. LH pulse frequency and the emergence and growth of ovarian antral follicular waves in the ewe during the luteal phase of the estrous cycle. *Reproductive Biology and Endocrinology* 7: 78-93.
- Silva, J. R. V., R. V. D. Hurk, S. H. F. Costa, E. R. Andrade, A. P. A. Nunes, F. V. A. Ferreira, R. N. B. Lobo, and J. R. Figueiredo. 2004. Survival and growth of goat primordial follicles after *in vitro* culture of ovarian cortical slices in media containing coconut water. *Animal Reproduction Science* 81: 273-286.
- Singh, J., G. P. Adams, and R. A. Pierson. 2003. Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. *Animal Reproduction Science* 78: 371-399.

- Simões, J., J. Potes, J. Azevedo, J. C. Almeida, P. Fontes, G. Baril, and R. Mascarenhas. 2005. Morphometry of ovarian structures by transrectal ultrasonography in Serrana goats. *Animal Reproduction Science* 85: 263-273.
- Sirois, J., K. Sayasith, K. A. Brown, A. E. Stock, N. Bouchard, and M. Doré. 2004. Cytochrome P-450c17 and its role in ovulation: a 2004 account. *Human Reproduction Update* 10: 373-385.
- Souza, C. J. H., B. K. Campbell, and D. T. Baird. 1996. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. *Journal of Reproduction and Fertility* 108: 101-106.
- Souza, C. J. H., B. K. Campbell, and D. T. Baird. 1997a. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology of Reproduction* 56: 483-488.
- Souza, C. J. H., B. K. Campbell, and D. T. Baird. 1998. Follicular waves and concentrations of steroids and inhibin A in ovarian venous blood during the luteal phase of the oestrous cycle in ewes with an ovarian autotransplant. *Journal of Endocrinology* 156: 563-572.
- Souza, C. J. H., B. K. Campbell, R. Webb, and D. T. Baird. 1997b. Secretion of inhibin A and follicular dynamics throughout the estrous cycle in the sheep with and without the Booroola gene (*Fec^B*). *Endocrinology* 138: 5333-5340.
- Spicer, L. J., and S. E. Echternkamp. 1986. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 62: 428-451.
- Sunderland, S. J., M. A. Crowe, M. P. Boland, J. F. Roche, and J. J. Ireland. 1994. Selection, dominance and atresia during the oestrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 547-555.
- Teixeira, D. I. A., E. S. Lopes-Junior, F. C. Sousa, E. S. P. Pinheiro, I. A. Serova, L. E. Andreeva, and V. J. F. Freitas. 2008. The use of real-time ultrasonography to select embryo donors participating in a transgenesis goat programme. *Small Ruminant Research* 76: 215-219.
- Thiéry, J. C., P. Chemineau, X. Hernandez, M. Migaud, and B. Malpoux. 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 87-100.
- Vanderhyden, B. 2002. Molecular basis of ovarian development and function. *Frontiers in Bioscience* 7: 2006-2022.

- Viñoles, G. C. 2003. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden. 56 p.
- Viñoles, G. C., A. Meikle, and M. Forsberg. 2004. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. *Animal Reproduction Science* 80: 69-79.
- Viñoles, G. C., A. Meikle, M. Forsberg, and E. Rubianes. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351-1361.
- Viñoles, G. C., B. L. Paganoni, K. M. M. Glover, J. T. B. Milton, and G. B. Martin. 2007. Alimentación focalizada para aumentar la eficiencia reproductiva en ovinos: modelo de una oleada folicular para estudiar su efecto en el desarrollo folicular y los perfiles hormonales. *In: V Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. pp:152-172.*
- Viñoles, G. C., M. Forsberg, G. Banchemo, and E. Rubianes. 2002. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Animal Science* 74: 539-545.
- Webb, R., and D. G. Armstrong. 1998. Control of ovarian function; effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. *Livestock Production Science* 53: 95-112.
- Webb, R., I. R. Gauld, and M. A. Driancourt. 1989. Morphological and functional characterization of large antral follicles in three breeds of sheep with different ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 243-255.
- Webb, R., R. G. Gosden, E. E. Telfer, and R. M. Moor. 1999. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Animal Science* 68: 257-284.
- Wolfsdorf, K. E., T. Diaz, E. J. P. Schmitt, M. J. Thatcher, M. Drost, and W. W. Thatcher. 1997. The dominant follicle exerts an interovarian inhibition on FSH-induced follicular development. *Theriogenology* 48: 435-447.
- Yuan, M. Y., and R. Rajamahendran. 2000. Involvement of apoptosis in the atresia of nonovulatory dominant follicle during the bovine estrous cycle. *Biology of Reproduction* 63: 1313-1321.
- Zarazaga, L. A., B. Malpoux, and P. Chemineau. 2003. Amplitude of the plasma melatonin nycthemeral rhythms is not associated with the dates of onset

and offset of the seasonal ovulatory activity in the Ile de France ewe. *Reproduction Nutrition and Development* 43: 167-177.

Zięba, D. A., M. Murawski, T. Schwarz, and E. Wierchoś. 2002. Pattern of follicular development in high fecundity Olkuska ewes during the estrous cycle. *Reproductive Biology* 2: 39-58.

3 EVALUACIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE LA DINÁMICA FOLICULAR EN OVEJAS CRIOLLAS Y RIDEAU EN CLIMA TEMPLADO

3.1 Resumen

El objetivo fue caracterizar el desarrollo folicular en dos grupos genéticos ovinos. Durante un ciclo estral, los ovarios de 11 ovejas Criollas y 12 Rideau multíparas, fueron escaneados usando un ultrasonido adaptado con un transductor lineal de 7.5 MHz. Se evaluaron longitud del ciclo estral, duración del celo, diámetro del folículo preovulatorio más grande, tasa ovulatoria, características del cuerpo lúteo, población folicular, características de las ondas foliculares y duración de las fases de crecimiento, estática, y regresión del folículo dominante. Los datos se analizaron mediante GLM, MIXED, CORR y GENMOD de SAS conforme fue requerido. La longitud del ciclo estral fue similar ($p>0.05$); la duración del celo, diámetro del folículo preovulatorio más grande y tasa ovulatoria fueron diferentes ($p\leq 0.05$) entre razas; duración del celo estuvo correlacionada con tasa ovulatoria ($r=0.49$; $p\leq 0.05$). El diámetro del cuerpo lúteo a la primera detección, diámetro máximo y día que se visualizó por última vez fueron diferentes ($p\leq 0.05$); hubo efecto ($p\leq 0.05$) de raza y día del ciclo para diámetro del cuerpo lúteo. La población de folículos pequeños, medianos y grandes en cada onda fueron diferentes ($p\leq 0.05$) entre razas. El día de emergencia y diámetro folicular máximo fueron similares ($p>0.05$) entre, pero diferentes ($p\leq 0.05$) dentro de raza; el intervalo entre emergencia de las ondas 1 y 2, y 2 y 3 fueron similares ($p>0.05$); el diámetro del folículo dominante en cada onda fue diferente ($p\leq 0.05$) entre razas; así como la duración de las ondas 1 y 2 ($p\leq 0.05$). Las fases de crecimiento, estática y regresión del folículo dominante fueron similares ($p>0.05$) entre razas. En conclusión, el desarrollo folicular ocurre en similar número de ondas durante el ciclo estral en las razas estudiadas, siendo la población folicular y tasa ovulatoria superiores en la raza Rideau.

