

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia
Programa de Maestría en Producción Animal

**INSEMINACIÓN ARTIFICIAL INTRAUTERINA CON SEMEN
FRESCO EN OVEJAS PRIMÍPARAS (F1) DORPER-PELIBUEY**

**TESIS QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL

PRESENTA:

GERARDO JARAMILLO ESCUTIA



DIRECCION ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Septiembre del 2002

Chapingo, Estado de México.

Bib. 97896

**INSEMINACIÓN ARTIFICIAL INTRAUTERINA CON SEMEN FRESCO EN
OVEJAS PRIMÍPARAS (F1) DORPER-PELIBUEY**

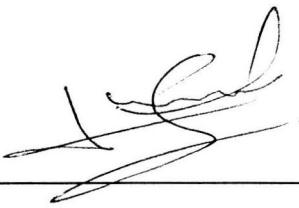
El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de Gerardo Jaramillo Escutia autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Producción Animal estuvo constituido por:

PRESIDENTE: RAYMUNDO RANGEL S.

Ph. D. Raymundo Rangel Santos

ASESOR: 

Ph. D. Rodolfo Ramírez Valverde

ASESOR: 

Ph. D. Maximino Huerta Bravo

A-40 045

**INSEMINACIÓN ARTIFICIAL INTRAUTERINA CON SEMEN FRESCO EN
OVEJAS PRIMÍPARAS (F1) DORPER-PELIBUEY**

Tesis realizada por Gerardo Jaramillo Escutia 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 PRODUCCIÓN ANIMAL

DIRECTOR:  _____

Ph. D. Raymundo Rangel Santos

ASESOR:  _____

Ph. D. Rodolfo Ramírez Valverde

ASESOR:  _____

Ph. D. Maximino Huerta Bravo

DEDICATORIA

- A mis padres con mi más sincero agradecimiento.
- A mis hijos Martha Geraldine y Alejandro quienes representaron el motivo de mi superación.
- A mis hermanos.
- A la familia Méndez Villalobos por su gran ayuda para la realización de este trabajo.
- A Lupita por su gran cariño y apoyo para la culminación de esta obra.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Autónoma Chapingo y al Departamento de Zootecnia por darme la oportunidad de estudiar en su programa de Maestría.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado para la realización de mis estudios de Maestría.
- Al Ph. D. Raymundo Rangel Santos por su apoyo en la dirección y realización de esta obra.
- Al Ph. D. Rodolfo Ramírez Valverde por su apoyo en el análisis de los datos así como por el apoyo brindado para la realización de esta obra.
- Al Ph. D. Maximino Huerta Bravo por su apoyo en la dirección y sugerencias aportadas para llevar a buen termino esta obra.
- A mis amigos Conchita, Delfino, David, Roberto por su amistad y ayuda para la finalización de esta tesis.

DATOS BIOGRÁFICOS

1. DATOS PERSONALES

NOMBRE	Gerardo Jaramillo Escutia
FECHA DE NACIMIENTO	02 de Enero de 1956
LUGAR DE NACIMIENTO	Celaya, Edo. De Guanajuato
PROFESIÓN	Medico Veterinario Zootecnista

2. DESARROLLO ACADEMICO

- 1963-1969 Escuela Primaria Urbana No 4 Morelos Celaya, Edo. de Guanajuato.
- 1969-1972 Escuela Secundaria Nocturna Miguel Hidalgo Celaya, Edo. de Guanajuato.
- 1972-1975 Escuela Preparatoria Instituto Celayense Celaya, Edo. de Guanajuato.
- 1977-1982 Licenciatura en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.
- 1995-1996 Especialidad en Producción Ovina en la Facultad de Medicina

Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

1999-2001 Maestría en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo

3. EXPERIENCIA PROFESIONAL

1984-1989	Asesor Veterinaria Tollocan S.A. de C.V. Toluca México.
1986-1988	Maestro horas clase Centro Agropecuario No. 30 Cabecera Municipal Zumpahuacán, Edo de México.
1984-1991	Asesor Meléndez y Aspe Servicios Profesionales S.C. Toluca, México
1994	Jefe del Departamento de Medicina de Grandes Especies y Cirugía Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México
1995	Jefe del Área Ovina y Caprina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.
	Jefe de la Planta de Alimentos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

2001 a la Fecha Responsable del Laboratorio de Procesamiento de Semen
del Programa del Centro de Mejoramiento Genético Ovino
de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la
Universidad Autónoma del Estado de México.

RESUMEN

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL INTRAUTERINA CON SEMEN FRESCO EN OVEJAS PRIMÍPARAS (F1) DORPER-PELIBUEY

Jaramillo Escutia Gerardo¹, Rangel Santos Raymundo², Ramírez Valverde

Rodolfo², Huerta Bravo Maximino²

El objetivo fue evaluar el efecto de dos dilutores con semen fresco y dos machos sobre la tasa de gestación y prolificidad de ovejas primíparas. Se extrajo semen de dos machos Dorper adultos en mayo. La dosis de semen utilizada fue de 100×10^6 células espermáticas; los dilutores utilizados fueron Triladyl y un dilutor a base de Tris-fructuosa-ácido cítrico. Se utilizaron 80 hembras primíparas (F1) Dorper-Pelibuey, las cuales fueron sincronizadas con esponjas intravaginales impregnadas con 30 mg de acetato de fluorogestona (FGA). La detección de celos se inició 24 horas posremoción de las esponjas y posteriormente cada seis horas. Las ovejas se inseminaron por laparoscopia 12 horas después de detectado el celo. Los resultados se analizaron mediante el procedimiento logístico incluido en el programa computacional SAS. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre dilutores y sementales ni en su interacción, en las variables evaluadas.

Palabras clave: ovejas primíparas, inseminación laparoscópica, dilutores.

1. Maestría en Ciencias en Producción Animal del Departamento de Zootecnia.

2. Profesores Investigadores del Postgrado en Producción Animal del Departamento de Zootecnia.

Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco Km. 38.5 Chapingo, Estado de México. C.P. 5623. Teléfono: (595) 95 2-16-21 Fax: (595) 95 4-88-84

SUMMARY

INTRAUTERINE ARTIFICIAL INSEMINATION WITH FRESH SEMEN IN PRIMIPAROUS EWES (F1) DORPER-PELIBUEY

Jaramillo Escutia Gerardo¹, Rangel Santos Raymundo², Ramírez Valverde

Rodolfo², Huerta Bravo Maximino²

The objective was to evaluate the effect of two extenders with fresh semen and two males on pregnancy rate and prolificacy of primiparous ewes. The semen was obtained from two Dorper rams in may. The dosage of semen was 100×10^6 sperm cells, the extenders were Triladyl and an extender based on Tris-fructose-citric acid. Eighty (F1) Dorper X Pelibuey, primiparous ewes were synchronized with intravaginal sponges containing 30 mg of fluorogestone acetate (FGA). Estrus detection started 24 h after sponge removal at 6 h intervals. The ewes were inseminated by laparoscopy 12 h after estrus detection. The results were analyzed with the logisitic procedure included in the SAS Program. There were no significant differences ($P>0.05$) between semen extenders and rams, or their interaction on any of the variables evaluated.

Keywords: Primiparous ewes, laparoscopic insemination, diluents.

1. Maestría en Ciencias en Producción Animal del Departamento de Zootecnia.

2. Profesores Investigadores del Postgrado en Producción Animal del Departamento de Zootecnia.

Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco Km. 38.5 Chapingo, Estado de México. C.P. 5623. Teléfono: (595) 95 2-16-21 Fax: (595) 95 4-88-84

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
ÍNDICE	iii
ÍNDICE DE CUADROS	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. HIPÓTESIS	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1. Control hormonal del ciclo estral	4
4.2. Fisiología del ciclo estral	6
4.3. Dinámica folicular	8
4.4. Crecimiento folicular; reclutamiento, selección y dominancia	11
4.5. Sincronización de estros	13
4.5.1. Métodos de sincronización de estros	14
4.5.1.1. Sincronización de estros con prostaglandinas	14
4.5.1.2. Sincronización de estros con progestágenos	15
4.5.1.3. utilización de eCG en la sincronización de estros	18
4.5.2. Efecto macho	19
4.5.3. Melatonina	20
4.6. Ventajas de la inseminación artificial	21
4.6.1. Mejora genética	21
4.6.2. Transporte de material genético	22
4.6.3. Prevención y control de enfermedades	23
4.6.4. Mantenimiento de registros confiables	23
4.6.5. Utilización de otras tecnologías	23
4.7. Desventajas de la inseminación artificial	24

4.7.1. Consanguinidad	24
4.7.2. Propagación de enfermedades	24
4.8. Técnicas de inseminación artificial	24
4.8.1. Inseminación exocervical	24
4.8.2. Inseminación cervical	25
4.8.3. Inseminación Transcervical	26
4.8.4. Inseminación Intrauterina	27
4.9. Factores que afectan la fertilidad	28
4.9.1. Técnicas de inseminación artificial	28
4.9.2. Sincronización de estros	28
4.9.3. Tipo de semen utilizado	29
4.9.4. Tipo de dilutor utilizado	30
4.9.5. Tiempo de inseminación	31
4.9.6. Dosis de espermatozoides	33
4.9.7. Sitio de la inseminación artificial intrauterina.....	34
4.9.8. Estación	35
4.9.9. Semental	37
4.9.10. Edad	38
4.9.11. Raza	39
4.9.12. Estrés	40
5. MATERIALES Y MÉTODOS	42
5.1. Localización	42
5.2. Animales	42
5.3. Sincronización de estros	43
5.4. Detección de estros	43
5.5. Inseminación artificial	44
5.6. Diagnóstico de gestación	44

5.7. Variables de respuesta	45
5.8. Análisis estadístico	45
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
6.1. Incidencia y distribución de celos	47
6.2. Fertilidad	48
6.3. Prolificidad	50
7. CONCLUSIONES	53
8. LITERATURA CITADA	54

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Fertilidad en ovinos al utilizar diferentes dosis y tipos de semen en programas de inseminación artificial	33
Cuadro 2. Porcentajes de fertilidad en ovinos de acuerdo al sitio de depósito del semen	35
Cuadro 3. Fertilidad en ovejas F1 Dorper-Pelibuey en función del dilutor y macho	48
Cuadro 4. Prolificidad de ovejas F1 Dorper-Pelibuey en función del dilutor y del macho	51

1. INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es el método reproductivo en el cual el semen obtenido del macho es introducido en el tracto reproductor de la hembra por medio de instrumentos especiales (Halbert *et al.*, 1990a; Hill *et al.*, 1998). Esta técnica es la más importante que se ha desarrollado para el mejoramiento genético animal (Chemineau y Cognie, 1991). La IA ha sido utilizada con éxito en varias especies y representa una posibilidad para aumentar la eficiencia productiva, mediante la utilización racional de material genético de animales con características zootécnicas superiores (Valencia, 1987).

El éxito de un programa de IA depende de diversos factores: ligados a la hembra y al macho, ambientales y relacionados con la técnica utilizada (Lloyd y Clark, 1968; Moses *et al.*, 1997). Apoyándose con la sincronización de estros esta técnica puede ser realizada a tiempo fijo (Fayez y Owen, 1974), para lo cual es necesario el uso de tratamientos farmacológicos o naturales para inducir o modificar el ciclo estral de las hembras (Lloyd y Clark, 1968).

Las variaciones en la fertilidad de las hembras inseminadas artificialmente han sido asociadas con diferencias de fertilidad entre sementales (Salamon y Robinson, 1962; Colas, 1979), tratamiento utilizado para sincronizar estros (Steffan *et al.*, 1983), estación reproductiva (Corteel *et al.*, 1978), nutrición (Downing y Scaramuzzi, 1991), tiempo en el que se lleva a cabo la inseminación (Moore y Eppleston, 1979), tipo de semen utilizado (Salamon y Maxwell, 2000), metodología utilizada en el procesamiento y manejo del semen

(Salamon y Maxwell, 1991; Watson, 1995), así como el sitio de depósito del semen en el tracto reproductor de la hembra (Killen y Caffery, 1982; Maxwell, 1986 a,b).

El uso de la inseminación artificial en explotaciones ovinas de nuestro país es reducido, por lo cual es necesario realizar investigaciones que permitan demostrar el potencial de la técnica y mejorar los niveles de eficiencia actualmente alcanzados.

2. OBJETIVOS

Evaluar el efecto del dilutor sobre la fertilidad y prolificidad en ovejas primíparas.

Evaluar el efecto del semental sobre la fertilidad y prolificidad en ovejas primíparas.

3. HIPÓTESIS

La fertilidad y prolificidad en ovejas primíparas es similar en los dos dilutores estudiados.

La fertilidad y prolificidad en ovejas primíparas es similar entre sementales.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Control hormonal del ciclo estral

La función reproductiva en los ovinos se manifiesta por una serie de eventos fisiológicos de diferente duración a lo largo del año. Las ovejas presentan una época reproductiva caracterizada por una sucesión de ciclos estrales con una duración de 16 a 18 días, alternándose con una época de anestro (Gallegos *et al.*, 1999). Estos eventos fisiológicos; esencialmente hormonales, están gobernados por el sistema nervioso central, mediante el estímulo de áreas específicas del hipotálamo y la glándula pituitaria (Ebling y Hastings, 1992). El control del proceso es realizado a través de la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), estableciendo la unión neuroquímica entre el eje hipotálamo hipofisiario gonadal (Tempest y Minter, 1994; Caraty *et al.*, 1995), en el cual juega un importante papel la liberación de las gonadotropinas LH (Hormona Luteinizante) y FSH (Hormona Folículo Estimulante) (Thimonier y Pelletier, 1971; Kerdelhue *et al.*, 1972; Salamonense *et al.*, 1973).

El tiempo en el cual se lleva a cabo la ovulación después del pico de LH, es aproximadamente a las 24 horas (Cumming *et al.*, 1971; Baird *et al.*, 1975), e inmediatamente después se inicia el desarrollo del cuerpo lúteo, liberando progresivamente progesterona hasta alcanzar una concentración máxima de 2.5 ng/ml, sin embargo, la producción de dicha hormona puede ser influida por la estacionalidad y la nutrición (Lamond *et al.*, 1972; Noel *et al.*, 1993), así como

por la época de cría y la tasa ovulatoria (Thorburn *et al.*, 1969; Bindon *et al.*, 1975, 1979).

En la mitad de la fase lútea, la progesterona circulante inhibe la frecuencia de secreción de los pulsos de LH (secreción tónica: 1-4 pulsos por 24 horas), mientras que al final de la fase lútea; cuando se inicia la luteólisis por efecto de la acción de la PGF2 α liberada por el endometrio uterino, los niveles plasmáticos de progesterona descienden (Goding, 1973; Baird y Scaramuzzi, 1975). En este momento los picos de PGF2 α son de corta duración y sus frecuencias se incrementan conforme se acerca el estro, alcanzándose niveles máximos de 20 ng/ml; estos picos de PGF2 α están asociados con la caída de la secreción de progesterona (Moore *et al.*, 1970; Nett *et al.*, 1976).

La disminución de la progesterona circulante provoca la liberación de la secreción tónica de LH, de tal forma que la frecuencia de sus pulsos aumenta progresivamente hasta alcanzar un pulso por cada hora (Malpaux *et al.*, 1988); y este aumento en la frecuencia de secreción de LH estimula la producción de estrógenos en los folículos en proceso de maduración, incrementando su concentración en la circulación. El incremento progresivo de los niveles de estradiol ejercido por retroalimentación positiva y negativa a nivel hipotalámico hipofisiario, controla la secreción hormonal dando origen a las descargas preovulatorias de GnRH y de LH (Goding *et al.*, 1969; Baird y Scaramuzzi, 1976), provocando un nuevo ciclo estral, el cual es definido como una serie de

eventos fisiológicos y hormonales que se inician al terminar el ciclo estral anterior (Mcleod y Phillips, 1998).

4.2. Fisiología del ciclo estral

Las fases cronológicas de un ciclo estral completo son: proestro, estro, metaestro y diestro (Hafez, 1952). La duración del ciclo en la oveja varía según la raza, edad, nutrición, medio ambiente y temperatura (Fitzgerald *et al.*, 1982; González Reyna *et al.*, 1991). En ovejas de pelo y de lana han sido observados ciclos estrales más cortos en corderas comparativamente con hembras adultas (Valencia *et al.*, 1975; González Reyna, 1977; Cruz *et al.*, 1982; González, 1983).

En general el ciclo estral puede dividirse en dos fases: fase folicular y fase luteínica. El estro se presenta en la última parte de la fase folicular y es de duración relativamente corta (3-4 días), ocupando la fase lútea el resto del ciclo (13 a 14 días). Después de la ovulación se inicia el crecimiento del cuerpo lúteo, el cual alcanza su mayor desarrollo alrededor del día 5-7 del ciclo estral y se mantiene constante el resto del ciclo, iniciando su regresión a partir del día 11 al día 17 (Ravindra *et al.*, 1994; Leyva *et al.*, 1998). González Reyna *et al.* (1991) menciona que en la oveja Pelibuey los niveles de progesterona se mantienen bajos durante el estro y se elevan en la fase lútea (alrededor del día 9 del ciclo estral), decreciendo a partir del día 17 del ciclo.

Los niveles altos de progesterona durante el periodo del cuerpo lúteo y la presencia de estradiol, incrementan la sensibilidad del útero a los receptores de oxitocina (Vallet *et al.*, 1990), provocando contracciones en el útero y dando inicio a la liberación de pulsos episódicos de prostaglandinas, con una duración de alrededor de 1 hora, presentándose un promedio de 5 pulsos cada 24 horas (McCracken *et al.*, 1973; Riley *et al.*, 1994). Los niveles altos de prostaglandinas provocan la regresión del cuerpo lúteo y la reducción de los niveles plasmáticos de progesterona a partir del día 11 del ciclo estral (Leyva *et al.*, 1998), reduciéndose el efecto de retroalimentación negativa de la progesterona sobre el hipotálamo y la hipófisis, y aumentando la secreción de la hormona FSH y la frecuencia de pulsos de la hormona LH (Cunningham *et al.*, 1975), estimulando el crecimiento folicular y la producción de estradiol. El estradiol ejerce una retroalimentación positiva y negativa a la vez a nivel hipotalámico hipofisiario, dando origen a la descarga preovulatoria de hormona liberadora de gonadotropinas (Webb *et al.*, 1992; Bartlewski *et al.*, 1999).

El ultimo ciclo estral que se presenta después de la época reproductiva, cuando se lleva a cabo la lisis del cuerpo lúteo, no se incrementa la secreción pulsátil de LH, la cual se encuentra a un nivel inferior a la que se presenta durante la fase folicular normal (el pico preovulatorio de LH no se presenta). Esta disminución en la frecuencia de pulsos de LH y la disminución de los niveles de progesterona resulta por la acción negativa ejercida por los estrógenos en el eje hipotálamo hipofisiario. La secreción de LH (2 pulsos/24 h) es insuficiente para inducir la maduración folicular, lo cual aunado a la ausencia de progesterona

endógena originan el anestro. La secreción pulsátil de LH aumenta poco tiempo antes de la época reproductiva (48 pulsos/24 h) (Gallegos *et al.*, 1999; Zieba *et al.*, 2000).

4.3. Dinámica folicular

El ovario adulto o maduro contiene el número definitivo de folículos; una gran reserva de folículos primarios y un pequeño número de folículos en varios estados de crecimiento y desarrollo. Los folículos primarios se desarrollan gradualmente a través de la vida del animal como folículos maduros, en fase de crecimiento y termina su desarrollo en la ovulación o se degeneran por el proceso de atresia (Gerard, 1999).

En los ovarios de las hembras adultas se pueden encontrar entre 12,000 y 86,000 pequeños folículos (con más o menos dos capas de células en la granulosa), y entre 100 y 400 folículos grandes en desarrollo (Cahill *et al.*, 1979; Erickson, 1996). En la oveja, Mariana y Machado. (1976) observaron folículos antrales con un diámetro de 0.2 mm, en cuyos espacios intracelulares (antrum difuso) se formó una cavidad llena de fluido (el antrum discreto). Turnbull *et al.* (1977) mencionan que la tasa de división de las células de la granulosa en ovarios de ovejas se incrementa rápidamente a un máximo poco después de la formación del antrum y va disminuyendo paulatinamente hasta cero en los folículos preovulatorios. De estos estudios ha sido estimado que aproximadamente tres folículos por animal por día entran en la fase antral y algunos de estos folículos sufren atresia. En el ovario de la oveja, los folículos

preantrales son más numerosos (aproximadamente de 2:1) que los folículos antrales. Los folículos preantrales tienen un crecimiento relativamente lento. Driancourt (1999) mencionó que en la oveja son necesarios tres o cuatro meses para que el folículo pase a través de esta fase. Cahill y Mauleón (1980) encontraron que son necesarios seis meses para que el folículo crezca, forme tres capas de células de la granulosa (diámetro 0.06 mm) y alcance el estado preovulatorio (6 a 8 mm).

El número de folículos preantrales puede ser influenciado por numerosos factores como edad, estación, nutrición y tratamientos hormonales (Findlay y Cumming, 1976; Fuentes y Perón, 1996). En animales domésticos los folículos preantrales pueden actuar como un pequeño reservorio a corto plazo o como un amortiguador entre los folículos sin crecimiento o inactivos y los folículos antrales de crecimiento activo o bien están bajo el control de gonadotropinas especialmente la FSH (Dufour *et al.*, 1979).

La FSH ha sido involucrada en la formación del antrum (Evans *et al.*, 1932) y una acción sinérgica de la FSH y los estrógenos, los cuales resultan en el rápido crecimiento de los folículos principalmente después de la formación del antrum. La FSH obliga a las células de la granulosa de los folículos a estar en todos los estados de crecimiento y el número de células por folículo es incrementado durante el desarrollo. La hormona LH estimula a las células de la teca a estar en todos los momentos del desarrollo folicular y estimular a las células de la granulosa para el desarrollo de los folículos antrales grandes, con

un límite para las células de la granulosa de los folículos antrales y preantrales (Ryle, 1971; Midgley, 1973); por esta razón, la FSH incrementa el número de receptores de LH en la última fase antral en las células de la granulosa de los folículos de la oveja de alrededor de 1 a 4 mm. Con el incremento de los receptores para LH, el folículo se sensibiliza para la LH produciéndose la liberación de LH en el estro (Flynn *et al.*, 2000).

Los folículos antrales son clasificados en dos tipos distintos de acuerdo a la cantidad de receptores para LH. Un grupo es susceptible a la LH y después de la liberación de la LH aparece la ovulación, luteinización y atresia; otro grupo de folículos no responden a la LH pero son influenciados por la prolactina, misma que se concentra en el fluido folicular y confiere al folículo la capacidad para disminuir o aumentar su tamaño, actuando directamente en los niveles ováricos para interferir con la esteroidogénesis, la maduración folicular o ambas (McNatty *et al.*, 1975; Caraty *et al.*, 1989). En el control de la diferenciación de las células tecales, el parámetro más utilizado es la producción de andrógenos (androstenediona) que estimula a la LH pero no a la FSH (Evans *et al.*, 1997). La acción de la LH sobre las células tecales es modulada por los factores de crecimiento; en las células de la granulosa la IGF se incrementa (Fair *et al.*, 1995) y la EGF disminuye (Fowler y Price, 1997), estimulando a la LH para la producción de andrógenos sobre las células tecales. La inhibina y la activina tienen acciones opuestas en donde la inhibina aumenta la estimulación de LH para la producción de androstenediona y la activina suprime la respuesta de la LH (D'Occhio *et al.*, 1999; Khalid *et al.*, 2000).

4.4. Crecimiento folicular: reclutamiento, selección, dominancia

Los folículos antrales, principalmente los grandes, son responsables de la producción ovárica de estrógenos y andrógenos (Baird y McNeilly, 1981), estos folículos grandes influyen indirectamente en el crecimiento y desarrollo de otros folículos en fase de crecimiento. Una cantidad mayor de folículos antrales están presentes en los ovarios de las ovejas durante la estación de cría que en la estación de anestro (Cahill, 1981).

Al momento de la luteólisis una oleada de folículos gonadodependientes (mayores de 2 mm en la oveja) comienza su crecimiento terminal. Esta fase es llamada de reclutamiento, en medio de la fase folicular, el folículo que va a ovular se individualiza (selección) y es reconocido por su tamaño y maduración. Posteriormente el folículo comienza su periodo de dominancia; durante este periodo el folículo dominante realiza su maduración preovulatoria mientras que los otros folículos de la oleada se atresian. No hay una nueva oleada en presencia de un folículo dominante (Driancourt, 1991), y en los ovinos estos procesos se producen de manera continua provocando las oleadas foliculares (Evans *et al.*, 1994).

Las gonadotropinas son las hormonas de mayor importancia en el control del reclutamiento, selección y dominancia; y en la ausencia de gonadotropinas (hipofisectomias o inmunización en contra GNRH) no hay folículos reclutados (Dufour *et al.*, 1979; McNeilly *et al.*, 1986; Driancourt *et al.*, 1987).

En todos los animales domésticos, la FSH es la hormona implicada en el reclutamiento; la reducción de los niveles de FSH, es observada luego que el futuro folículo dominante y los otros folículos de la oleada, miden 3 a 4 mm en los ovinos; lo que está asociado con el inicio de la producción de estradiol por los folículos de este tamaño. El estradiol actúa por retroalimentación negativa sobre la producción de FSH por la hipófisis (Picton *et al.*, 1990; McNeilly *et al.*, 1992). Los pulsos de LH no parecen estar implicados en este proceso, sin embargo, la presencia de un nivel basal de LH es indispensable (Picton *et al.*, 1990). La respuesta folicular a FSH parece hacerse por umbral, y se observa que el umbral para un folículo dado varía con su crecimiento, siendo más sensibles a la FSH los folículos más grandes (Bartlewski *et al.*, 1999).

En el control de la selección se tiene una hipótesis endocrina en la oveja en la cual; el desarrollo de la oleada de folículos reclutados está acompañado de un aumento en la producción de estradiol y de inhibina, que actúan por retroalimentación negativa sobre la FSH (Ginther *et al.*, 1996).

El folículo dominante se mantiene porque se reducen sus necesidades de FSH, las cuales al parecer equivalen a la mitad de los niveles necesarios en la fase de reclutamiento (González-Bulnes *et al.*, 2001).

Tres teorías explican la aptitud del folículo dominante para sobrevivir en un medio pobre de FSH.

- a) La adquisición de receptores para LH en la granulosa permite al folículo transferir su dependencia frente a la FSH en una dependencia a LH,

secretada al final de la fase folicular (Sirois y Fortune, 1989; Xu *et al.*, 1995).

- b) Las cantidades de FSH que alcanza el folículo dominante pueden incrementarse por un mecanismo local que implica la vascularización (Chistenson y Stouffer, 1997).
- c) La amplificación de la respuesta folicular para FSH y/o LH por un mecanismo local. En los folículos dominantes se reduce la concentración y el tipo de proteína de unión de los IGF, aumentando así la biodisponibilidad de IGF1 que potencializa la acción de la LH en la teca y la acción de la FSH en la granulosa, este factor de crecimiento podría contribuir a mantener el folículo dominante. Otro factor de crecimiento que puede estar implicado en el factor del folículo dominante es el TGF β que potencializa su respuesta a bajas dosis de FSH pero no a dosis elevadas de esta hormona (Knechtm y Catt, 1987; Campbell *et al.*, 1995; Monget y Monniaux, 1995).

4.5. Sincronización de estros

Los programas de sincronización de estros facilitan la inseminación artificial y permiten programar los nacimientos durante periodos más favorables de crianza o para satisfacer las necesidades de mercado, además los animales pueden ser manejados en grupo haciendo más eficiente la utilización de recursos. También se puede obtener el máximo aprovechamiento del potencial reproductivo de los animales al inducir la actividad ovárica de estos cuando se

encuentran en anestro prepuberal y estacional, e incrementar el tamaño de la camada. (Christenson, 1976; Dziuk y Bellow, 1983; Steffan *et al.*, 1983).

La oveja es una especie con reproducción estacional, los métodos a utilizar para la sincronización de estros dependerán de la época del año. Durante la estación reproductiva los animales se encuentran ciclando, por lo que se requiere modificar el ciclo estral, mientras que en la época de anestro los animales no ciclan, por lo que se requiere inducir la actividad ovárica (Quispe *et al.*, 1994).

4.5.1. Métodos de sincronización de estros

La sincronización del ciclo estral, concentra en un periodo corto de tiempo la incidencia de estros; para lograr esto se utilizan dos métodos básicos, los farmacológicos y los naturales (Evans y Maxwell, 1990). Los métodos farmacológicos consisten en la administración de sustancias químicas (progestágenos, prostaglandinas, melatonina). Entre los métodos naturales pueden ser mencionados el efecto macho y la regulación del fotoperiodo (Ocallaghan *et al.*, 1994; Zarco *et al.*, 1995).