Palabras clave: desarrollo folicular, ultrasonografía, ovejas Rideau, ovejas Criollas.

ULTRASOUND EVALUATION OF FOLLICULAR DEVELOPMENT IN CREOLE AND RIDEAU EWES IN WARM WEATHER

3.2 Abstract

The objective was to characterize follicular development in two genetic sheep groups. During an oestrous cycle, the ovaries of 11 Creole and 12 Rideau multiparous ewes were scanned using an ultrasound device adapted with a 7.5 MHz linear transducer. Factors evaluated were oestrous cycle length, estrus duration, diameter of the largest preovulatory follicle, ovulation rate, characteristics of the corpus luteum, follicular population, characteristics of follicular waves and the duration of growth, static and regression phases of the dominant follicle. The data were analyzed using GLM, MIXED, CORR and GENMOD from SAS as was required. The length of the oestrous cycle was similar ($p>0.05$), but the duration of estrus, the diameter of the largest preovulatory follicle and the ovulation rate were different ($p\leq 0.05$) between breeds, estrus duration was correlated with ovulation rate ($r=0.49$, $p\leq 0.05$). The diameter of the corpus luteum at first detection, its maximum diameter and its diameter on the last day in which it was viewed were different ($p\leq 0.05$); the diameter of the corpus luteum was affected ($p\leq 0.05$) by breed and day of the cycle. The population of small, medium and large follicles in each wave was different ($p\leq 0.05$) between breeds. The day of emergence and maximum follicular diameter were similar ($p>0.05$) between breeds, but different ($p\leq 0.05$) within breed. The interval between emergence of waves 1 and 2, and 2 and 3 were similar ($p>0.05$); the diameter of dominant follicle in each wave differed ($p\leq 0.05$) between breeds, as did the duration of waves 1 and 2 ($p\leq 0.05$). The growth, static and regression phases of the dominant follicles were similar ($p>0.05$) between breeds. In conclusion, follicular development occurs in similar wave numbers during an oestrous cycle in the breeds studied, with follicular population and ovulation rate being superior in Rideau ewes.

Keywords: follicular development, ultrasonography, Rideau ewes, Creole ewes.

3.3 Introducción

El uso de la ultrasonografía en ovejas permite el seguimiento frecuente y repetido de los cambios en las estructuras a nivel ovárico, reduciendo el nivel de estrés comparado con métodos como la laparoscopia (Bartlewski *et al.*, 2006; Davies *et al.*, 2006). Al proceso de continuo crecimiento y regresión de los folículos antrales que conduce al desarrollo de los folículos preovulatorios, se le conoce como dinámica folicular. Una onda folicular es caracterizada por el crecimiento sincronizado de un grupo de folículos pequeños (2 a 3 mm de diámetro), de los cuales uno o un número específico para cada raza continúa su crecimiento hasta tamaño preovulatorio (5 a 7 mm), antes de que sufra regresión u ocurra la ovulación (Evans, 2003b; Duggavathi *et al.*, 2004).

En ovinos se han descrito de dos a cuatro ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral (Evans, 2003a; Ali *et al.*, 2006), con algunas excepciones se presentan cinco o seis ondas por ciclo (Ginther *et al.*, 1995; Leyva *et al.*, 1998). El conocimiento del desarrollo folicular es importante para el desarrollo de nuevas metodologías con el fin de manipular la reproducción en pequeños rumiantes (Gonzalez-Añoover *et al.*, 2007; Bartlewski *et al.*, 2008). El seguimiento diario de la dinámica folicular ha generado en los últimos años un rápido avance en el conocimiento de la fisiología ovárica, así como en la aplicación de nuevas técnicas reproductivas (Viñoles *et al.*, 2002; Bartlewski *et al.*, 2008).

En México la utilización de los recursos genéticos ovinos se basa principalmente en la raza Criolla, debido al mejor precio y comercialización de su carne; sin embargo, presenta baja prolificidad (Córdova *et al.*, 1999). Las ovejas Rideau son prolíficas (Bartlewski *et al.*, 2008); sin embargo, poco se conoce de su comportamiento en nuestro país. La información sobre aspectos de la dinámica folicular en estas razas es escasa para las condiciones de México, por lo que su conocimiento puede ser una herramienta valiosa para generar procedimientos de inseminación artificial y superovulación eficientes (Gonzalez-Añoover *et al.*, 2007). Por lo anterior, el objetivo del estudio fue

caracterizar y comparar el patrón de desarrollo folicular de ovejas raza Criolla y Rideau durante un ciclo estral mediante ultrasonografía.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Localización

Los procedimientos utilizados en el experimento fueron de conformidad con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales en la Investigación y Enseñanza Agrícola (FASS, 1999). El experimento se realizó en el módulo de Ovinos de la Universidad Autónoma Chapingo, localizada a 19° 29' Norte y 98° 53' Oeste, con una altura media sobre el nivel del mar de 2245 m. El clima del área de acuerdo con la clasificación climática de Köopen, modificada por García (1988), es C(Wo)(W)b(i")g, que es un clima templado subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 15 °C, siendo mayo el mes más caliente y enero el más frío; la precipitación pluvial media es 644.6 mm anuales.

3.4.2 Manejo y alimentación de los animales

Veinte ovejas Criollas y 20 Rideau clínicamente sanas y ciclando, las cuales se encontraban en la fase lútea del ciclo estral (día 5 a 14), se sincronizaron con 0.075 mg de prostaglandinas $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$, D-Cloprostenol, Sanfer). De las ovejas detectadas en celo, se utilizaron 11 Criollas y 12 Rideau, con peso vivo promedio de 32.1 ± 3.6 y 69.0 ± 7.3 kg y número de partos 2.6 ± 1.0 y 3.1 ± 1.0 . Durante el periodo experimental (septiembre a octubre de 2008), las ovejas permanecieron separadas por grupo racial en corrales independientes, para facilitar el manejo.

Las ovejas fueron alimentadas desde un mes antes y durante el periodo experimental con ensilado de maíz y un concentrado comercial conteniendo 17% PC y 2.75 Mcal de EM, para cubrir los requerimientos de mantenimiento (NRC, 1985) y se ofreció agua limpia *ad libitum*.

Los celos se detectaron con dos machos (Criollo y Rideau), asignado cada uno a su grupo genético, provistos de un mandil, por periodos de 25 min a intervalos de 12 h, iniciando 24 h después de la aplicación de la $\text{PGF}_{2\alpha}$. Para determinar la duración del ciclo estral, la detección de celos se inició el día 14, a partir del día de inicio del celo anterior.

3.4.3 Procedimiento ultrasonográfico

Las ovejas se revisaron una vez al día (06:30 a 09:00 h), con un equipo de ultrasonido (DP-2200Vet, Mindray, China) equipado con un transductor lineal de 7.5 MHz, sujetado a una guía rígida de plástico (0.5 cm de diámetro x 30 cm de largo), para ser manipulada externamente vía rectal, de acuerdo con la metodología descrita por Schrick *et al.* (1993) y Ravindra *et al.* (1994).

Mientras la oveja se mantiene de pie, el transductor se inserta vía rectal hasta que la vejiga y los cuernos uterinos se localizan y aparecen las imágenes en la pantalla, después el transductor se rota 45° en sentido y 90° en contra de las manecillas del reloj, así se sigue manipulando y avanzando lentamente. Cuando aparece un ovario en la pantalla del equipo, se congela la imagen para hacer las mediciones respectivas de las estructuras ováricas; posteriormente, se descongela la imagen y se hace lo mismo con las estructuras del otro ovario.