4.5.1.1. Sincronización de estros con prostaglandinas

En ovinos es posible obtener la luteólisis mediante la administración de PGF2 α o sus análogos sintéticos a partir del cuarto o quinto día del ciclo estral (Herrera *et al.*, 1990). Las concentraciones circulantes de progesterona generalmente se reducen a niveles basales dentro de las primeras 15 a 20 horas después de

administrar la PGF2 α (Thimonier, 1981; Herrera *et al.*, 1990); como resultado de la regresión del cuerpo lúteo, se inicia un nuevo ciclo estral acompañado del estro, pico preovulatorio de LH y ovulación (Thimonier, 1979). En este caso, el estro se presenta generalmente entre 36 a 48 horas después de la inyección de PGF2 α (Bindon *et al.*, 1979).

El cuerpo lúteo de la oveja no es sensible a la PGF2 α durante los primeros cuatro días del ciclo estral (Hughs *et al.*, 1976). Herrera *et al.* (1990) reportaron que se presentan fallas luteolíticas cuando se administra la PGF2 α entre el día nueve y once del ciclo estral, cuando la funcionalidad del cuerpo lúteo es máxima. Esta situación limita el uso de la PGF2 α , ya que siempre habrá animales que se encuentran en algunas etapas de insensibilidad a la hormona (Thimonier, 1981).

4.5.1.2. Sincronización de estros con progestágenos

La sincronización de estros utilizando progestágenos sintéticos administrados mediante dispositivos intravaginales e implantes subcutáneos por vía intramuscular o administración oral (Gordon, 1975; Boland *et al.*, 1978, 1981).

La progesterona y los progestágenos sintéticos suprimen el estro y la ovulación en ovejas que se encuentran ciclando. La progesterona exógena modifica el patrón normal de producción endógena de progesterona, ya que la vida media y la actividad secretora del cuerpo lúteo son reducidas (Woody *et al.*, 1967; Ottobre *et al.*, 1980).

El tratamiento que se inicia después del día cinco del ciclo estral, la fase lútea prosigue normalmente y la regresión tiene lugar en el momento esperado, pero la ovulación subsiguiente es inhibida hasta el retiro del tratamiento progestacional (Echternkamp *et al.*, 1976; Hansel y Convey, 1983). Al dejarse de administrar el progestágeno, se evita la inhibición de las gonadotropinas (LH) y se reinicia el desarrollo folicular que culmina con la presentación del estro sincronizado. En la mayoría de las hembras esto sucede 48 horas después de finalizado el tratamiento (Ottobre *et al.*, 1980; Cognié y Mauleón, 1989; Haresing, 1992).

Hughs *et al.* (1976) mencionaron que la administración diaria de progestágenos por vía intramuscular originó una marcada sincronización de estros, pero la fertilidad obtenida disminuyó al inseminar al primer estro, además la inyección diaria de la hormona resultó impráctica al ser empleada en un gran número de animales, por lo cual este método está en desuso.

El uso de los progestágenos por vía oral mezclados en el alimento permite simplificar la administración a grandes grupos de animales, pudiendo controlar el final del tratamiento mediante el retiro del progestágeno de la mezcla alimenticia. Entre los progestágenos orales se encuentran el acetato de medroxiprogesterona (MAP), el acetato de clormadinona (CAP) y el acetato de melengestrol (MGA). Lamond y Lambourne (1961) y Lamond y Bindon (1962) mencionaron que los 19-noresteroides y los derivados de la 17-

hidroxiprogesterona son los progestágenos orales más activos. En estos tratamientos el inconveniente que se presenta es el no poder controlar el consumo del progestágeno por el animal (Duane, 1992), siendo de menor efectividad que con otros métodos (Quispe *et al.*, 1994).

Los progestágenos más utilizados para sincronizar celos en ovinos son el acetato de fluorogestona (FGA) y acetato de medroxiprogesterona (MAP), mismos que son administrados por vía intravaginal mediante la aplicación de esponjas. Otro progestágeno es el norgestomet que es aplicado en implantes subcutáneos (Driancourt, 2001) o dispositivos intravaginales (CIDR) liberadores de progesterona (Rhodes y Nathanielsz, 1988) mediante los cuales son obtenidos resultados similares a la sincronización con esponjas (McMillan, 1986).

Los progestágenos en los ovinos alcanzan su máxima concentración a las 48 horas de la colocación de las esponjas para descender lentamente hasta el día 12 a 14, cuando son retiradas (Robinson, 1965); pueden ser mantenidas durante 12 días en ovejas en anestro y 14 días en animales cíclicos, con el fin de prolongar el cuerpo lúteo presente en el ovario.

La utilización de esponjas debe ser acompañada de inyecciones intramusculares de gonadotropina coriónica equina (eCG), cuya dosis debe adaptarse a la raza, época del año, edad y estado fisiológico de los animales. El rango de dosificación es de 300 a 600 U.I. administradas al final del tratamiento

para producir la ovulación en hembras no cíclicas e inducir una buena sincronía en hembras cíclicas (Rhodes y Nathanielsz, 1988).

La utilización prolongada de progestágenos ha sido asociada a una baja fertilidad por cambios en el ambiente uterino y por consecuencia en el transporte y fertilización de gametos (Hawk y Conley, 1972; Hawk, 1972).

4.5.1.3. Utilización de eCG en la sincronización de estros

El complemento al tratamiento con progestágenos, se utiliza la administración de eCG (Gonadotropina coriónica equina), inyectada al final del tratamiento para estimular el desarrollo folicular y la ovulación (Roche, 1968; Regueiro *et al.*, 1999). La actividad de eCG es similar a la de la FSH, teniendo también acción de LH (Cole y Hart, 1932). El uso de esta hormona se debe a su larga vida media (aproximadamente tres días en la oveja), lo que permite un estímulo continuo con una sola inyección por vía intramuscular en el momento de retirar el progestágeno, y con ello el desarrollo de un mayor número de folículos, incrementándose la tasa de ovulación a cerca de un 30% con respecto a la media racial (Boland *et al.*, 1978; Schams *et al.*, 1978).

La eCG es capaz de estimular el desarrollo de folículos ováricos, llegando a presentarse el pico preovulatorio de LH y ovulación; sin embargo, el cuerpo lúteo que se forma como resultado de este tratamiento en la época de anestro tiene una función deficiente y no es capaz de soportar la gestación, por esta razón los tratamientos con eCG deben ser combinados con progestágenos para la presentación de la ovulación acompañada de signos de estro y la formación

de un cuerpo lúteo normal (Hulet and Stormshak, 1972). La respuesta a la administración de dicha hormona esta supeditada a factores como: edad (Armstrong *et al.*, 1982; Ainsworth y Shrestha, 1985), raza (Quirke *et al.*, 1987), época del año (Crosby *et al.*, 1991), peso y estado fisiológico (Cognie *et al.*, 1970; Evans y Robinson, 1980).

4.5.2. Efecto macho

Las hembras en anestro estacional o posparto pueden responder a la introducción del macho con un incremento en las pulsaciones tónicas en la secreción de LH y la oleada preovulatoria de LH y FSH. A esto se le conoce como efecto macho (Knigh, 1983; Martin, 1984). Algunos estudios muestran que es muy raro que todas las hembras respondan, y esto tiene una variación considerable entre grupos de hembras (Tervit *et al.*, 1977; Martin y Saramuzzy, 1983; Chemineau y Cognie, 1991). Martin *et al.* (1986) reportaron que cuando las hembras son aisladas del macho por más o menos un mes, responden a la introducción del macho y la ovulación ocurre de 35 a 40 horas después (Oldham *et al.*, 1978). Lindsay *et al.* (1975) demostraron que el carnero fue capaz de estimular el desarrollo folicular ovárico en hembras anéstricas cuando la circulación de gonadotropinas circulantes fue baja. Otros investigadores han mencionado que también intervienen estímulos olfatorios (ferohormonas) producidas por el macho para inducir a la actividad ovárica y el subsecuente estro temprano (Knight y Lynch 1980 a,b). Morgan *et al.* (1972) observaron que hembras no cíclicas con el sentido del olfato afectado no se estimularon ni

mostraron estro después de la exposición al macho como las hembras normales que si tenían sentido del olfato y sensibilidad.

Cohen-Tannouaji *et al.* (1986) demostraron que a través de la estimulación química puede producirse la ovulación; sugiriendo que existen otras vías sensoriales además del estímulo olfatorio, que actúan sinérgicamente con los signos químicos y que pueden reemplazar a la ferohormona y desencadenar las mismas respuestas fisiológicas.

Perkins y Fitzgerald (1994) observaron que un pequeño número de machos con una libido pobre fueron menos efectivos que un macho con una libido alta al estimular la respuesta ovulatoria en hembras anéstricas (Oldham *et al.*, 1978; Knight, 1983).

4.5.3. Melatonina

La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal considerada como el mediador endócrino que sirve de elemento de traducción de la señal fotoperiódica. La glándula pineal secreta melatonina exclusivamente durante la noche y de esta forma sus cambios de secreción coinciden con las variaciones en la duración del día y de la noche en las distintas estaciones del año (Chemineau *et al.*, 1992; López, 1999). Con el uso de la melatonina es posible la manipulación de los periodos estacionales en hembras. El conocimiento del patrón secretorio de esta hormona ha sido definido por Nowak y Rodway (1985), Chemineau *et al.* (1992) y Malpoux *et al.* (1996). La melatonina provee

un ritmo de tiempo biológico en muchas especies; esto ha sido demostrado por Kennaway *et al.* (1982), Arendt *et al.* (1983) y Symons *et al.* (1983), quienes observaron que la administración diaria de melatonina en ovejas durante el verano, puede producir un avance en la estación de cría. Esta hormona puede ser administrada por vía oral, intraruminal o en implantes subcutáneos (Lincoln y Ebling, 1985; Poulton *et al.*, 1987).

El efecto macho es una parte integral en la estrategia del tratamiento con melatonina (Martin *et al.*, 1980). Las hembras deben estar totalmente aisladas de los machos antes del tratamiento para maximizar la efectividad de este. La época apropiada para la administración de melatonina es en la estación de cría (Nowak y Rodway, 1985); y dicha estrategia promueve un alto grado de sincronía a la monta. El intervalo para el tratamiento y la introducción del macho tiene que ser de 5 a 6 semanas después de la implantación, y para llevar a cabo la monta en una proporción de 1 macho por 40 hembras (Haresing, 1992).

4.6. Ventajas de la Inseminación Artificial

4.6.1. Mejora genética

La inseminación artificial permite mejorar la producción de los rebaños y seleccionar animales de calidad superior; y ya que el macho produce más crías que la hembra, generalmente se realiza mayor énfasis en su adecuada selección. La utilización de sementales superiores tiene beneficio directo sobre la producción de la progenie resultante, siempre y cuando se evite que

aparezcan problemas de consanguinidad (Dziuk y Bellow, 1983; Abdel-Rahman *et al.*, 2000).

El uso de la inseminación artificial puede incrementar el número de crías por semental al año. Utilizando el sistema común de cruza en un rebaño, un semental puede cubrir de 50 a 100 hembras por año; sin embargo cuando se utiliza el semen fresco diluido con inseminación cervical, un semental ovino puede ser utilizado para inseminar más de 1000 hembras en un periodo de 2 a 3 semanas; y depositando intrauterinamente el semen conservado mediante congelación se pueden inseminar miles de ovejas con el semen obtenido de un sólo semental (Chemineau *et al.*, 1996).

4.6.2. Transporte del material genético

El transporte del semen es mucho más barato que transportar a los sementales, además de evitar el riesgo de diseminar posibles enfermedades, por lo que la inseminación artificial posibilita la importación de nuevos genes procedentes de otros países y continentes que no permiten la entrada de animales vivos (Chemineau y Cognié, 1991). De igual manera, el semen proveniente de machos con elevado valor genético puede ser conservado para utilizarse en años posteriores, incluso después de muerto el semental. El semen conservado para el futuro puede utilizarse como control en programas de selección a largo plazo. La eficiencia reproductiva puede ser incrementada debido a que los carneros con baja fertilidad pueden ser identificados con facilidad y eliminados del grupo de sementales. Cuando se utilizan inseminaciones periódicas, las

hembras pueden ser apareadas, aún cuando no muestren comportamiento estral. Además, los costos y los inconvenientes de mantener los sementales en los rebaños se disminuyen en explotaciones de pequeños ganaderos, cuando se obtiene semen de otros lugares (López *et al.*, 2001).

4.6.3. Prevención y control de enfermedades

La inseminación artificial elimina el contacto directo macho hembra, con lo que se controla y previene la propagación de enfermedades venéreas y otras enfermedades bacterianas y virales (Chemineau y Cognié, 1991).

4.6.4. Mantenimiento de registros confiables

La inseminación artificial permite tener registros de reproducción más confiables, que pueden ser utilizados para aumentar la seguridad de selección o para eliminar caracteres indeseables en un rebaño (Mieusset *et al.*, 1992; Ritar y Ball, 1993).

4.6.5. Utilización de otras tecnologías

La transferencia de embriones en hembras superovuladas para producir una gran cantidad de embriones y ser transferidos en hembras receptoras, la fertilización de los óvulos por medio de la monta natural genera adecuados resultados. Sin embargo, si se utiliza la inseminación intrauterina los resultados de fertilidad pueden ser mejorados (Scudamore *et al.*, 1991; Brebion *et al.*, 1992).

4.7. Desventajas de la Inseminación Artificial

4.7.1. Consanguinidad

La intensidad de selección cuando es muy alta puede generar problemas de consanguinidad, sobre todo cuando no se tienen un buen control en el manejo de la inseminación artificial (Bodin *et al.*, 1999).

4.7.2. Propagación de enfermedades

Los sementales que no han sido controlados en lo que a enfermedades se refiere, la inseminación artificial puede extender más rápidamente las enfermedades en comparación con el uso de la monta (Hafez, 1994).

4.8. Técnica de Inseminación Artificial

La inseminación artificial en ovejas puede ser realizada de manera exocervical, cervical, transcervical e intrauterina, difiriendo en cuanto a complejidad y expectativas de éxito (Trounson y Moore, 1974; Scudamore *et al.*, 1991; Vallet *et al.*, 1992).

4.8.1. Inseminación Exocervical

La inseminación exocervical consiste en el depósito del semen en la entrada del cérvix es el método más simple y más rápido cuando se emplea semen fresco diluido, pero requiere mayor dosis de semen que si se utilizara alguno de los otros métodos de inseminación (150 a 250 millones de células espermáticas por dosis). Puede ser empleada cuando hay que inseminar hembras vírgenes en las que la estrechez de la parte vestibular no permite la penetración del

espéculo (Halbert *et al.*, 1990a). Tervit *et al.* (1984) y Maxwell y Hewitt (1986) reportaron buenos índices de fertilidad al utilizar esta técnica inseminando con semen fresco (64%); sin embargo, obtuvieron resultados poco satisfactorios al emplear semen congelado (17%).