3.4.4 Variables analizadas

Las variables analizadas fueron la longitud del ciclo estral, duración del celo, diámetro del folículo preovulatorio más grande, tasa ovulatoria, características del cuerpo lúteo, población folicular, características de las ondas foliculares y la duración de las fases de crecimiento, estática y de regresión del folículo dominante.

Las definiciones siguientes se utilizaron para describir las variables analizadas. La longitud del ciclo estral es el periodo de tiempo transcurrido en días entre el inicio de dos celos consecutivos; los datos se compararon entre razas, también se realizó una comparación dentro de raza considerando el número de ondas.

La duración del celo es el periodo durante el cual la hembra permanece quieta y acepta ser montada por el macho; en este caso, se determinó la duración del celo natural. El diámetro del folículo preovulatorio más grande definido por su apariencia redonda y oscura en la superficie del ovario, se determinó a las 24 h de iniciado el celo.

La tasa ovulatoria se determinó con base en el número de cuerpos lúteos contados el día 9 del ciclo estral (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 1999). Se determinaron los diámetros y días a los que se detectaron por primera y última vez los cuerpos lúteos, y su diámetro máximo. Las poblaciones de folículos se contaron y clasificaron para cada onda con base en su tamaño en tres categorías, realizando una modificación a la clasificación propuesta por Ravindra y Rawlings (1997): pequeños (≤ 1.9 mm), medianos (2 a 3.4 mm) y grandes (≥ 3.5 mm); el número promedio de folículos de cada clase se comparó entre y dentro de razas.

Una onda folicular se considera cuando uno o más folículos ≥ 1 mm de diámetro comienzan su crecimiento sincronizado, hasta que uno alcanza su diámetro máximo. El día que los folículos fueron detectados por primera vez fue considerado el día de emergencia de la onda; se determinaron: 1) día de emergencia de las ondas; 2) diámetro máximo del folículo dominante de cada onda; 3) intervalo entre la emergencia de dos ondas consecutivas; 4) duración de la onda y 5) día del ciclo en que el folículo dominante alcanzó el diámetro máximo (Bartlewski *et al.*, 1999e). La evaluación preliminar de los datos reveló que 14 de 23 (60.1%) ovejas estudiadas tuvieron tres ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral.

La fase de crecimiento comprende del día en que el folículo tenía 1 mm y hasta que alcanzó el diámetro máximo. La fase estática abarca desde el último día de la fase de crecimiento hasta el primer día en que el folículo inicia a disminuir progresivamente en tamaño. La fase de regresión inicia en el último día de la fase estática y finaliza cuando el folículo alcanza 1 mm de diámetro (Evans *et al.*, 2000).

3.4.5 Análisis estadísticos

Los datos se analizaron con el paquete computacional SAS (2004). La longitud del ciclo estral, duración del celo, diámetro del folículo preovulatorio más grande, características del cuerpo lúteo, población folicular, características de las ondas foliculares y duración de las fases de crecimiento, estática y de regresión del folículo dominante se analizaron mediante el procedimiento GLM. Adicionalmente se analizó el efecto de día, raza y su interacción sobre el diámetro del cuerpo lúteo con el procedimiento MIXED para medidas repetidas. Las diferencias entre medias se compararon mediante la prueba de Tukey. Las correlaciones entre la duración del ciclo estral y el número de ondas de desarrollo folicular, y entre la tasa ovulatoria y la duración del estro se realizaron con el procedimiento CORR. La tasa ovulatoria se analizó mediante el procedimiento GENMOD.

3.5 Resultados y discusión

Los resultados del efecto de raza en la longitud del ciclo estral, duración del celo, diámetro del folículo preovulatorio más grande y tasa ovulatoria se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) del efecto de la raza ovina en la longitud del ciclo estral, duración del celo, diámetro del folículo preovulatorio más grande y tasa ovulatoria.

Variable	Raza	
	Criolla	Rideau
Longitud del ciclo estral (d)	17.5 $\pm$ 0.2 ^a	17.4 $\pm$ 0.2 ^a
Duración del celo (h)	26.2 $\pm$ 2.4 ^a	37.0 $\pm$ 2.9 ^b
Diámetro del folículo preovulatorio más grande (mm)	3.8 $\pm$ 0.2 ^a	5.3 $\pm$ 0.4 ^b
Tasa ovulatoria	1.0 $\pm$ 0.0 ^a	2.8 $\pm$ 0.7 ^b

^z Medias sin una letra en común, dentro de hilera, son diferentes ($p \leq 0.05$).

La longitud del ciclo estral fue similar ($p > 0.05$) entre ovejas Criollas y Rideau. Los resultados concuerdan con los reportados por Bartlewski *et al.* (1999a) de 17.0 $\pm$ 0.3 y 16.6 $\pm$ 0.2 días en ovejas Western White-face y Finnish Landrace, Zięba *et al.* (2002) de 16.75 $\pm$ 0.7 días en ovejas Olkuska, y Tabbaa *et al.* (2008)

de 17.8 ± 0.7 días en ovejas Awassi. Tabbaa *et al.* (2008) mencionan que los ciclos retornan a su regularidad normal durante agosto y septiembre, con un intervalo de 14 a 19 días. Lo anterior se pudo deber a que las ovejas habían comenzado a ciclar en forma continua, pues el experimento inició en septiembre y todas las ovejas habían mostrado celos previamente.

Al comparar ovejas Criollas con 3 y 4 ondas, la duración del ciclo fue diferente ($p \leq 0.05$; 17.3 ± 0.1 vs 18.3 ± 0.3 días), mientras que en ovejas Rideau con 2, 3 y 4 ondas (17.3 ± 0.1 , 17.5 ± 0.4 , y 17.8 ± 0.2 días), sólo ciclos con 2 y 4 ondas mostraron diferencias ($p \leq 0.05$). Las diferencias en la longitud del ciclo se pueden deber a la variabilidad en la vida media del cuerpo lúteo. En ovejas los resultados han sido variables, mientras Contreras-Solís *et al.* (2008) no encontraron efecto del número de ondas en la longitud del ciclo, Zięba *et al.* (2002) sí lo reportan. En vacas, los resultados han sido más consistentes encontrando efecto ($p < 0.05$) del número de ondas en la duración del ciclo estral (Ginther *et al.*, 1989; Savio *et al.*, 1993). Sin embargo, en el presente estudio la correlación entre la duración del ciclo estral y el número de ondas fue baja y no significativa ($r = 0.41$; $p > 0.05$).

La duración del celo fue superior ($p \leq 0.05$) en ovejas Rideau comparado con las Criollas. Se encontró una correlación ($r = 0.49$; $p \leq 0.05$) entre la tasa ovulatoria y la duración del celo. Lo anterior permite asociar conductas de estro más prolongadas con tasas ovulatorias altas y posiblemente también esté asociado con las características de los folículos preovulatorios. En este sentido, Quirke *et al.* (1981) mencionan que el incremento en la duración del celo es reflejo de un aumento en la capacidad estrogénica de los folículos preovulatorios. Bindon *et al.* (1979) reportaron una duración del estro de 52.7 ± 3.1 h en ovejas Romanov, la cual es superior a los valores encontrados en el presente estudio. Ovejas Ile de France presentan estros de valores intermedios 31.0 ± 2.9 h (Bindon *et al.*, 1979), mientras que Ergul y Ozcan (2006) publicaron que el estro en ovejas Kivircik tiene una duración de 19 ± 2.2 h, la cual es inferior a la encontrada en el presente estudio. Bindon *et al.* (1979) también encontraron una correlación

($r=0.23$; $p<0.05$) entre la tasa ovulatoria y la duración del estro; sin embargo, es inferior a la encontrada en el presente estudio. Los resultados indican que la duración del celo es afectado tanto por el número como por las características de los folículos preovulatorios.

El diámetro del folículo preovulatorio más grande fue superior ($p\leq 0.05$) en ovejas Rideau comparado con las Criollas. Resultados similares reportaron Román *et al.* (2008) ($p<0.01$) en ovejas Rideau y Criollas (5.2 ± 0.3 vs 3.4 ± 0.4 mm). Aparentemente el diámetro del folículo preovulatorio es una característica constante en estas razas. Sin embargo, los resultados no concuerdan con los encontrados por Driancourt *et al.* (1991) quienes reportan diámetros menores de los folículos preovulatorios en ovejas con alta tasa ovulatoria. En este sentido, Driancourt *et al.* (1990) indican que folículos de razas prolíficas alcanzan la madurez y por tanto la capacidad de ovular a un menor diámetro. El diámetro del folículo preovulatorio de las ovejas Rideau (5.3 ± 0.4 mm) se encuentra dentro de los valores de razas prolíficas reportados por Souza *et al.* (1997) en ovejas Booroola (5.6 ± 0.3 mm) y Bartlewski *et al.* (1999e) en Finnish Landrace (5.5 ± 0.2 mm). Sin embargo, el diámetro del folículo preovulatorio más grande en ovejas Criollas (3.8 ± 0.2 mm) es inferior al encontrado en otras razas no prolíficas como Ile de France (8.1 ± 0.7 mm; Driancourt *et al.*, 1986) y Muflón (6.5 ± 0.1 mm; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2001). La causa del menor diámetro del folículo preovulatorio en ovejas Criollas con respecto a Ile de France no se conoce, pero pudiera deberse a su mayor tamaño corporal (70 a 90 kg) comparado con las ovejas Criollas (32 kg), lo cual les puede permitir desarrollar folículos preovulatorios más grandes.

La tasa ovulatoria fue superior ($p\leq 0.05$) en ovejas Rideau comparado con las Criollas. Dicha característica en ovejas monovulatorias está limitada por una alta incidencia de atresia y menor reclutamiento de folículos que entran a la población en crecimiento (Evans, 2003b; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004; Cueto *et al.*, 2006). La tasa ovulatoria en ovejas Rideau es similar a la reportada por Bartlewski *et al.* (1999e) en ovejas Finnish Landrace (2.7 ± 0.2), mientras que la

de ovejas Criollas es similar a la indicada por Driancourt *et al.* (1986) en Ile de France (1.1 ± 0.3) y Gonzalez-Bulnes *et al.* (2001) en ovejas Muflón (1.0 ± 0.0). Previamente, Román *et al.* (2008) encontraron mayor ($p < 0.05$) tasa ovulatoria en ovejas Rideau que en las Criollas (2.75 ± 0.7 vs 1.04 ± 0.21), confirmando su alta tasa ovulatoria y prolificidad (Bartlewski *et al.*, 2008).

Las características del cuerpo lúteo son mostradas en el Cuadro 4. El diámetro del cuerpo lúteo a la primera detección, su diámetro máximo y día en que se visualizó por última vez fueron diferentes ($p \leq 0.05$) entre razas. El cuerpo lúteo se puede detectar con precisión a partir del día tres del ciclo estral, similar a lo publicado por Ravindra *et al.* (1994); lo anterior debido a que inmediatamente después de la ovulación, el crecimiento y desarrollo del cuerpo lúteo es extremadamente rápido (Robinson *et al.*, 2005).

El tamaño del cuerpo lúteo está relacionado con el diámetro del folículo que le da origen (Bartlewski *et al.*, 1999e; Davies *et al.*, 2006); cuerpos lúteos de menor tamaño en ovejas Criollas también tuvieron folículos preovulatorios de menor tamaño, comparado con las ovejas Rideau. En este sentido, cuerpos lúteos de mayor tamaño han sido relacionados con incrementos en la concentración plasmática de progesterona y bajas concentraciones de progesterona, con reducida fertilidad o incremento en la pérdida de preñeces (Davies *et al.* 2006; Petit y Twagiramungu, 2006).

La concentración de progesterona es diferente entre razas prolíficas y no prolíficas (Quirke *et al.*, 1979; Cahill *et al.*, 1981). Sin embargo, Bartlewski *et al.* (1999d) encontraron mayores ($p < 0.05$) concentraciones de progesterona del día 4 al 14 del ciclo estral, mayor diámetro máximo del cuerpo lúteo ($p < 0.05$) en ovejas Western White-face comparativamente con las ovejas Finnish Landrace, no obstante la tasa ovulatoria superior ($p < 0.05$) en ovejas Finnish Landrace. Las diferencias pudieran deberse a una mayor capacidad de las ovejas Western White-face para sintetizar progesterona (Bartlewski *et al.*, 1999a).

Cuadro 4. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) para las características del cuerpo lúteo de ovejas Criollas y Rideau determinadas mediante ultrasonografía.

Variable	Raza	
	Criolla	Rideau
Día a la primera detección	3.8 $\pm$ 0.16 ^a	3.4 $\pm$ 0.21 ^a
Diámetro a la primera detección (mm)	3.5 $\pm$ 0.10 ^a	3.9 $\pm$ 0.13 ^b
Día de diámetro máximo	8.3 $\pm$ 0.17 ^a	8.4 $\pm$ 0.23 ^a
Diámetro máximo (mm)	6.1 $\pm$ 0.13 ^a	8.4 $\pm$ 0.18 ^b
Día a última observación	13.8 $\pm$ 0.14 ^a	14.8 $\pm$ 0.20 ^b
Diámetro a la última observación (mm)	3.3 $\pm$ 0.10 ^a	3.4 $\pm$ 0.14 ^a

^z Medias sin una letra en común, dentro de hilera, son diferentes ($p \leq 0.05$).

El diámetro del cuerpo lúteo fue afectado por la raza ($p \leq 0.05$) y el día del ciclo estral ($p \leq 0.05$), el cual fue superior en ovejas Rideau comparativamente con las Criollas durante todo el periodo de observación (Figura 4). El diámetro del cuerpo lúteo cambió de un día a otro en ambas razas, similar a lo publicado por Bartlewski *et al.* (1999a).

El número promedio de folículos por clase para ambas razas se muestra en el Cuadro 5. El número de folículos pequeños, medianos y grandes fue superior ($p \leq 0.05$) en las ovejas Rideau comparado con las Criollas en cada una de las ondas. Al comparar el número de folículos por clase dentro de raza, la Rideau tuvo más ($p \leq 0.05$) folículos pequeños en la onda 1 que en la 3, el número de folículos medianos se mantuvo constante ($p > 0.05$) en las tres ondas, mientras que hubo más ($p \leq 0.05$) folículos grandes en la onda 3 comparado con las ondas 1 y 2. En ovejas Criollas, el número de folículos pequeños y medianos se mantuvo constante ($p > 0.05$) en las 3 ondas, mientras que el número de folículos grandes fue superior ($p \leq 0.05$) en la onda 3 comparado con las ondas 1 y 2. Las diferencias en el número de folículos pueden estar relacionadas con la mayor tasa ovulatoria en las ovejas Rideau. Lahlou-Kassi y Mariana (1984) encontraron que la alta tasa ovulatoria en ovejas D'Man comparado con Timahdite estuvo relacionada con un mayor número de folículos > 2 mm. Cahill *et al.* (1979) observaron que las ovejas Romanov contenían de 1.5 a 2 veces más folículos grandes comparado con ovejas Ile de France, las cuales tienen

una tasa ovulatoria menor; lo anterior es similar a lo encontrado en el presente estudio.