4.8.2. Inseminación Cervical

El cervix actúa como barrera frente al paso de los espermatozoides (Quinn *et al.*, 1969; Selaive-Villarroel y Kennedy, 1983a), y esto puede ser detectado fácilmente por la mejora de fertilidad que se logra al depositar quirúrgicamente el semen directamente en la luz uterina sobrepasando el canal cervical (Selaive-Villarroel y Kennedy, 1983b). Salamon y Maxwell. (1995a) mencionan que Ten En Bon. (1965) utilizó el método de tracción cervical para depositar el semen entre los 2 y 5 cm dentro del cervix, incrementándose en un 10% la fertilidad en comparación con el método normal de inseminación. En estudios realizados por otros investigadores se observó que conforme se incrementa la profundidad de depósito del semen en el tracto reproductor de la hembra, se incrementa la fertilidad (Halbert *et al.*, 1990b; Eppleston *et al.*, 1994; Nakvi *et al.*, 1998).

El porcentaje de éxito de la inseminación artificial utilizando semen de carnero congelado y descongelado ha sido relativamente bajo (Cameron *et al.*, 1987). En cabras se puede practicar la inseminación intrauterina vía cervical obteniéndose buenos resultados (Salamon y Lightfood, 1970). En la oveja, la inseminación transcervical; aún en la etapa estral es difícil debido a la anatomía

del aparato reproductor, o debido a la estrechez anatómica de la hembra (Ritar y Ball, 1993). La fertilidad obtenida al utilizar este tipo de inseminación no mejora al aplicar una o dos inseminaciones (Smith *et al.*, 1978).

La inseminación artificial cervical y su utilización desde sus inicios, los índices de fertilidad se han venido incrementando gradualmente con una variación de 4% hasta 79 % (Salamon y Maxwell 1995b). La variación en el éxito de la inseminación artificial cervical ha dependido de factores como estructura del cervix, etapa del ciclo estral, raza, edad y condición corporal de hembras y machos (Fitzgerald *et al.*, 1982; Shrestha *et al.*, 1983; Cameron *et al.*, 1987); tratamiento hormonal utilizado y número de partos (Steffan *et al.*, 1983; Notter, 2000).

4.8.3. Inseminación Transcervical

El lograr una mejor penetración y el deposito del semen dentro del cuerpo uterino, con la finalidad de lograr una mejor fertilidad en las ovejas; ha sido desarrollado el método Guelph, en el cual la penetración del canal cervical es posible utilizando instrumentos especiales. El método consiste en la tracción del cervix utilizando fórceps a través del espéculo de pico de pato, iluminado por una fuente de luz. El éxito de la penetración transcervical dentro del útero varía entre un rango del 39 al 62 % (Robinson *et al.*, 1989).

Halbert *et al.* (1990c) reportaron tasas de pariciones entre 40 y 55 % en hembras inseminadas transcervicalmente con semen fresco. Windsor *et al.* (1994) reportaron que las tasas de preñeces con el método Guelph fueron más

altas (32%) que las de inseminación cervical (9%), y menor que las realizadas por laparoscopia (48%). Salamon y Lighfoot (1970) y Halbert *et al.* (1990b), obtuvieron 66.4 y 23.9% de fertilidad respectivamente, depositando el semen entre 2.5 y 4 cm de profundidad del cervix.

4.8.4. Inseminación Intrauterina

Killen y Caffery (1982) realizaron las primeras inseminaciones artificiales intrauterinas utilizando el laparoscopio para visualizar el útero, y con esta técnica fueron obtenidos mejores resultados de fertilidad que al utilizar la inseminación cervical con semen congelado. Trabajos recientes han confirmado que el uso de esta técnica con semen descongelado es tan eficiente como la inseminación con semen fresco (Evans, 1991; Haresing, 1992). El método es confiable, y con buenos resultados en la producción de corderos (Tervit *et al.*, 1984). Armstrong y Evans (1984) mencionaron que la fertilidad obtenida al inseminar con semen descongelado fue mejor en ovejas que se encontraban en celo natural comparada con la fertilidad de ovejas a las que se había inducido el estro artificialmente. Estos autores señalan que la inseminación intrauterina con semen descongelado por laparoscopia a las 60 horas después de retirar las esponjas con progestágenos e inyectar la gonadotropina coriónica equina (eCG), puede resultar tan efectiva como la inseminación cervical con semen fresco a las 55 horas después de retirar los tratamientos de sincronización (76 vs. 80% de fertilidad, respectivamente). Al utilizar la inseminación intrauterina, pueden obtenerse buenos índices de fertilidad, utilizando menor cantidad de espermatozoides por inseminación (20 millones), lo que implica una reducción

de 10 a 20 veces en la cantidad de semen empleado comparativamente con la inseminación cervical (Robinson *et al.*, 1989; Vallet *et al.*, 1992).

4.9. Factores que afectan la fertilidad

4.9.1. Técnica de inseminación artificial

Los niveles de fertilidad obtenidos por las diferentes técnicas de inseminación, son determinados por el sitio de depósito del semen en el aparato reproductor de la hembra (Campbell *et al.*, 1996). Diversos estudios han demostrado que conforme se incrementa la profundidad de depósito del semen en el tracto reproductor de la hembra se incrementa la fertilidad (Halbert *et al.*, 1990b; Eppleston *et al.*, 1994; Nakvi *et al.*, 1998). Con el uso de la inseminación intrauterina por laparoscopia, la tasa de concepción es incrementada al utilizar semen fresco, refrigerado o congelado (Tervit *et al.*, 1984). Otra ventaja de esta técnica de inseminación, es la menor cantidad de semen requerida comparada con otros métodos de inseminación (Ghalsasi y Nimbkar, 1996).

4.9.2. Sincronización de estros

Los tratamientos para sincronizar los estros son factores que influyen directamente en los resultados obtenidos al realizar la inseminación artificial (Quispe *et al.*, 1995; Romano *et al.*, 1996; Nakvi *et al.*, 1999; Thimonier *et al.*, 2000). Existen pocos reportes sobre resultados de pariciones después de la inseminación intrauterina por laparoscopia con semen congelado en estro natural (Takenaka *et al.*, 1985; Azzarini y Valledor, 1987, 1988). Salamon y Maxwell (2000) mencionaron que en pruebas realizadas por Reinbold *et al.*

(1990) las tasas de no retorno en estro natural contra estro sincronizado fue de 48% vs. 34% y 54% vs. 82%, respectivamente.

El tipo de progestágeno utilizado para la sincronización en la inseminación artificial mejora la producción de partos en hembras sincronizadas con acetato de fluorogestona (FGA: 30 mg. Chrono-gest) comparativamente con ovejas sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP: 60 mg. Repromap) en esponjas (Cognie *et al.*,1978; Steffan *et al.*,1983; Hill *et al.*,1998). De acuerdo a los resultados reportados por Wilson y Maxwell, (1989) el porcentaje de partos también depende del mecanismo intravaginal utilizado para sincronizar el estro cuando es realizado en otoño (54.7% vs. 67.4% para CIDR vs. Esponjas, respectivamente), pero no es el caso para primavera (59.2 vs. 56.2% respectivamente).

4.9.3. Tipo de semen utilizado

La combinación de temperatura de conservación, composición química de los dilutores y control higiénico de la muestra, son los principales factores que afectan la sobrevivencia de los espermatozoides (Yoshida, 2000). La inseminación artificial puede realizarse utilizando semen fresco, refrigerado o congelado. Cuando se utiliza semen fresco permite obtener una mejor fertilidad, independientemente de la técnica de inseminación, aunque presenta la desventaja de transportarlo a grandes distancias, por lo cual esto puede limitar su utilización (Salamon y Maxwell, 1995a).

La conservación de semen en estado líquido puede lograrse con la reducción de la temperatura (5°C ó 15°C), que a su vez produce el descenso de la actividad metabólica y motilidad de los espermatozoides (Evans y Maxwell, 1990; Salamon y Maxwell, 1995a, 2000). Vivanco (1998) menciona que la motilidad del espermatozoide puede mantenerse después de la refrigeración, sin embargo, la viabilidad disminuye drásticamente después de 24 horas de almacenamiento.

El uso de semen congelado ofrece algunas ventajas en los programas de inseminación artificial, tales como un mayor tiempo de vida de los espermatozoides y el de facilitar el intercambio comercial de semen a nivel nacional e internacional (Gordon, 1997). Sin embargo, presenta también algunas desventajas, principalmente la baja fertilidad obtenida, independientemente del tipo de inseminación utilizada (Evans y Maxwell, 1990). Salamon y Maxwell (1995b) mencionan que estos bajos resultados en fertilidad se deben a daños causados por el proceso de congelamiento y descongelamiento.

4.9.4. Tipo de dilutor utilizado

El plasma seminal proporciona una protección limitada a los espermatozoides contra los cambios de temperatura, por lo tanto, los espermatozoides tienen un tiempo de vida limitada fuera del tracto reproductivo, y para su conservación se hace necesario adicionar un dilutor, cuyas funciones primordiales serán las de

proporcionar sustancias nutritivas, de controlar el pH y de proteger a los espermatozoides contra el “shock por frío” (Salamon y Maxwell, 1995a).

Los principales dilutores utilizados en el procesamiento de semen ovino para conservarlo en refrigeración a 15°C se basan en leche de vaca (entera o descremada), sin embargo, para conservarse a menores temperaturas se prefiere utilizar dilutores a base de Tris-citrato-glucosa y yema de huevo, además de una sustancia crioprotectora como el glicerol (Salamon y Maxwell, 2000). La adición del glicerol como crioprotector ocasiona una disminución en la presión osmótica, pudiendo utilizarse concentraciones altas del mismo, en combinación con yema de huevo. Los resultados obtenidos al utilizar dilutores con base en Tris-glucosa y yema de huevo, fluctúan entre 17 y 40% (Salamon y Maxwell, 2000).

4.9.5. Tiempo de inseminación

Los experimentos que han sido diseñados para determinar los índices de gestación resultantes después de inseminar una o más veces (Smith *et al.*, 1978; Langford *et al.*, 1983), a diferentes tiempos (Fieni *et al.*, 1991) y con diferentes tipos de semen (Killen y Moore; 1970; Cameron *et al.*, 1987; Hill *et al.*, 1998).

La relación del tiempo de inseminación artificial con los eventos endocrinológicos (liberación de LH) es muy importante. La variabilidad entre animales en el tiempo del estro después de la administración de un tratamiento

de sincronización, explica los bajos resultados en fertilidad en animales inseminados a un tiempo determinado después de la colocación de esponjas con progestágenos. Una reducción en la fertilidad de las hembras que entran en estro 30 o más horas después de tratamiento progestacional con esponjas, puede explicarse por la variabilidad en el tiempo de presentación del estro.

Robinson *et al.* (1989) mencionaron que el pico de secreción de LH estaba correlacionado con el inicio del estro, concluyendo que los eventos endocrinológicos y de comportamiento posteriores al tratamiento de sincronización son predecibles y precisos, y son dependientes de la hora en la que se aplicaron, además están influenciados por el contacto del macho.

Maxwell *et al.* (1984) y Findlater *et al.* (1991) reportaron mejores porcentajes de fertilidad al inseminar entre 54 y 60 h después de retirar las esponjas. Killen y Moore (1970) encontraron que en ovejas pueden obtenerse altas tasas de fertilización, al depositar el semen directamente en los cuernos uterinos o en las trompas de Falopio 48 h después del inicio del estro utilizando la inseminación por laparotomía. Estos mismos investigadores concluyeron que la inseminación cervical realizada 36 o más horas después de haber iniciado el estro, resulta en un completo fracaso para la fertilización. La superovulación puede afectar el transporte y viabilidad del espermatozoide después de la inseminación vaginal o cervical (Hawk *et al.*, 1987). La inseminación tardía es asociada con la anormal fertilización del huevo (Jabbour y Evans, 1991).

4.9.6. Dosis de espermatozoides

La inseminación intrauterina permite disminuir el número de espermatozoides depositados sin comprometer la fertilidad en comparación con la inseminación cervical (Hunter *et al.*, 1982).

En el Cuadro 1 se muestra la fertilidad obtenida al utilizar diferentes dosis y tipos de semen en programas de inseminación artificial en ovejas.

Cuadro 1. Fertilidad en ovinos al utilizar diferentes dosis y tipos de semen en programas de inseminación artificial.

Técnica de inseminación	Tipo de semen	Dosis (10 ⁶)	Fertilidad (%)	Referencia
Intrauterina por laparoscopia	Congelado	50	60.0	Fieni <i>et al.</i> 1991.
Cervical		200	52.0	
Monta natural			67.0	
Intrauterina por laparoscopia	Congelado	20	54.0	Maxwell <i>et al.</i> 1984.
Cervical	Fresco	100	71.0	
Intrauterina por laparotomía	Fresco sin diluir		70.0	More y Eppleston, 1979.
Cervical			52.0	
Vaginal	Fresco	250	44.0	Cameron <i>et al.</i> 1987.
Cervical			51.3	
Exocervical	Congelado	100	18.4	Maxwell y Hewitt, 1986.

El posible daño que sufre el espermatozoide, se debe de tomar en cuenta durante el transporte en la unión utero-tubal si el número de espermatozoides empleados es excesivamente bajo (Hunter *et al.*, 1982; Walker *et al.*, 1984).

Los resultados publicados por Maxwell *et al.* (1993) indicaron que la proporción de huevos fertilizados de hembras superovuladas después de la inseminación con bajo número de espermatozoides (0.1, 0.5, 1.0 millones de espermatozoides móviles totales) fue mejor cuando se depositaron en la unión utero-tubal (56%, 70% y 100%, respectivamente) que la inseminación intrauterina (0%, 11% y 40%, respectivamente). Los resultados indican que el mínimo número de espermatozoides descongelados móviles necesarios para una fertilidad satisfactoria después de la inseminación de hembras en estro sincronizado es de un millón.

Baril *et al.* (1993) encontraron que en ovejas y cabras, la fertilidad del semen líquido esta altamente correlacionada con el porcentaje de espermatozoides anormales en el semen. Cada 10% de aumento en los espermatozoides anormales corresponde a un 8% de disminución en la fertilidad de las hembras.

4.9.7. Sitio de la inseminación artificial intrauterina:

El sitio de la inseminación intrauterina puede ser un factor de influencia en la fertilidad. Evans y Armstrong. (1984) no encontraron un incremento debido al sitio (uno o ambos cuernos) de la inseminación sobre la tasa de fertilización de huevos en hembras superovuladas. Eppleston (1993) encontró que el depósito del semen en un cuerno uterino producía la misma fertilidad que si se aplicaba en ambos cuernos. En otro estudio realizado por Eppleston *et al.* (1994) el semen fue depositado en la mitad del cuerno uterino, y en el cuerpo uterino. El

porcentaje de huevos fertilizados después de la inseminación en el cuerpo uterino no fue significativamente diferente comparado con la inseminación en el cuerno uterino (45.2 y 37.5 %, respectivamente).

En el cuadro 2 se presentan resultados de la literatura indicando los índices de fertilidad obtenidos de acuerdo al sitio de depósito del semen en programas de inseminación artificial.

Cuadro 2. Porcentajes de fertilidad en ovinos de acuerdo al sitio de depósito del semen.

Técnica de inseminación	Sitio de deposito	Fertilidad (%)	Referencia
Intrauterina por laparotomía	Cuerpo	78.0	Killen y More, 1970.
	Cuerno	57.0	
Intrauterina por laparotomía	Cuerpo	81.0	Trounson y Moore, 1974.
	Cuerno	86.0	
Intrauterina por laparoscopia	Cuerno	60.3	Mieusset <i>et al.</i> 1992.
Intrauterina por laparoscopia	Cuerno	48.0	Windsor <i>et al.</i> 1994.

4.9.8. Estación

Las ovejas tienen una época reproductiva estacional; por lo cual en regiones templadas la actividad reproductiva es expresada durante el otoño y el invierno, de esta manera los corderos nacen en primavera, cuando las condiciones ambientales son adecuadas para su supervivencia (Notter, 2000). Los mecanismos que controlan la época de empadre dependen de factores que modulan la función del sistema nervioso central (Chemineau *et al.*, 1992;

Dahl *et al.*, 1995; Chemineau *et al.*, 1996). Las ovejas entran en estro durante el otoño y el invierno, presentando un anestro estacional durante primavera y verano (Webb *et al.*, 1992; Bartlewski *et al.*, 1999; Notter, 2000). Para el caso del carnero, la capacidad para producir semen y realizar la monta se mantienen durante todo el año, sin embargo, se presentan ciertas fluctuaciones en la capacidad reproductiva (Darbeida y Brudieux, 1980; González *et al.*, 1992, Fuentes *et al.*, 1997). Lo anterior origina variaciones en la calidad seminal, misma que es superior en otoño e invierno y baja durante primavera y verano. De este modo, en primavera y verano el volumen y densidad de esperma disminuyen, además de que es posible observar espermatozoides anormales con una disminución en la viabilidad (Lino, 1972). Colas y Guerin (1981) reportaron que el semen de los carneros Ile de France y Berrichon du Cher congelado en primavera, originó una fertilidad menor a la obtenida por el semen procesado en otoño.

Estudios sobre el congelamiento y fertilidad del semen colectado en la estación de cría y fuera de la estación de cría son contradictorios, algunos investigadores reportaron que el enfriamiento y el descongelado del semen fue mejor cuando se colectaba en la estación de cría (Corteel *et al.*, 1978; Salamon y Maxwell, 1995a; Salamon y Maxwell, 2000). Otros investigadores han reportado que no existen diferencias de fertilidad asociadas con la época en zona tropical (Summermatter y Flukiger, 1982).

Salamon y Maxwell. (2000) reportaron que la tasa de parición de hembras inseminadas con semen congelado durante la estación de cría fue significativamente más baja que la obtenida en ovejas inseminadas con semen colectado fuera de la estación de cría.

4.9.9. Semental

La fertilidad en el carnero es importante para determinar la proporción de hembras que van a concebir, ya que el éxito de un programa reproductivo en ovinos depende de la fertilidad de la hembra así como la del macho, el cual tiene que manifestar una buena actividad sexual y calidad seminal (Gordon, 1999). Estas características pueden verse afectadas por factores genéticos y ambientales (Vivanco, 1998). La examinación del semen en carneros jóvenes frecuentemente revela una densidad espermática pobre, así como anormalidades morfológicas y es aceptado por muchos autores como un índice de inmadurez (Thwaites y Hannan, 1989; Murray *et al.*, 1991; Martin *et al.*, 1994). La producción de semen en el carnero se inicia en la pubertad, pero hay que tomar en consideración que muchas de las razas de ovinos presentan estacionalidad obteniéndose mejores eyaculados en los meses con menor duración de horas luz (Martin y Banchemo, 1999). La nutrición es otro aspecto que influye de manera importante en el desarrollo testicular, el cual esta correlacionado con la producción de espermatozoides (Langford *et al.*, 1989).

4.9.10. Edad

El desarrollo sexual es afectado por factores ambientales y genéticos, y por la interacción entre éstos (Land, 1976). Quirke (1981) describe que existen

diferencias entre razas, condición corporal y edad de las hembras en la presentación del primer estro. Estas son variaciones genéticas entre individuos de la misma raza (Dyrmundsson, 1981). Las corderas cruzadas muchas ocasiones tienen mejor desarrollo reproductivo que las puras, por lo cual se indica que la heterosis contribuye a un desarrollo sexual temprano (Dickerson y Laster, 1975; Jakubec, 1977).

La presentación del estro en la hembra ovina dentro del primer año de vida, es sumamente variable ya que va de un 0 al 100%, dependiendo de la raza. Los efectos genéticos sobre la pubertad aun no son claros, ya que involucran factores ambientales como la nutrición y la estación de nacimiento (Cedillo *et al.*, 1977; Quirke, 1981;). La condición corporal favorece la aparición del primer estro en corderas que tendieron a exhibirlo más que aquellas que no lo hicieron dentro del primer año (Foster *et al.*, 1985; Suttie *et al.*, 1991; Adam *et al.*, 1998).

Existen evidencias de que la fertilidad, la prolificidad y el porcentaje de procreo mejoran al aumentar la edad en la oveja y posteriormente se presenta una disminución a partir del octavo parto (Azzarini y Ponzoni, 1972; Ainsworth y Shrestha, 1985). Dickerson y Glimp (1975) mencionaron que existen diferencias entre razas, y que la mayor fertilidad se observó entre los 4 y 6 años de edad (85 a 95%), no así en hembras de un año (45 al 75%) o en hembras de 9 años (60 a 80%). A la edad de 4 a 6 años los autores también encontraron mejor

respuesta para los parámetros: corderos nacidos por hembra, corderos nacidos vivos y corderos destetados.

4.9.11. Raza

Algunas razas han sido seleccionadas por prolificidad como la Finnish Landrace, Romanov, Boorola, Merino y más recientemente la D'man. Estas razas, sin embargo, aunque están en diferentes localizaciones geográficas no han sido sujetas a la misma intensidad de investigación (Piper y Bindon, 1982).

El componente genético y el origen racial diferencian notablemente las características de cada una de las razas, habiéndose descrito diferencias en la duración de la estación reproductiva incluso bajo latitudes similares. En ganado ovino las razas de carne más pesadas del norte de Europa, como la Suffolk, presentan una estacionalidad más marcada que otras razas de distribución mundial como la Merino, reconocida como una de las menos estacionales aun en latitudes similares. Las ovejas de pelo son diferentes a las de lana, ya que en su ambiente se presenta más luminosidad y en estudios comparativos sobre los efectos artificiales del fotoperíodo, latitud y estación de cría, no obtuvieron efectos significativos (Hafez 1952; López *et al.*, 2001). Otros estudios realizados en México y Venezuela (Castillo *et al.*, 1972; Navarro, 1972; González Reyna, 1977) han confirmado la no estacionalidad en la reproducción de ovejas Pelibuey.

4.9.12. Estrés

La reproducción es un importante sistema fisiológico para la supervivencia de las especies, y ha tenido éxito a pesar de la imposición de estímulos ambientales negativos, como el estrés. En el aspecto reproductivo, el estrés es la inhabilidad de un animal para reproducirse dentro de su medio ambiente (Dobson y Smith, 2000), y es un fenómeno que revela las fallas realizadas en el potencial genético de cada raza o de cada especie como: tasa de crecimiento, de producción láctea, resistencia a las enfermedades y fertilidad. Una de las hipótesis que ha sido avalada por varios investigadores es que existen dos mecanismos principales por los cuales la activación del eje Hipotálamo-Pituitario-Adrenal reduce la eficiencia sobre el eje Hipotálamo-Pituitario-Gonadal en situaciones de estrés. El primer mecanismo involucra la interferencia con los tiempos exactos en la secreción de GnRH controlada por neurotransmisores y el otro es la influencia negativa sobre las hormonas Hipotálamo-Pituitaria-Adrenales (principalmente la ACTH) sobre la acción de la GnRH en la pituitaria (Dobson y Smith, 1995).

Nanda *et al.* (1989) y Smart *et al.* (1994) mencionaron que el transporte retrasa la aparición de la oleada de LH en vacas y ovejas. Esto es más marcado si el transporte fue impuesto en el periodo temprano del posparto ó en más de la mitad de la estación de cría (Nanda *et al.*, 1990; Dobson y Nanda, 1992) Esto muestra un incremento exógeno en las concentraciones de ACTH (Phogat *et al.*, 1999b) o bien el transporte reduce la cantidad de LH liberada por cambios a las pequeñas dosis de GnRH (Phogat *et al.*, 1997, 1999 a,b; Dobson *et al.*,

1999). Otros tipos de estresores como el electroshock (Przekop *et al.*, 1988), hipoglucemia (Clarke *et al.*, 1990), e infección (Peter *et al.*, 1990) causan una disminución simultánea en la secreción de GnRH/LH.

El estrés es un factor que origina problemas de subfertilidad. La duración de un estrés crónico puede inducir que la pulsación de GnRH/LH sea baja al inicio del crecimiento folicular y puede detener el desarrollo a las siguientes fases que dependen de frecuencias pulsátiles rápidas, ocasionando que el animal no pueda mantener ciclos estrales y permanezca en anestro. En situaciones menos estresantes la frecuencia pulsátil de la GnRH/LH puede ser rápida y soportar el crecimiento folicular, pero esto tiene la susceptibilidad de interrumpirse o variar por otros estímulos; en este caso la integridad de las células de la granulosa y su oocito pueden estar comprometidos y durante el estró puede ocurrir la fertilización, pero la preñez falla durante su desarrollo (Doney *et al.*, 1976 a,b; Dobson y Smith, 2000).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización

El experimento se llevó a cabo durante los meses de mayo a diciembre de 1999, en el rancho "Chimalma" localizado en el Municipio de San José Iturbide, Guanajuato, ubicada a los 21°00' latitud norte y 100°23' longitud oeste, con una altitud de 2100 m. El clima de la región según la clasificación climática de Koppen modificada por García (1981) es templado en verano y frío en invierno, de tipo BS1 Kw (e) g. La temperatura y precipitación media anual son de 22°C, y 555 mm, respectivamente.

5.2. Animales

El experimento fue realizado utilizando 80 hembras primíparas F1 Dorper-Pelibuey. El rebaño fue dividido aleatoriamente en dos grupos de 40 animales, los cuales a su vez se subdividieron en dos grupos cada uno de 20 hembras. El peso promedio de los animales fue de 45 kg. Los animales permanecieron confinados, recibiendo una alimentación a base de alfalfa henificada y alimento concentrado conteniendo un 12% de proteína cruda, sales minerales y agua a libre acceso. El semen empleado se extrajo de dos machos adultos Dorper puros con edad de 3 años y un peso promedio de 100 kg cuyo semen fue evaluado en cuanto a sus características macroscópicas y microscópicas antes de la realización del experimento siguiendo las recomendaciones de Salamon y Maxwell (1995). La obtención del eyaculado fue realizada mediante vagina

artificial, utilizando eyaculados con una motilidad superior a 3 en un rango de 1 a 5 (Evans y Maxwell, 1990) y la dosis de semen utilizada fue de 100×10^6 células espermáticas. Los dilutores empleados son descritos a continuación:

Dilutor comercial: con base en agua tridestilada, glicerol, Tris, ácido cítrico, fructuosa, tylosina 5 mg, gentamicina 25 mg, espectinomicina 30 mg, lincomicina 15 mg y 20% de yema de huevo.

Dilutor experimental: compuesto por agua tridestilada, glicerol, Tris, ácido cítrico, fructuosa, penicilina 1000 000 UI, estreptomina 100 mg y 20% de yema de huevo.

5.3. Sincronización de estros

Las ovejas fueron sometidas a un programa de sincronización de estros utilizando esponjas intravaginales impregnadas con 30 mg de acetato de fluorogestona (FGA: Chrono-gest, Intervet). Las esponjas fueron colocadas durante 12 días, 48 horas antes de su remoción fueron administradas 500 UI de gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG: Folligon, Intervet).

5.4. Detección de estros

La detección de celos fue realizada con ayuda de machos enteros equipados con un mandil para evitar la cópula, iniciando 24 horas post-remoción de las esponjas, y posteriormente cada seis horas. Se determinó que la hembra estaba en estro cuando aceptó ser montada por el macho.

5.5. Inseminación artificial

La preparación de los animales para la inseminación artificial por laparoscopia, fueron privadas de agua y comida 12 horas antes de llevar a cabo la inseminación con el fin de reducir el contenido ruminal y poder localizar mas rápidamente el útero y evitar la regurgitación. La inseminación artificial se llevó a cabo 12 horas después de la detección del estro. Antes de realizar la inseminación, el vientre de las ovejas fue rasurado y lavado en una área de 10 a 12 cm delante de la ubre hacia la parte anterior, y la piel fue esterilizada con yodo al 5%. El tren posterior de las hembras fue levantado en un ángulo de 75° utilizando una camilla especial para inseminación artificial. Se administraron 5 ml de anestesia local (Xilocaína al 2 %, Astra) vía subcutánea, aproximadamente de 3 a 5 cm de la parte anterior de la ubre, y de 3 a 4 cm a cada lado de la línea media, teniendo cuidado en no lesionar los vasos sanguíneos. El trocar, la cánula y el telescopio utilizados en la operación, fueron inmersos en una solución antiséptica (Cloruro de Benzalkonio al 1%), posteriormente fue provocado el neumoperitoneo. En seguida, el trocar y el explorador fueron insertados en la cavidad peritoneal al lado izquierdo y derecho de la línea media (Chemineau y Cognié, 1991).

5.6. Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación fue realizado 60 días después de la inseminación artificial utilizando un equipo de ultrasonido (Sonovet 600, Medison) con un transductor convexo de 3.5 MHz. El diagnóstico se determinó positivo al observar la presencia de líquidos en los cuernos uterinos dilatados,

placentomas y por la presencia de los fetos (García *et al.*, 1993; Quintela *et al.*, 1999).

5.7. Variables de respuesta

La incidencia de estros fue definida como el número de hembras que manifestaron comportamiento de estro con relación al número de animales que recibieron tratamiento. La distribución de estros se determinó mediante el número de ovejas que entraron en estro en cada detección. La fertilidad fue determinada como el número de hembras paridas entre el número de ovejas inseminadas. La prolificidad se determinó considerando el número de corderos nacidos con respecto al número de ovejas paridas.