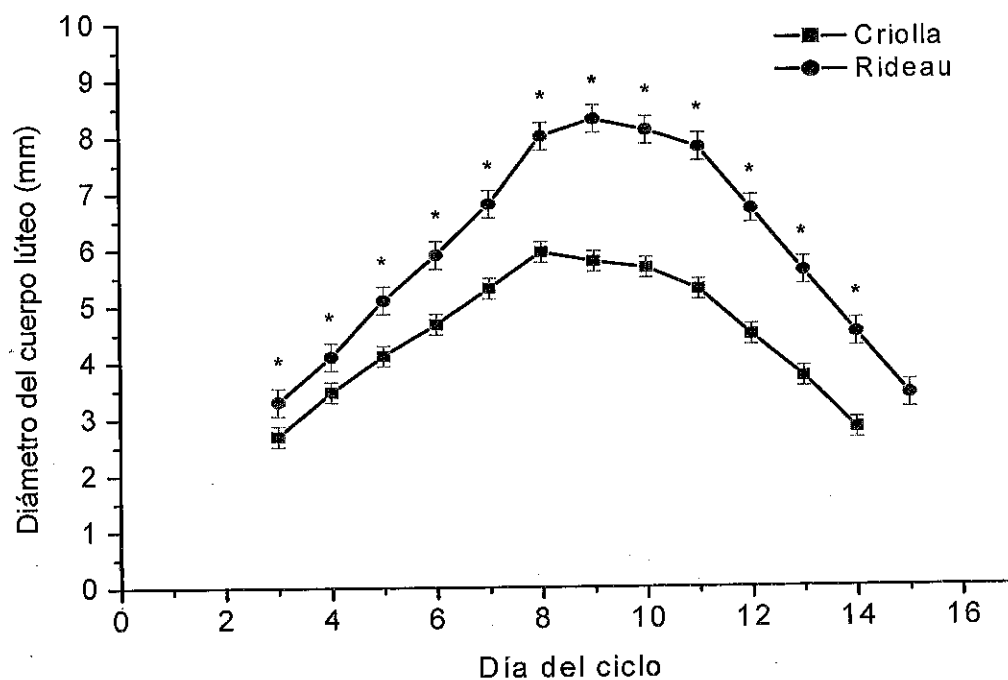


Figura 4. Diámetro del cuerpo lúteo determinado mediante ultrasonografía en ovejas Criollas (○) y Rideau (●) durante un ciclo estral. El asterisco (*) indica diferencias entre razas ($p \leq 0.05$).

Cuadro 5. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) para la población folicular por clase en ovejas Criollas y Rideau determinada mediante ultrasonografía.

Clase de folículos	Onda 1		Onda 2		Onda 3	
	Criolla	Rideau	Criolla	Rideau	Criolla	Rideau
Pequeños (≤ 1.9 mm)	2.50 $\pm$ 0.08 ^{ax}	4.00 $\pm$ 0.10 ^{bx}	2.60 $\pm$ 0.11 ^{ax}	3.80 $\pm$ 0.15 ^{bxy}	2.40 $\pm$ 0.14 ^{ax}	3.20 $\pm$ 0.19 ^{by}
Medianos (2-3.4 mm)	0.70 $\pm$ 0.09 ^{ax}	1.50 $\pm$ 0.12 ^{bx}	0.90 $\pm$ 0.15 ^{ax}	1.80 $\pm$ 0.21 ^{bx}	0.90 $\pm$ 0.09 ^{ax}	2.10 $\pm$ 0.12 ^{bx}
Grandes (≥ 3.5 mm)	0.20 $\pm$ 0.03 ^{ax}	0.60 $\pm$ 0.05 ^{bx}	0.04 $\pm$ 0.03 ^{ay}	0.40 $\pm$ 0.04 ^{bx}	0.50 $\pm$ 0.09 ^{az}	1.10 $\pm$ 0.12 ^{by}

^{a, b} Medias sin una letra en común, dentro de hilera y onda, son diferentes ($p \leq 0.05$).

^{x, y, z} Medias sin una letra en común, dentro de hilera, raza y diferente onda, son diferentes ($p \leq 0.05$).

El número promedio de ondas por ciclo fue similar ($p>0.05$) entre ovejas Criollas y Rideau (3.2 ± 0.4 vs 3.3 ± 0.8). En ovejas Criollas, 81.8% (9/11) presentaron tres ondas foliculares y 18.2% (2/11) cuatro ondas por ciclo. Mientras que en las ovejas Rideau, 16.6% (2/12) tuvieron dos, 41.7% (5/12) tres, y 41.7% (5/12) cuatro ondas por ciclo. Los resultados en la raza Criolla son similares a los publicados por Ali *et al.* (2006) quienes encontraron 2 y 3 ondas de desarrollo folicular en ovejas Ossimi, y en el 65% de los ciclos se presentaron 3 ondas. Mientras Zięba *et al.* (2002) en ovejas Olkuska reportaron 3, 4 y 5 ondas de desarrollo folicular, siendo más común el patrón de 4 ondas en el 67% de los ciclos. En el presente estudio, los resultados en la raza Rideau no muestran un patrón dominante. Las diferencias en el patrón de desarrollo folicular pueden ser modificadas por factores como la raza (prolificidad), el ambiente y el manejo (Bartlewski *et al.*, 1998).

Los factores que determinan la ocurrencia de 2 ó 3 ondas de desarrollo folicular en vaquillas son desconocidos (Ginther *et al.*, 1989). Sin embargo, en cabras altos niveles de progesterona inmediatamente después de la ovulación afectan el periodo de dominancia del folículo dominante de la primera onda, induciendo la regresión temprana de éste y acelerando la emergencia de la segunda onda (Menchaca y Rubianes 2002), por lo cual la progesterona podría ser un factor de diferenciación en el número de ondas foliculares en un ciclo estral.

Los resultados de la dinámica folicular de ovejas que presentaron tres ondas foliculares se muestran en el Cuadro 6, y en la Figura 5 se presenta el perfil de crecimiento del folículo dominante de cada una de las ondas. Los días de emergencia de las ondas 1, 2 y 3 fueron similares ($p>0.05$) entre razas; sin embargo, dentro de raza fueron diferentes ($p\leq0.05$). En ovejas West African las ondas emergen los días 1.1, 6.3 y 10.7 (Contreras-Solís *et al.*, 2008), y en Suffolk los días 1.6, 7.6 y 14 para las ondas 1, 2 y 3, respectivamente (Nöel *et al.*, 1993). Las diferencias son difíciles de explicar, sin embargo; Gonzalez-Bulnes *et al.* (2005) mencionan que el número de ondas y el día de emergencia de éstas son variables e impredecibles entre animales, aunque la emergencia

de las ondas sucesivas en ovejas únicamente ocurre después de que el folículo dominante de la onda previa ha detenido su crecimiento (Evans *et al.*, 2000).

Cuadro 6. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ EEM) para las características de la dinámica folicular en ovejas Criollas y Rideau con tres ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral.