5.8. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el procedimiento logístico incluido en el paquete computacional SAS (1998), empleando un modelo estadístico que consideró los dos dilutores (comercial y experimental) y los dos machos utilizados. La interacción entre estos dos factores no fue significativa ($P > 0.05$).

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$\ln(\pi/1-\pi) = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2; \pi = \exp(\alpha + \beta^1 x^1 + \beta^2 x^2) / [1 + \exp(\alpha + \beta^1 x^1 + \beta^2 x^2)],$$

$$\text{y } 1-\pi = 1 / [1 + \exp(\alpha + \beta^1 x^1 + \beta^2 x^2)],$$

$$\pi_i = p(y=1 | x_1, x_2) \text{ y } 1-\pi = P(y=0 | x_1, x_2)$$

Donde:

$\pi_i = p(y = 1 | x_1, x_2)$ = La probabilidad de que la hembra quede gestante (fertilidad) o tenga una cría (prolificidad),

$1-\pi = P(y=0 | x_1, x_2)$ = La probabilidad de que la hembra no quede gestante (fertilidad) o tenga más de una cría (prolificidad),

y x_1 y x_2 = son las variables explicativas tipo de dilutor y macho respectivamente.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Incidencia y distribución de celos

El 90% (80/90) del total de los animales tratados presentaron estro. El 55% (44/80) exhibieron estro a las 24 horas, el 20% (16/80) a las 30 horas y el 25% restante (20/80) exhibieron estro a las 36 horas. Los resultados de incidencia de estros posremoción de la esponja son similares a los reportados por Fukui *et al.* (1985) y por Rangel *et al.* (1997) quienes mencionan resultados de 95% de incidencia de celos en ovejas Pelibuey; de la misma manera Núñez (1999) mencionó que para las razas Suffolk y Criolla puede ser alcanzado hasta el 100% de celos en el programa de sincronización.

El tiempo promedio desde la remoción de la esponja hasta la manifestación del estro (30 h) es inferior a los reportados por Ávila *et al.* (1997) de 47.2 h y Rangel *et al.* (1997) de 34.3 h. Núñez (1999) menciona que las diferencias en los tiempos promedios y distribución de estros entre las razas puede ser originada por diferencias en condición corporal entre animales y diferencias en calidad de alimento ofrecido; sin embargo, en el presente estudio los animales tenían una condición corporal similar y fueron sometidos al mismo régimen de alimentación. Sánchez (2001) reportó 100% de celos entre las 24 a 36 horas posremoción de la esponja, lo cual concuerda con lo reportado en este estudio. Jabbar *et al.* (1994) reportan porcentajes de sincronización de celos del 97% al sincronizar con FGA en ovejas primaras, confirmando los resultados en el presente estudio.

6.2. Fertilidad

Los resultados de fertilidad se presentan en el Cuadro 3; no existieron diferencias significativas ($P>0.05$) al utilizar el dilutor comercial (82.5%), y el dilutor experimental (77.5%), y no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los machos utilizados.

Cuadro 3. Fertilidad en ovejas F1 Dorper-Pelibuey en función del dilutor y macho

Variables Independientes	No. ovejas inseminadas	No. ovejas paridas	Fertilidad (%)
Dilutor 1	40	33	82.5 a
Dilutor 2	40	31	77.5 a
Macho 1	40	32	80.0 a
Macho 2	40	32	80.0 a

Literales diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P<0.05$)

Los resultados del presente estudio son ligeramente inferiores a los reportados por Fiser *et al.* (1987) quienes reportaron porcentajes de 90% para semen fresco al utilizar el mismo protocolo de sincronización de estros. Visser y Salamon (1973), reportaron porcentajes de 66% para semen fresco utilizando dilutores a base de Tris-glucosa-yema de huevo. Por otro lado, los índices de fertilidad del presente trabajo son superiores a los reportados por Córdova *et al.* (1989), quienes encontraron niveles de fertilidad entre 70.1 y 76.1% al utilizar dos distintos dilutores para semen fresco. De la misma manera Colas (1975) reportó diferencias significativas ($P<0.05$) entre dilutores para semen congelado (42.2% vs 73.5%).

Ainsworth y Wolynetz (1982) reportan porcentajes de fertilidad de 67 y 26% para ovejas multíparas y primíparas, respectivamente. El estudio fue realizado en mayo y la sincronización se realizó con esponjas impregnadas de MAP. Colas (1979) reportó niveles inferiores de fertilidad al utilizar inseminación intrauterina por laparoscopia (53 y 77%) en las razas Ile-de-France y Préalpes, respectivamente, al utilizar semen fresco y durante la época no reproductiva.

Núñez *et al.* (1999) mencionan tasas de gestación de 58.06 y 62.96% al utilizar dos machos de la raza Suffolk y semen fresco con dosis de 200×10^6 células espermáticas por dosis. Estos resultados son menores a los obtenidos en este estudio.

Fukui *et al.* (1985) reportan fertilidades de 42% como máximo y 15% como mínimo, al utilizar semen fresco, pero en época de anestro y al variar el tiempo de inyección de eCG. Los resultados indican que la época del año interviene directamente en la fertilidad debido a la calidad seminal baja de los machos durante la época de anestro.

Porcentajes de fertilidad de 88 y 82% son reportados por Langford *et al.* (1982), al utilizar dos dilutores para semen fresco a base de leche descremada y Tris-fructosa-ácido cítrico, respectivamente. Lo anterior es similar a los resultados obtenidos en este estudio. De la misma manera Visser y Salamon (1973) mencionan que incrementando el número de espermatozoides móviles y realizando inseminaciones dobles puede incrementarse el nivel de fertilidad, al realizar inseminación intrauterina con semen congelado. Los autores

encontraron fertilidades de 35 y 38.6%, cuando utilizaron concentraciones espermáticas bajas y altas, respectivamente.

La fertilidad no es afectada por la edad de las ovejas, según Flores *et al.* (1991) quienes mencionan que cuando se utiliza sincronización de estros e inseminación artificial, la edad no es un factor limitante para alcanzar niveles altos de fertilidad en ovejas jóvenes o adultas. En el presente estudio se obtuvo un porcentaje promedio de 80% en ovejas primíparas, el cual es superior al reportado por Uribe (1997) y Sánchez (2001), quienes mencionan porcentajes de 68.1 y 66.7% en ovejas primíparas de las razas Pelibuey y Suffolk, respectivamente.

6.3. Prolificidad

En el Cuadro 4 se muestran los resultados de prolificidad de las ovejas primíparas F1 Dorper-Pelibuey, inseminadas con semen fresco. No existieron diferencias significativas ($P>0.05$) entre dilutores ni entre los dos machos Dorper utilizados.

Cuadro 4. Prolificidad de ovejas F1 Dorper-Pelibuey en función del dilutor y del macho

Dilutor	Macho	No. de Hembras	Partos sencillos		Partos múltiples		Prolificidad
			No.	(%)	No.	(%)	
Triladyl	1	16	8	(50)	8	(50)	1.56 $\pm$ 0.60 a
	2	17	7	(41)	10	(59)	1.58 $\pm$ 0.25 a
	1	16	10	(59)	6	(37.5)	1.43 $\pm$ 0.16 a
Experimental	2	15	6	(40)	9	(60)	1.60 $\pm$ 0.21 a

Literales diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Los porcentajes de prolificidad fueron inferiores a los reportados por Steffan *et al.* (1983) quienes reportaron porcentajes de 1.87 y 1.76 para MAP y FGA respectivamente, al realizar la inseminación artificial en ovejas primaras F1 Romanov x Berrichon. Lo anterior puede explicarse debido a que estos autores utilizaron la raza Romanov que es una raza prolífica y además los animales fueron sometidos a una buena alimentación.

Ávila (2001) reportó prolificidades de 1.82 y 1.73 en ovejas Pelibuey tratadas con FGA y MAP, respectivamente. Estos resultados son ligeramente superiores a los encontrados en el presente estudio, lo cual puede deberse al efecto de la raza y no al tipo de tratamiento. Romano *et al.* (1996) reportaron un marcado efecto de la aplicación de PMSG y tiempo de inseminación. Los mayores porcentajes de prolificidad se encontraron al aplicar PMSG e inseminar a las 60 horas de retirada la esponja (1.18) en comparación con ovejas que no recibieron PMSG y se inseminaron a las 48 horas (1.12).

Sánchez (2001) reportó prolificidades de 1.62 para ovejas primaras y 1.90 para ovejas multíparas de la raza Pelibuey. El mismo autor atribuye este resultado al efecto de la PMSG. La relativa menor prolificidad de ovejas jóvenes puede deberse a una menor tasa de ovulación y a una menor capacidad de desarrollo de los embriones producidos por dichas ovejas (Windsor, 1994). Lo anterior resulta similar a lo obtenido en el presente estudio.

Eppleston y Maxwell (1995) mencionan que existen variaciones en cuanto a prolificidad cuando se utilizan varios carneros en un mismo programa de inseminación. De la misma manera Rangel *et al.* (2000) menciona que se debe considerar al semental y no sólo a la hembra cuando se intente incrementar los niveles de eficiencia reproductiva en programas de inseminación artificial.

La calidad de los eyaculados en función de la época de recolección afecta de manera importante los niveles de prolificidad que se pueden alcanzar. En un estudio realizado por Colas (1979) encontró que en la época reproductiva los eyaculados son de mejor calidad y obtuvo porcentajes de prolificidad de 1.85 en ovejas Ile-de-France, mientras que en la época no reproductiva se observó una disminución tanto en la calidad del semen como en la prolificidad (1.71).

7. CONCLUSIONES

a) No se encontraron diferencias significativas en fertilidad y prolificidad entre dilutores.

b) No se encontraron diferencias significativas en fertilidad y prolificidad entre sementales.

8. LITERATURA CITADA

- Abdel-Rahman, H. A., El-Belely, M. S., Al-Qarawi, A. A. and El-Mougy, S. A. 2000. The relationships between semen quality and mineral composition of semen in various rams breeds. *Small Ruminant Research*. 38:45-49.
- Adam, C. L., Findlay, P. A., Kyle, C. E. and Young, P. 1998. Effect of restricted nutrition in timing of puberty in female Soay sheep. *J. Reprod. Fert.* 112:31-37.
- Ainsworth, L. and Wolynetz, M. S. 1982. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestogens administered by subcutaneous implant or by intravaginal sponge pessary. *J. Anim. Sci.* 54:1120-1127.
- Ainsworth, L. and Shrestha, J. N. B. 1985. Effect of PMSG dosage on the reproductive performance of adult ewe and ewe lambs bred at a progestagen – PMSG synchronized estrus. *Theriogenology* 24:249-487.
- Arendt, J., Symons, A. M., Laud, C. A. and Pryde, S. J. 1983. Melatonin can induce the early onset of the breeding season in ewes. *J. Endocrinol.* 97:395-400.
- Armstrong, D. T., Pfitzner, A. P., Warnes, G. M. and Seamark, R. F. 1982. Ovarian response of anoestrus goats to simulation with pregnant mare serum gonadotrophin. *Theriogenology* 5:15-23.
- Armstrong, D.T. and Evans, G. 1984. Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. *J. Reprod. Fert.* 71:89-94.
- Ávila, O. J. G., Rangel, S. R., Echegaray, T. J. L., Apodaca, S. C. y Ayala, O. J. 1997. Efecto de dosis de PMSG en la sincronización de celos de ovejas Criollas. IX Congreso Nacional de Producción Ovina. AMTEO-UAQ. Santiago de Querétaro, México. Pp. 88-90.
- Ávila, O. J. G. 2001. Comparación de dos progestágenos en la sincronización de celos en ovejas Pelibuey. Tesis de Maestría en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo México. Pp. 68.
- Azzarini, M. y Ponzoni, R. 1972. La fertilidad y fecundidad de las ovejas . En: Aspectos Modernos de la Producción Ovina. Fac. Agr. Univ. Montevideo. Uruguay Pp 20-24.
- Azzarini, M. y Valledor, F. 1987. Inseminación intrauterina con semen congelado en ovejas. *Biol. Tec. Ovinos y Lanas*. 16:7-14.

- Azzarini, M. y Valledor, F. 1988. Inseminación intrauterina o cervical con semen congelado o fresco en ovejas en celo natural. *Prod. Ovina* 1:1-8.
- Baird, D. T., Baker, T. G., McNatty, K. P. and Neal, P. 1975. Relationship between the secretion of the corpus luteum and the length of the follicular phase of the ovarian cycle. *J. Reprod. Fert.* 45:611-619.
- Baird, D. T. and Scaramuzzi, R. J. 1975. Prostaglandin F2 alpha and luteal regression in the ewe: comparison with 16 aryloxyprostaglandin (ICI 80996). *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 15:161-174.
- Baird, D. T. and Scaramuzzi, R. J. 1976. Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary luteinizing hormone in the peri-ovulatory period in the ewe: effect of progesterone. *J. Endocrinol.* 70:237-245.
- Baird, D. T. and McNeilly, A. S. 1981. Gonadotrophic control of follicular development and secretion in sheep and cattle. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 30:119-133.
- Baril, G., Chemineau, P., Cognie, Y., Leboeuf, B., Orgeur, P. and Vallet, J. C. 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle ches les ovins et les caprins. FAO. Pp 1-231.
- Bartlewski, P. M., Beard, A. P., Cook, S. J., Chandolia, R. K., Honaramooz, A. and Rawlings, N. C. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J. Reprod. Fert.* 115:111-124.
- Bartlewski, P. M., Beard, A. P. and Rawlings, N. C. 1999. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 57:51-66.
- Bindon, B. M., Blanc, M. R., Pelletier, J., Terqui, M. and Thimonier, J. 1975. Preovulatory gonadotrophin and ovarian steroid changes in French sheep breeds different in fecundity. Does FSH stimulate follicles. *Proc. Endocr. Aust.* 18 th Annu. Meet 18:64 (Abstract).
- Bindon, B. M., Blanc, M. R., Pelletier, J., Terqui, M. and Thimonier, J. 1979. Perioovulatory gonadotropin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with different fecundity. *J. Reprod. Fert.* 55:15-25.
- Bodin, L., Elsen, J. M., Hanocq, E., Francois, D., Lajoust, D., Manfredi, E., Mialon, M. M., Boichard, D., Foolley, J. J., San Cristobal-Gaudi, M., Teyssier, J., Thimonier, J. and Chemineau, P. 1999. Genetique de la reproduction ches les ruminants. INRA. *Prod. Anim.* 12:87-100.