Variable	Raza	
	Criolla	Rideau
<i>Onda 1</i>		
Día de emergencia	0.9 $\pm$ 0.2 ^{ax}	0.9 $\pm$ 0.2 ^{ax}
Diámetro del folículo dominante (mm)	3.6 $\pm$ 0.2 ^{ax}	5.1 $\pm$ 0.1 ^{bx}
Día del diámetro máximo	4.8 $\pm$ 0.4 ^{ax}	5.2 $\pm$ 0.5 ^{ax}
Duración de la onda (días)	7.6 $\pm$ 0.5 ^{ax}	8.8 $\pm$ 0.5 ^{bx}
<i>Onda 2</i>		
Día de emergencia	7.5 $\pm$ 0.4 ^{ay}	7.0 $\pm$ 0.4 ^{ay}
Diámetro del folículo dominante (mm)	3.1 $\pm$ 0.2 ^{ay}	4.3 $\pm$ 0.3 ^{by}
Intervalo entre emergencia ondas 1 y 2 (días)	6.6 $\pm$ 0.4 ^{ax}	6.1 $\pm$ 0.4 ^{ax}
Día del diámetro máximo	11.2 $\pm$ 0.4 ^{ay}	10.6 $\pm$ 0.6 ^{ay}
Duración de la onda (días)	6.4 $\pm$ 0.5 ^{ay}	7.6 $\pm$ 0.6 ^{by}
<i>Onda 3</i>		
Día de emergencia	12.2 $\pm$ 0.7 ^{az}	12.1 $\pm$ 0.7 ^{az}
Diámetro del folículo dominante (mm)	3.8 $\pm$ 0.2 ^{ax}	5.4 $\pm$ 0.1 ^{bx}
Intervalo entre emergencia ondas 2 y 3 (días)	4.7 $\pm$ 0.6 ^{ay}	5.1 $\pm$ 0.9 ^{ay}
Día del diámetro máximo	16.4 $\pm$ 0.5 ^{az}	16.3 $\pm$ 0.5 ^{az}
Duración de la onda (días)	5.7 $\pm$ 0.6 ^{az}	5.6 $\pm$ 0.4 ^{az}

^{a,b} Medias sin una letra en común, dentro de hilera, son diferentes ($p \leq 0.05$).

^{x,y,z} Medias sin una letra en común, dentro de columna, son diferentes ($p \leq 0.05$).

Los diámetros de los folículos dominantes de las ondas 1, 2 y 3 fueron mayores ($p \leq 0.05$) en ovejas Rideau comparado con las Criollas. Al comparar dentro de raza, el diámetro del folículo de la onda 1 y 3 fueron similares ($p > 0.05$), pero superiores ($p \leq 0.05$) al folículo dominante de la onda 2, en ambas razas. Los resultados son similares a los reportados por Viñoles *et al.* (2002), quienes encontraron que el diámetro del folículo dominante de la onda 1 (6.0 $\pm$ 0.2 mm) y 3 (6.1 $\pm$ 0.4 mm) fueron similares ($p > 0.05$), pero superiores ($p < 0.05$) al folículo dominante de la onda 2 (5.1 $\pm$ 0.2 mm). Los resultados sugieren una probable acción negativa de la progesterona en el crecimiento folicular durante el ciclo estral (Jonhson *et al.*, 1996; Rubianes *et al.*, 1996; Simões *et al.*, 2006). En concordancia, Savio *et al.* (1993) concluyeron que el crecimiento folicular durante el ciclo estral es regulado principalmente por la progesterona. El mayor

diámetro del folículo dominante de la primera onda se debe a las bajas concentraciones de progesterona secretadas por el cuerpo lúteo en formación, el cual no ejerce una retroalimentación negativa en el eje hipotálamo-hipofisario y se establece la liberación de LH, favoreciendo el crecimiento folicular (Leyva *et al.*, 1998; Amorim *et al.*, 2007). El menor diámetro del folículo dominante de la segunda onda puede ser debido al efecto negativo ejercido por las altas concentraciones de progesterona producidas por el cuerpo lúteo que inhiben la liberación de LH. El surgimiento de la tercera onda coincide con una reducción en la producción de progesterona por el cuerpo lúteo aumentando la secreción de LH, seguida de un rápido crecimiento folicular y la ovulación.

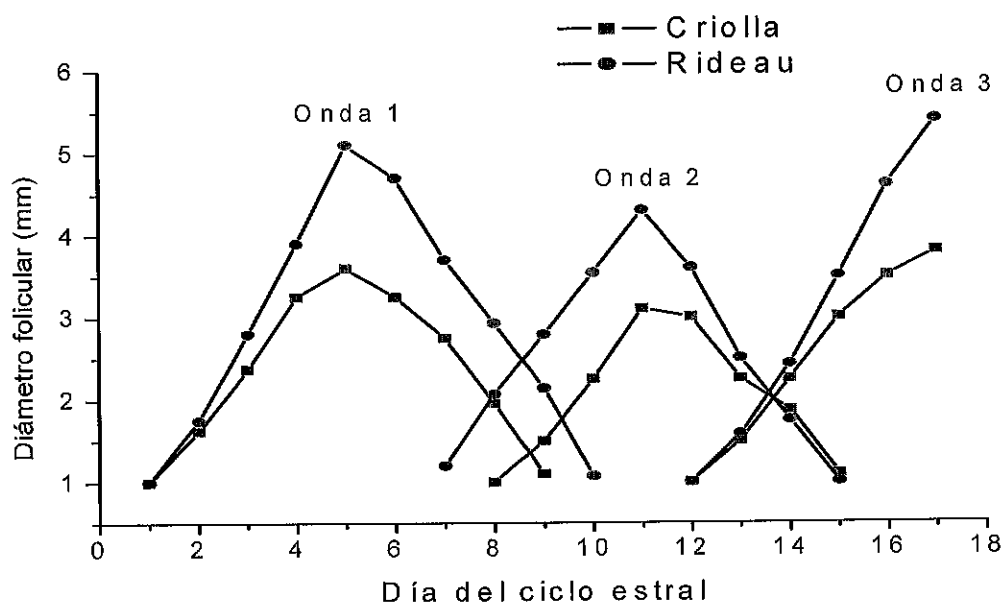


Figura 5. Perfil de crecimiento del folículo dominante para las ondas 1, 2 y 3 en ovejas Criollas y Rideau durante un ciclo estral.

El intervalo entre la emergencia de las ondas 1 y 2, así como 2 y 3 fueron similares ($p > 0.05$) entre las ovejas Criollas y Rideau. Sin embargo, al comparar dentro de raza, el intervalo entre la emergencia de las ondas 1 y 2 fue superior ($p \leq 0.05$) a las ondas 2 y 3, en ambas razas. Los resultados concuerdan con los obtenidos por Viñoles *et al.* (2002) en ovejas Polwarth, quienes encontraron

diferencia ($p < 0.05$) para el intervalo entre la emergencia de las ondas 1 y 2, y 2 y 3 (5.8 ± 0.4 vs 4.8 ± 0.4 días). Las diferencias entre ondas en el cambio de velocidades del crecimiento folicular pueden estar relacionadas con los diferentes ambientes endocrinos que ocurren durante el ciclo estral (De Castro *et al.*, 1999). En vacas (Adams *et al.*, 1992) y cabras (Menchaca y Rubianes, 2002), concentraciones supraluteales de progesterona al inicio del ciclo estral acortan el momento de la emergencia de la siguiente onda de desarrollo folicular.