- Boland, M. P., Gordon, I. and Kellher, D. 1978. The effect of treatment by prostaglandin analogue (161-80-996) or progestagen (sc 9880) on ovulation and fertilization in the cyclic ewe. *J. Agric. Sci. Cambridge*. 91:727-730.
- Boland, M. P., Crosby, T. F. and Gordon, I. 1981. Effect of mating management and PMSG dose level on lambing outcome in ewes bred in late anoestrus. *J. Agric. Sci. Cambridge*. 97:445-447.
- Brebion, P., Baril, G., Cognie, Y. and Vallet, J. L. 1992. Transfer D embryos chez les ovins et les caprins. *Ann. Zootech.* 41:331-339.
- Cahill, L. P., Mariana, J. C. and Mauleon, P. 1979. Total ovarian follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *J. Reprod. Fert.* 55:27-36.
- Cahill, L. P. and Mauleon, P. 1980. Influences of season cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *J. Reprod. Fert.* 58:321-328.
- Cahill, L. P. 1981. Folliculogenesis in the sheep as influenced by breed season and oestrus cycle. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 30:135-142.
- Cameron, A. W. N., Tilbrook, A. J., Lindsay, D. R., Fairnier, I. J. and Keogh, E. J. 1987. The number of spermatozoa required binaturally mated ewes and the hability of rams to met these requirements. *Anim. Reprod. Sci.* 13:91-104.
- Campbell, B. K., Scaramuzzi, R. J. and Webb, R. 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J. Reprod. Fert. Suppl* 49:335-350.
- Campbell, J. W., Harvey, T. G., McDonald, M. F. and Sparksman, R. I. 1996. Transcervical insemination in sheep. Anatomical and histological evaluation. *Theriogenology* 45:1535-1544.
- Caraty, A., Locatelli, A. and Martin, G. B. 1989. Biphasic response in the secretion of gonadotrophin-releasing hormone in ovariectomized ewes injected with estradiol. *J. Endocrin.* 123:375-382.
- Caraty, A., Evans, N. P. and Fabre-Nys, C. J. 1995. The preovulatory gonadotrophin-releasing hormone surge: a neuroendocrine signal for ovulation. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 49:245-255.
- Castillo, H., Valencia, M. y Berruecos, J. M. 1972. Comportamiento reproductivo del borrego Tabasco mantenido en clima tropical y subtropical. I. Indices de fertilidad. *Tec. Pec. Mex.* 20:52-56.

- Cedillo, R. M., Hohenboken, W. and Drummond, J. 1977. Genetics and environmental effects on age at first estrus and on wool and lamb production of crossbred ewe lambs. *J. Anim. Sci.* 44:948-957.
- Chemineau, P. and Cognie, Y. 1991. Training Manual on Artificial Insemination in Sheep and Goats. FAO 83. Animal Production and Health Paper, pp. 143-163.
- Chemineau, P., Malpaux, B., Delgadillo, J. A., Guering, Y., Ravault, J. P., Thimonier, J. and Pelletier, J. 1992. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 30:157-184.
- Chemineau, P., Cognie, Y. and Heyman, Y. 1996. Maitrise de la reproduction des mammifères d'élevage. INRA. Prod. Anim. Hors Serie. pp 5-15.
- Chemineau, P., Malpaux, B., Guering, Y., Maurice, F., Daveaux, A. and Pelletier, J. 1992. Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins. *Ann. Zootech.* 41:247-261.
- Christenson, R. K. 1976. Effect of short-term progestagen treatment on induction of oestrus and lambing in anoestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 43:795-801.
- Christenson, L. K. and Stouffer, R. L. 1997. FSH and LH/hCG stimulation of vascular endothelial growth factor production by macaque granulosa cells from pre and periovulatory follicles. *J. Clin. Endocr. Met.* 82:2135-2142.
- Clarke, I. J., Horton, R. J. E. and Doughton, B. W. 1990. Investigation of the mechanism by which insulin-induced hypoglycemia decreases luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology* 127:1470-1476.
- Cognie, Y., Mariana, J. C. and Thimonier, J. 1970. Etude du moment d'ovulation chez la brebis normale ou traitée par un progestagène associé ou non à une injection de PMSG. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 10:15-24.
- Cognie, Y., Salleras, J. M. and Siera Alfranca, I. 1978. Intensificación reproductiva mediante métodos hormonales en ovejas de raza Manchega y cruce de Cadzón X Manchega. 1. Incidencia de la lactación sobre la fertilidad. *Ann. Fac. Vet. Zaragoza. España* 11:625-640.
- Cognie, Y. y Mauleon, P. 1989. Control de la reproducción de la oveja. En: Haresing W. Producción Ovina, Agt. editores, pp.397-408.
- Cohen-tannouji, J., Locatelli, A. and Signoret, P. 1986. Non-pheromonal stimulation by the male of LH release in the anestrous ewe. *Physiology & Behav.* 3:921 (Abstracts),

- Colas, G. 1975. Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep-frozen ram semen. *J. Reprod. Fert.* 42:277-285.
- Colas, G. 1979. Fertility in the ewe after artificial insemination with fresh and frozen semen at the induced oestrus, and influence of the photoperiod on the ram. *Livestock. Prod. Sci.* 6:153-166.
- Colas, G. and Guerin, Y. 1981. A new method for thawing frozen semen. *Theriogenology* 16:623-630.
- Cole, H. H. and Hart, G. H. 1932. The potency of blood serum mares in progressive stage of pregnancy in effecting sexual maturity of the immature rat. *Am. J. Physiol.* 93:57-62.
- Córdova, M., Feldman, D., Valencia, J. y Ortiz, A. 1989. Fertilidad de ovejas inseminadas utilizando dos diluyentes para semen fresco. *Vet. Méx.* 20:419-423.
- Corteel, J. M., Baril, G., Leboeuf, B. and Marcellier, N. 1978. Voies disponibles pour augmenter l'utilisation des meilleurs boucs. In. 4eme journees Rech. Ovine et caprine INRA-ITOVIC, Paris. pp 358-366.
- Crosby, T. F., Boland, M. P. and Gordon, I. 1991. Effect of progestagen treatment on the incidence of oestrus and pregnancy rate in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 45:177-180.
- Cruz, C., Ramírez, B. y Fernández-Baca S. 1982. Características reproductivas del ovino Tabasco: actividad ovárica posparto y ciclos estrales. [Reproductive characteristics of the Tabasco sheep: Ovarian activity and Oestrus cycles]. *Memorias, VIII Congreso Nacional de Buiatría, Veracruz, México.* Pp 485-488.
- Cumming, I. A., Brown, J. M., Blockey, M. A., De B., Winfield, C. G., Baxter, R. and Goding, J. R. 1971. Constancy of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 24:134-135.
- Cunningham, N. F., Symons, A. M. and Saba, N. 1975. Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the oestrus cycle. *J. Reprod. Fert.* 45:177-180.
- D'Occhio, M. J., Jillella, D. and Lindsey, B. R. 1999. Factors that influence follicle recruitment, growth and ovulation during ovarian superstimulation in heifers: opportunities to increase ovulation rate and embryo recovery by delaying the exposure of follicles to LH. *Theriogenology* 51:9-35.

- Dahl, A. P., Evans, E. P., Thurn, L. A. and Karsch, F. J. 1995. Thiroxine is permissible to seasonal transition in reproductive neuroendocrine activity in the ewe. *Biol. Reprod.* 52:690-696.
- Darbeida, H. and Brudieux, R. 1980. Seasonal variation in plasma testosterone and dyhidrotestosterone levels and in metabolic clearance rate of testosterone in rams in Algeria. *J. Reprod. Fert.* 59:229-235.
- Dickerson, G. E. and Glimp, H. A. 1975. Breed and age effects on lamb production of ewes. *J. Anim. Sci.* 40:397-408.
- Dickerson, G. E. and Laster, D. B. 1975. Breed, heterosis and environmental influences on growth and puberty in ewe lambs. *J. Anim. Sci.* 41:1-19.
- Dobson, H. and Nanda, A. S. 1992. Effect of transport on LH surge release induced by estradiol in ewes. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 43:307-308.
- Dobson, H. and Smith, R. F. 1995. Stress and reproduction in farm animals. *J. Reprod. Fert.* 49:451-461.
- Dobson, H., Tebble, J. E., Phogat, J. B. and Smith, R. F. 1999. Effect of transport on pulsatile and surge secretion of LH in ewes in the breeding season. *J. Reprod. Fert.* 116:1-8.
- Dobson, H. and Smith, R. F. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction?. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:743-752.
- Doney, J. M., Gunn, R. G., Smith, W. F. and Carr, W. R. 1976. Effects of pre-mating environmental stress, ACTH, Cortisone acetate or metyrapone on oestrus and ovulation in sheep. *J. Agric. Sci.* 87:127-132.
- Doney, J. M., Smith, W. F. and Gunn, R. G. 1976b. Effects of post-mating environmental stress or administration of ACTH on early embryonic loss in sheep. *J. Agric. Sci.* 87:133-136.
- Downing, J. A. and Scaramuzzi, R. J. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 43:209-227.0
- Driancourt, M. A., Fry, R. C., Clarke, I. J. and Cahill, L. P. 1987. Follicular growth and regression during the 8 days after hypophysectomy in sheep. *J. Reprod. Fert.* 79:635-644.
- Driancourt, M. A. 1991. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* 35:55-79.

- Driancourt, M. A. 1999. Crecimiento folicular en los animales domésticos. En: Memoria del curso Internacional : Fisiología de la Reproducción en Rumiantes. 8-10 de Septiembre. México. Pp.78-94.
- Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55:1211-1239.
- Duane, H. K. 1992. Manipulación hormonal de la reproducción en ovejas. En: Memorias del Seminario Internacional: Avances Recientes en la Producción Ovina. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. Pp. 73-88.
- Dufour, J. J., Cahill, L. P. and Mauleon, P. 1979. Short and long-term effects of hypophysectomy and unilateral ovariectomy on ovarian follicular populations in sheep. *J. Reprod. Fert.* 57:301-309.
- Dyrmundsson, O. R. 1981. Natural factors affecting puberty and reproductive performance in ewe lambs: A review. *Livestock. Prod. Sci.* 8:55-65.
- Dziuk, P. J. and Bellow, R. A. 1983. Management of reproduction of beef cattle, sheep and pigs. *J. Anim. Sci. Suppl* 2: 355-379.
- Ebling, F. J. P. and Hastings, M. A. 1992. The neural of seasonal reproduction. *Ann. Zootech.* 41:239-346.
- Echternkamp, S. E., Bolt, D. T. and Hawk, H. W. 1976. Ovarian and pituitary hormone in blood of progestagen-treated ewe. *J. Anim. Sci.* 42:893-900.
- Eppleston, J. 1993. Studies on the fertility of frozen-thawed ram semen. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 23:130 (Abstract).
- Eppleston, J., Salamon, S., Moore, N. W. and Evans, G. 1994. The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relationship to the fertility of frozen-thawed ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 36:211-225.
- Eppleston, J. and Maxwell, W. M. C. 1995. Sources of variation in the reproductive performance of ewes inseminated with frozen-thawed semen by laparoscopy. *Theriogenology* 43:777-788.
- Erickson, B. H. 1996. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J. Anim. Sci.* 25:800-805.
- Evans, A. C. O., Adams, G. P. and Rawlings, N. C. 1994. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J. Reprod. Fert.* 102:463-470.

- Evans, A. C. O., Komar, C. M., Wandji, S. A. and Fortune, J. E. 1997. Changes of androgen secretion and luteinising hormone pulse amplitude are associated with recruitment and growth of ovarian follicle during the luteal phase of the bovine oestrus cycle. *Biol. Reprod.* 57:394-401.
- Evans, G. and Robinson, T. 1980. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestogen PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *J. Agric. Sci.* 94:69-88.
- Evans, G. and Armstrong, D. T. 1984. Reproduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. *J. Reprod. Fert.* 70: 47-53.
- Evans, G. y Maxwell W. M. C. 1990. *Inseminación Artificial en Ovejas y Cabras*. Ed. Acribia, 4^{ta}. Ed. Zaragoza España. Pp. 1-192.
- Evans, G. 1991. Application of reproductive technology to the Australian livestock industries. *Reprod. Fertil. Dev.* 3:627-650.
- Evans, H. M., Simpson, M. E., Tolksdorf, S. and Gensen, H. 1932. Biological studies of gonadotrophic principles in sheep pituitary substance. *Endocrinology* 25:529-546.
- Fair, T., Hyttel, P. and Greve, T. 1995. Bovine oocyte diameter in relation to maturational competence and transcriptional activity. *Mol. Reprod. Dev.* 42:437-442.
- Fayez, M. M. y Owen, J. B. 1974. *Nuevas Técnicas de producción ovina*. Ed. Acribia Zaragoza España. Pp.101-112.
- Fieni, F., Buggin, M., Tainturier, D., Bach-Lijour, B., Bruyas, J. F. and Daubie, M. 1991. Study of the best hour for intrauterine insemination in young dairy goat after hormonal induction of oestrus. *Theriogenology* 35:200 (Abstract).
- Findlater, R.C. F., Haresing, W., Curnock, R. M. and Beck, N. F. G. 1991. Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates. *Anim. Prod.* 53:89-96.
- Findlay, J. K. and Cumming, I. A. 1976. FSH in the ewe: effects of season, live weight and plane of nutrition on plasma FSH and ovulation rate. *Biol. Reprod.* 15:335 – 342.
- Fiser, S. P., Ainsworth, L. and Fairtull, W. R. 1987. Evaluation of new diluents and different processing procedures for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology* 28:599-607.

- Fitzgerald, J., Michel, F. and Buttler, W. R. 1982. Growth and sexual maturation in ewes: dietary and seasonal effects modulating luteinising hormone secretion and first ovulation. *Biol. Reprod.* 27:864-870.
- Flynn, J. D., Duffy, P., Boland, M. P. and Evans, A. C. O. 2000. Progestagen synchronization in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 62:285-296.
- Foster, D. L. and Olster, D. H. 1985. Effect of restricted nutrition on puberty in the lamb: Patterns of tonic luteinizing hormone (LH) secretion and competency of the LH surge system. *Endocrinology* 116:375-381.
- Fowler, P.A. and Price, C.A. 1997. Follicle stimulating hormone stimulates circulating gonadotropin-surge-attenuating/inhibiting factor bioactivity in cow. *Biol. Reprod.* 57:278-285.
- Flores, M. L. M., Cuadra, S. C., Trejo, G. A., Lima, C. M. y Ramírez, B. E. 1991. Comparación de la fertilidad y prolificidad en ovejas adultas encastadas de razas cara negra, inducidas al estro utilizando dos dosis de PMSG e inseminación a tiempo fijo con semen fresco. *In: Memorias del IV Congreso Nacional de Producción Ovina*. San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. Pp. 171-177.
- Fuentes, J. L. y Perón, N. 1996. Efecto de la época del año sobre la tasa ovulatoria y niveles de progesterona sanguínea en ovejas Pelibuey. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 22:27-29.
- Fuentes, V., Sánchez, V., González, A., García, A. y Rosiles, R. 1997. La función endocrina del testículo en el carnero criollo mexicano durante las diferentes épocas del año y su control opioidérgico durante el estro. *J. Vet. Med.* 44:259-263.
- Fukui, Y., Kobayashi, M., Kojima, M. and Ono, H. 1985. Effects of time of PMSG and fixed-time GnRH injections on estrus incidence and fertility in physiologically different ewes pre-treated with progestogen-impregnated vaginal sponge during the nonbreeding season. *Theriogenology* 24:631-641.
- Gallegos, S. J., Pérez, H. P. y Albarran, A. 1999. Neuroendocrinología del ciclo reproductivo de la oveja. *In: Memorias del Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. 8, 9 y 10 de septiembre. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México, pp.1-26.
- García, A., Neary, M. K., Kelly, G. R. and Pierson, R. A. 1993. Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. *Theriogenology* 39:847-861.