El día en que los folículos dominantes de las ondas 1, 2 y 3 alcanzaron el diámetro máximo fueron similares ($p > 0.05$) entre ovejas Criollas y Rideau. Sin embargo, al comparar dentro de raza éstos fueron diferentes ($p \leq 0.05$). Los resultados concuerdan con los publicados por Ali *et al.* (2006) quienes encontraron que el día del ciclo en que el folículo dominante alcanzó el diámetro máximo fue diferente ($p < 0.05$), para el folículo dominante de la onda 1 (3.9), 2 (10.9) y 3 (16.3).

La duración media de la onda 1 y 2 fue superior ($p \leq 0.05$) en las ovejas Rideau comparado con las Criollas, mientras que la duración de la onda 3 fue similar ($p > 0.05$). Al comparar la duración de las ondas dentro de raza, la duración de la onda 1 fue superior ($p < 0.01$) a la 2 y 3, en ambas razas. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Contreras-Solís *et al.* (2008), quienes estimaron una duración media de 6.9 ± 0.3 y 5.7 ± 0.4 días para la onda 1 y 2, en ovejas West African. La mayor vida media de la onda 1 del ciclo ha sido asociada con una mayor duración de la fase estática del folículo dominante (Bartlewski *et al.*, 1999b; Bartlewski *et al.*, 1999c). En este respecto, Viñoles *et al.* (1999) reportaron que el incremento en la frecuencia de pulsos de LH causado por una disminución en la concentración de progesterona prolongó la vida media del folículo más grande de la primera onda. La mayor vida media de la onda en ovejas Rideau comparado con las Criollas se pudo deber al mayor diámetro de su folículo dominante (5.1 ± 0.1 mm vs 3.6 ± 0.2 mm), el cual requirió más tiempo para alcanzar dicho diámetro. Bartlewski *et al.* (1999d) y

Duggavathi *et al.* (2003) mencionan que la fase estática de los folículos en crecimiento durante la parte temprana del ciclo se extienden debido a la ausencia de un cuerpo lúteo funcional, comparado con los folículos en crecimiento durante la fase lútea media que tienen una fase estática más corta, debido a la disminución en el soporte gonadotrópico causada por la dominancia de la progesterona.

En general, los resultados para las fases de crecimiento (3.1 ± 0.07 vs 3.0 ± 0.05 días), la estática (1.5 ± 0.14 vs 1.2 ± 0.10 días) y de regresión (3.3 ± 0.13 vs 3.0 ± 0.09 días) fueron similares ($p > 0.05$) entre las razas Rideau y Criolla. Evans *et al.* (2000) encontraron resultados similares para las fases de crecimiento (3.3 días) y regresión (2.7 días) en ovejas cruza Suffolk-Texel. Mientras, Uribe-Velásquez *et al.* (2002) encontraron resultados similares en la duración de la fase estática en ovejas Bergamascia tratadas o no con CIDR, conteniendo 0.9 g de progesterona (1.57 ± 0.2 vs 1.29 ± 0.18 días). En este sentido, Viñoles y Rubianes (1998) después de inducir la luteólisis en ovejas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ el día 5 ó 9 del ciclo estral, observaron que el folículo dominante de la onda 1 se convertía en el folículo preovulatorio si se encontraba en fase de crecimiento o estática al momento de la luteólisis, en cambio si éste se encontraba en fase de regresión, el folículo dominante de la onda 2 se convertía en el folículo preovulatorio.

3.6 Conclusión

Durante el ciclo estral de las ovejas Criollas y Rideau ocurre similar número de ondas de desarrollo folicular; sin embargo, las ovejas Rideau desarrollan mayor número de folículos que alcanzan el tamaño preovulatorio durante el ciclo estral y mayor población folicular, la cual puede determinar su alta tasa ovulatoria.

3.7 Literatura citada

Adams, G. P., R. L. Matteri, and O. G. Ginther. 1992. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 95: 627-640.

- Ali, A., R. Derar, and H. Hussein. 2006. Seasonal variation of the ovarian follicular dynamics and luteal functions of sheep in the subtropics. *Theriogenology* 66: 463-469.
- Amorim, E. A. M., C. A. A. Torres, L. S. Amorim, J. F. Fonseca, J. H. Bruschi, J. D. Guimarães, G. R. Carvalho, N. G. Alves, and P. R. Cecon. 2007. Dinâmica folicular em cabras da raça Toggenburg em lactação tratadas ou não com somatotropina bovina recombinante. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 59: 1500-1508.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 2006. Ultrasonographic study of antral follicle development during sexual maturation in ewe lambs. *Small Ruminant Research* 63: 189-198.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1999a. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52: 115-130.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, S. J. Cook, and N. C. Rawlings. 1998. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 113: 275-285.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1999b. Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. *Animal Reproduction Science* 57: 67-88.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1999c. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Animal Reproduction Science* 57: 51-66.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1999d. The relationship between vaginal mucous impedance and serum concentrations of estradiol and progesterone throughout the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 51: 813-827.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, S. J. Cook, R. K. Chandolia, A. Honaramooz, and N. C. Rawlings. 1999e. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the estrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility* 115: 111-124.
- Bartlewski, P. M., B. D. Alexander, and W. A. King. 2008. Ovarian and endocrine determinants of superovulatory response in anoestrus ewes. *Small Ruminant Research* 75: 210-216.
- Bindon, B. M., M. R. Blanc, J. Pelletier, M. Terqui, and J. Thimonier. 1979. Periovulatory gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of

- breeds with differing fecundity. *Journal of Reproduction and Fertility* 55: 15-25.
- Cahill, L. P., J. C. Mariana, and P. Mauleón. 1979. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility* 55: 27-36.
- Cahill, L. P., J. Saumande, J. P. Ravault, M. Blanc, J. Thimonier, J. C. Mariana, and P. Mauleón. 1981. Hormonal and follicular relationships in ewes of high and low ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility* 62: 141-150.
- Contreras-Solis, I., T. Diaz, G. Lopez, A. Caigua, A. Lopez-Sebastian, and A. Gonzalez-Bulnes. 2008. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. *Animal Reproduction Science* 104: 47-55.
- Córdova, I. A., G. Ruiz L., J. Saltijeral O., J. F. Pérez G., y T. Degefa D. 1999. Inducción y sincronización de celos en ovejas Criollas anéstricas estacionales con esponjas vaginales impregnadas en FGA y PMSG inyectable. *Archivos de Zootecnia* 48: 437-440.
- Cueto, M., A. Gibbons, R. Alberio, H. Taddeo, and A. Gonzalez-Bulnes. 2006. Timing of emergence of ovulatory follicles in polyovulatory goats. *Animal Reproduction Science* 91: 275-284.
- Davies, K. L., P. M. Bartlewski, R. A. Pierson, and N. C. Rawlings. 2006. Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: a comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. *Animal Reproduction Science* 96: 165-175.
- De Castro, T., E. Rubianes, A. Menchaca, and A. Rivero. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 52: 399-411.
- Driancourt, M. A., F. Castonguay, B. M. Bindon, L. R. Piper, J. F. Quirke, and J. P. Hanrahan. 1990. Ovarian follicular dynamics in lines of sheep (Finnish Landrace, Merinos) selected on ovulation rate. *Journal of Animal Science* 68: 2034-2041.
- Driancourt, M. A., I. K. Gauld, M. Terqui, and R. Webb. 1986. Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 78: 565-575.
- Driancourt, M. A., R. Webb, and R. C. Fry. 1991. Does follicular dominance occur in ewes? *Journal of Reproduction and Fertility* 93: 63-70.

- Duggavathi, R., P. M. Bartlewski, D. M. W. Barret, and N. C. Rawlings. 2003. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology* 60: 495-510.
- Duggavathi, R., P. M. Bartlewski, D. M. W. Barret, and N. C. Rawlings. 2004. The temporal relationship between patterns of LH and FSH secretion, and development of ovulatory-sized follicles during the mid- to late-luteal phase of sheep. *Theriogenology* 64: 393-407.
- Ergul, E. E., and M. Ozcan. 2006. Sexual behavior and hormone levels of Kivircik ewes after estrus synchronization during and out of the breeding season. *Archiv Fur Tierzucht Dummerstorf* 49: 583-592.
- Evans, A. C. O. 2003a. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals* 38: 240-246.
- Evans, A. C. O. 2003b. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal Reproduction Science* 78: 289-306.
- Evans, A. C. O., P. Duffy, N. Hynes, and M. P. Boland. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 53: 699-715.
- FASS, 1999. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. Federation of Animal Science Societies, Savoy, IL.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía. UNAM. México. 217 p.
- Ginther, O. J., K. Kot, and M. C. Wiltbank. 1995. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43: 689-703.
- Ginther, O. J., L. Knopf, and J. P. Kastelic. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 223-230.
- Gonzalez-Añover, P., T. Encinas, A. Veiga-Lopez, I. Ammoun, I. Contreras, J. M. Ros, C. Ariznavarreta, J. A. F. Tresguerres, and A. Gonzalez-Bulnes. 2007. Effects of breed on follicular dynamics and oestradiol secretion during the follicular phase in sheep. *Reproduction in Domestic Animals* 42: 29-33.
- Gonzalez-Bulnes, A., C. Díaz-Delfa, R. M. Garcia-Garcia, B. Urrutia, J. A. Carrizosa, and A. Lopez-Sebastian. 2005. Origin and fate of preovulatory

- follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the oestrus cycle in goats. *Animal Reproduction Science* 86: 237-245.
- Gonzalez-Bulnes, A., C. J. H. Souza, B. K. Campbell, and D. T. Baird. 2004. Effect of ageing on hormone secretion and follicular dynamics in sheep with and without the Booroola gene. *Endocrinology* 145: 2858-2864.
- Gonzalez-Bulnes, A., J. Santiago-Moreno, R. M. Garcia-Garcia, A. del Campo, A. Gómez-Brunet, and A. Lopez-Sebastian. 2001. Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrus cycle. *Animal Reproduction Science* 65: 265-272.
- Gonzalez-Bulnes, A., K. Osoro, and A. Lopez-Sebastian. 1999. Ultrasonographic assessment of the ovarian response in eCG-treated goats. *Small Ruminant Research* 34: 65-69.
- Jonhson, S. K., R. A. Dailey, E. K. Inskeep, and P. E. Lewis. 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 13: 69-79.
- Lahlou-Kassi, A., and J. C. Mariana. 1984. Ovarian follicular growth during the estrous cycle in two breeds of ewes of different ovulation rate, the D'Man and Timahdite. *Journal of Reproduction and Fertility* 72: 301-310.
- Leyva, V., B. C. Buckrell, and J. S. Walton. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50: 395-416.
- Menchaca, A., and E. Rubianes. 2002. Relation between progesterone concentrations during early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology* 57: 1411-1419.
- Nöel, B., J. L. Bister, and R. Paquay. 1993. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *Journal of Reproduction and Fertility* 99: 695-700.
- NRC. 1985. *Nutrient Requirements of Sheep* (6th Ed.). The National Academic Press. Washington, D. C. 99 p.
- Petit, H. V., and H. Twagiramungu. 2006. Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. *Theriogenology* 66: 1316-1324.
- Quirke, J. F., J. P. Hanrahan, and J. P. Gosling. 1981. Duration of oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total oestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lambs. *Journal of Reproduction and Fertility* 61: 265-272.

- Quirke, J. F., J. P. Hanrahan, and J. P. Gosling. 1979. Plasma progesterone levels throughout the oestrus cycle and release of LH at oestrus in sheep with different ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility* 55: 37-44.
- Ravindra, J. P., N. C. Rawlings, A. C. O. Evans, and G. P. Adams. 1994. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the estrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 501-509.
- Ravindra, J. P., and N. C. Rawlings. 1997. Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anoestrus to the breeding season. *Journal of Reproduction and Fertility* 110: 279-289.
- Robinson, R. S., A. J. Hammond, M. G. Hunter, and G. E. Mann. 2005. The induction of a delayed post-ovulatory progesterone rise in dairy cows: a novel model. *Domestic Animal Endocrinology* 28: 285-295.
- Román, E. R., M. R. Santos C., R. Rangel S., R. Rodríguez D. L., J. Ayala O., C. Apodaca S., y C. Sánchez D. R. 2008. Número y tamaño de folículos preovulatorios en ovejas con celo inducido. *In: XVIII Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos*. 2 y 3 de octubre. Mexicali, Baja California, México. pp: 302-305.
- Rubianes, E., T de Castro, and B. Carbajal. 1996. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominante follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Canadian Journal of Animal Science* 76: 473-475.
- SAS. 2004. SAS/STAT User's guid. (Release 9.1) SAS Publishing, Cary (NC). 1-7: 5180.
- Savio, J. D., W. W. Thatcher, L. Badinga, R. L. de la Sota, and D. Wolfenson. 1993. Regulation of dominant follicle turnover during the estrous cycle in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 197-203.
- Schrick, F. N., R. A. Surface, J. Y. Pritchard, R. A. Dailey, E. C. Townsend, and E. K. Inskeep. 1993. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biology of Reproduction* 49: 1133-1140.
- Simões, J., J. C. Almeida, R. Valentim, G. Baril, J. Azevedo, P. Fontes, and R. Mascarenhas. 2006. Follicular dynamics in Serrana goats. *Animal Reproduction Science* 95: 16-26.
- Souza, C. J. H., B. K. Campbell, R. Webb, and D. T. Baird. 1997. Secretion of inhibin A and follicular dynamics throughout the estrous cycle in the sheep with and without the Booroola gene (*FecB*). *Endocrinology* 138: 5333-5340.

- Tabbaa, M. J., M. A. Alnimer, M. Shboul, and H. H. Titi. 2008. Reproductive characteristics of Awassi ewes mated artificially or naturally to Jordanian or Syrian Awassi rams. *Animal Reproduction* 5: 23-29.
- Uribe-Velázquez, L. F., C. E. L. Oba, M. I. Lara-Herrera, H. Lenz, S. Villa-Velázquez, L. T. Aparecida, and C. A. F de Carvalho. 2002. Respostas endócrinas e ovarianas associadas com o folículo dominante da primeira onda foliculáe em ovelhas sincronizadas com CIDR ou PGF2 α . *Revista Brasileira de Zootecnia* 31: 944-953.
- Viñoles, G. C., A. Meikle, M. Forsberg, and E. Rubianes. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351-1361.
- Viñoles, C., and E. Rubianes. 1998. Origin of the preovulatory follicle after induced luteolysis during the early luteal phase in ewes. *Canadian Journal of Animal Science* 78: 429-431.
- Viñoles, G. C., M. Forsberg, G. Banchero, and E. Rubianes. 2002. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Animal Science* 74: 539-545.
- Zięba, D. A., M. Murawski, T. Schwarz, and E. Wierchoś. 2002. Pattern of follicular development in high fecundity Olkuska ewes during the estrous cycle. *Reproductive Biology* 2: 39-58.