- García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Koppen. Instituto de Geografía. Universidad Autónoma de México, pp.255.
- Gerard, N. 1999. Development folliculaire terminal: evolution biochimique du follicle . INRA. Prod. Anim. 12:336-338.
- Ghalsasi, P. M. and Nimbkar, C. 1996. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. Small Ruminant Research. 23:69-73.
- Ginther, O. J., Wietbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. R. and Kot, K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. Biol. Reprod. 55:1187-1194.
- Goding, J. R., Catt, K. J., Brown, J. N., Kaltenbach, C. C., Cuminng, I. A. and Mole, B. J. 1969. Radioimmunoassay for ovine luteinizing hormone. Secretion of luteinizing hormone during estrus and following estrogen administration in the sheep. Endocrinology 85:133-142.
- Goding, J. R. 1973. The demonstration that PGF2 alpha is the uterine luteolysin in the ewe. Endocrinology 21:133-142.
- Gonzalez, A., Fuote, W. C., Murphy, B. D. and Ortega, E.1992. Seasonal variation in circulating testosterone and luteinizing hormone in Pelibuey lambs. Small Rum. Res. 52:233-243
- González-Bulnes, A., Santiago-Moreno, J., García-García, R. M., Del Campo, A. A., Gomez-Brunet, A. and López-Sebastián, A. 2001. Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis Gemelinis Musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrous cycle. Anim. Reprod. Sci. 65:265-272.
- González Reyna, A. 1977. Reproduction in Pelibuey sheep in the Mexican Tropic, M. Sc. Thesis, Utah State University, Logan, Utah, USA. Pp.93.
- González Reyna, A., Valencia, M. J., Foote, W. C. and Murphy, B. D. 1991. Hair sheep in Mexico: Reproduction in the Pelibuey or Tabasco sheep. Anim. Breed. Abst. 59:509-524.
- González, S. C. 1983. Commercial hair sheep in a semiarid region of Venezuela. In: Hair sheep of Western Africa and the Americas: A genetic resource for the tropics. (edited by Fitzhugh and G.E. Bradford). Boulder, Colorado, USA: Westview Press. pp.85-104.
- Gordon, I. 1975. The use of progestagens in sheep bred by natural and artificial insemination. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 15:1303-315.

- Gordon, I. 1997. Reproduction in sheep and goats. Vol. 2 CAB. International. NY. USA. Pp:53-77.
- Gordon, I. 1999. Reproducción Controlada del Ganado Vacuno y Búfalos. Ed. Acribia, Zaragoza. España. Pp.45.
- Hafez, E. S. E. 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. J. Agric. Sci. Camb. 42:189-265.
- Hafez., E. S. E. 1994. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 5ª. Ed. . McGraw-Hill. México D.F. Pp. 519-520.
- Halbert, G. W., Dobson, H., Walton, J. S. and Buckrell, B. C. 1990a. The structure of the cervical canal of the ewe. Theriogenology 33:977-992.
- Halbert, G. W.; Dobson, H., Walton, J. S., Sharpe, P. and Buckrell, B. C. 1990b. Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. Theriogenology 33:1231-1243.
- Halbert, G. W., Dobson, H., Walton, J. S. and Buckrell, B. C: 1990c. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. Theriogenology 33:993-1010.
- Hansel, W. and Convey, E. M. 1983. Physiology of the estrus cycle. J. Anim. Sci. 57:404-412.
- Haresing, W. 1992. Manipulation of reproduction in sheep. J. Reprod. Fert. Suppl. 45:127-139.
- Hawk, H.W. and H.H. Conley. 1972. Investigation of sperm transport failures in ewes administered synthetic progestagen. J. Anim. Sci. 34:604-619.
- Hawk, H. W. 1972. Progestagen induced sperm breakage in the sheep vagina. J. Anim. Sci. 34:795-798.
- Hawk, H. W., Cooper, B. S., and Conley, H. H. 1987. Inhibition of sperm transport and fertilization in superovulating ewes. Theriogenology 28:139-153.
- Herrera, H. L., Conley, H. H., Feldman, S. D., Zarco, Q. L., Valencia, M. J., Ortiz, H. A., y Angeles, C. S. 1990. Evaluación del efecto luteolítico de la prostaglandina F2 alfa en diferentes días del ciclo estral de la borrega. Vet. Mex. 21:143-148.
- Hill, J. R., Thompson, J. A. and Perkins, N. R. 1998. Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28, 447 Merino ewes under commercial conditions a survey. Theriogenology 49:497-709.

- Hughs, F., Lucas, J. M. S. and Hotman, A. B. 1976. The synchronization of estrus and subsequent fertility in ewes following treatment with a synthetic prostaglandin analogue (ONO-450). *Prostaglandins* 11:1033-1038.
- Hulet, C. V. and Stormshak, F. 1972. Some factors affecting response of anoestrous ewes to hormone treatment. *J. Anim. Sci.* 34:1011-1019.
- Hunter, R. H. F., Barwise, L. and King, R. 1982. Sperm transport, storage and release in the sheep oviduct in relation to the time of ovulation. *Br. Vet. J.* 138:225-232.
- Jabbar, G., Umberger, S. H. and Lewis, G. S. 1994. Melengestrol acetate and norgestomet for the induction of synchronized estrus in seasonally anovular ewes. *J. Anim. Sci.* 72:3049-3054.
- Jabbour, H. N. and Evans, G. 1991. Fertility of superovulated ewes following intrauterine or oviductal insemination with fresh or frozen-thawed semen. *Reprod. Fertil. Dev.* 3:1-7.
- Jakubec, B. 1977. Productivity of crosses based in prolific breeds of sheep. *Livest. Prod. Sci.* 4:379-392.
- Khalid, M., Haresign, W. and Luck, M. R. 2000. Secretion of IGF- 1 by ovine granulosa cells: effects of growth hormone and follicle stimulating hormone. *Anim. Reprod. Sci.* 58:261-272.
- Kennaway, D. J., Gilmore, T. A. and Seamark, R. F. 1982. Effect of melatonin feeding on serum prolactin and gonadotropin levels and the onset of seasonal estrous cyclicity in sheep. *Endocrinology.* 110:1766-1772.
- Kerdelhue, B., Kann, and Jutisz, M. 1972. Dosage radioimmunologique de la FSH chez le mouton et le rat. *Colloq. INSERM: Hormones glycoproteiques hypophysaires.* pp.177-192.
- Killen, I. D. and Moore, N. W. 1970. Transport of spermatozoa, and fertilization in the ewe following cervical and uterine insemination early and late in oestrus. *Aust. J. Biol. Sci.* 23:1271-1277.
- Killen, I. D. and G. Caffery, J. 1982. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. *Aust. Vet. J.* 59:95 (Abstract).
- Killen, I. D., Caffery, G. and Hold, N. 1982. Fertility of the ewes following intrauterine insemination with the aid of a laparoscopy. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 14:104 (Abstract).
- Knecht, F. P. and Catt, K. 1987. Bifunctional role of transforming growth factor during granulosa cell development. *Endocrinology* 120:1243-1249.

- Knight, T. W. and Lynch, P. R. 1980a. Source of ram pheromone that stimulate ovulation in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 3:133-136.
- Knight, T. W. and Lynch, P. R. 1980b. The pheromone from rams that stimulate ovulation in the ewe. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 13:74-76.
- Knight, T. W. 1983. Ram-induced stimulation of ovarian an oestrus activity in anoestrous ewes. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 43:7-11.
- Lamond, A. R. and Lambourne, J. L. 1961. Suppression of oestrus in sheep with progesterone. *Aust. J. Agric. Res.* 12:154-162.
- Lamond, D. R. and Bindon, B. M. 1962. Oestrus, ovulation and fertility following suppression of ovarian cycle in Merino ewes by progesterone. *J. Reprod. Fert.* 4:57-66.
- Lamond, D. R., Gaddy, R. G. and Kennedy, S. W. 1972. Influence of season and nutrition on luteal plasma progesterone in Rambouillet ewes. *J. Anim. Sci.* 34:626-629.
- Land, R. B. and Lee, G. J. 1976. Testis growth a possible genetics predictor of females reproductivity. *Anim. Prod. Sci.* 22:137-142.
- Langford, G. A., Ainsworth, L. and Wolynetz, M. S. 1982. Reproductive response of progestogen-treated sheep in confinement to a single and double insemination. *J. Anim. Sci.* 54:12-17.
- Langford, G. A., Marcus, G. J. and Batra, T. R. 1983. Seasonal effects of PMSG and number of inseminations on fertility of progestagen-treated sheep. *J. Anim. Sci.* 57:307-312.
- Langford, A. G., Shrestha, B. N. J. and Marcus, J. G. 1989. Repeatability of scrotal and semen quality measurements in ram in short-day light regime. *Anim. Reprod. Sci.* 19:19-27.
- Leyva, V., Buckrell, B. C. and Walton, J. S. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50:395-416.
- Lincoln, G. A. and Ebling, F. J. P. 1985. Effect of constant-release implants of melatonina on seasonal cycles in reproduction, prolactin secretion and mounting in rams. *J. Reprod. Fert.* 73:241-253.
- Lindsay, D. R., Cognie, Y., Pelletier, J. and Signoret, J. P. 1975. Influence of the presence of rams on the timing of ovulation and discharge of LH in ewe. *Physiology Behavior* 15:423-426.

- Lino, B. F. 1972. The output of spermatozoa in rams. II Relationship to scrotal circumference testis weight and the number of spermatozoa in different parts of the urogenital tract. *Aust. J. Biol. Sci.* 25:359-366.
- López, L. A. 1999. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *In: Memorias del Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes.* 8, 9 y 10 de septiembre. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México, pp 95-105.
- López-Sebastián, A., González de Bulnes, A. I. y Santiago-Moreno, J. 2001. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *In: Memoria II Curso Internacional. Fisiología de la reproducción en Rumiantes.* 18-21 de Septiembre. Montecillo. México. Pp1-21.
- Lloyd, S. W. and Clark J. B. K. 1968. The effect of synchronization of oestrus on the fertility of ewes inseminated artificially. *Br. Vet. J.* 42:460-468.
- Malpaux, B., Wayne, N. L. and Karsch, F. J. 1988. Termination of the breeding season in the Suffolk ewe: involvement of endogenous rhythm of reproduction. *Biol. Reprod.* 39:254-263.
- Malpaux, B., Virguie, C., Thierye, J. C. and Chemineau, P. 1996. Controlled photoperiodique de la reproduction. *INRA. Prod. Anim.* 9:9-23
- Mariana, J. C. and Machado, J. 1976. Etude the formation de l'antrum dans les follicules de l'ovaire de ratte et de vache normales ou stimelées de PMSG. *Annls. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 22:545-559.
- Martin, G. B., Oldham, C. M. and Lindsay, D. R. 1980. Increased plasma levels in seasonally anovular Merino ewes following the introduction of ram. *Anim. Reprod. Sci.* 3:125-132.
- Martin, G. B. and Scaramuzzi, R. J. 1983. The induction of ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. *J. Steroid. Biochem.* 19:869-875.
- Martin, G. B. 1984. Factors affecting the secretion of luteinizing hormone in the ewe. *Biol. Rev.* 59:1-86.
- Martin, G. B., Oldham, C. M., Cognie, Y. and Pearce, D. T. 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams a review. *Livest. Prod. Sci.* 15:219-247.
- Martin, G. B., Tjondronegoro, S. and Blackberry, M. A. 1994. Effects of nutrition on testicular size and the concentration of gonadotrophins, testosterone and inhibin in plasma of mature male sheep. *J. Reprod. Fert.* 101:121-128.

- Martin, B. G. y Banchero, H. G. 1999. Nutrición y Reproducción en rumiantes. *In*: Memorias del 1^{er} Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción de Rumiantes. 8, 9 y 10 de Septiembre. Montecillos, México. Pp. 27-58.
- Maxwell, W. M. C., Butle, L. G. and Wilson, H. R. 1984. Intrauterine insemination of ewes with frozen semen. *J. Agric. Sci. Cambridge*. 102:233-235.
- Maxwell, W. M. C. 1986a. Artificial insemination of ewes whit frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. 1. Effect of time of onset oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Anim. Reprod. Sci.* 10:301-308.
- Maxwell, W. M. C. 1986b. Artificial insemination of ewes whit frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. 2. Effect of dose of spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility. *Anim. Reprod. Sci.* 10:309-316.
- Maxwell, W. M. C., and Hewitt, L. J. 1986. A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination in sheep. *J. Agric. Sci. Cambridge*. 106:191-193.
- Maxwell, W. M. C., Evans, G., Rhodes, S. L., Hillard, M. A. and Bindon, B. M. 1993. Fertility of superovulated ewes after intrauterine or oviductal insemination with low numbers of fresh or frozen-thawed spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.* 5:57-63.
- McMillan, W. H. 1986. Hogget oestrus synchronization: a comparison of CIDR and sponges. *Proc. NZ. Soc. Anim. Prod.* 46:225-228.
- McCracken, J. A., Baird, D. T., Carlson, J. C., Goding, J. R. and Barcikowski, B. 1973. The role of prostaglandins in luteal regression. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 18:133-142.
- Mcleod, B. J. and Phillips, D. J. 1998. Hormonal control of the reproductive processes. *Reproductive Management of Grazing Ruminants in New Zealand. Occasional Publication 12 of the New Zealand Society of Animal Production*. Pp. 3-41.
- McNatty, K. P., Hunter, W. M., McNeilly A. S. and Sawers, R. S. 1975. Changes in concentration of pituitary and steroid hormones in the follicular fluid of human grafian follicles throughout the menstrual cycle. *J. Endocr.* 64:555-571.
- McNeilly, A. S., Jonassen, J. A. and Fraser, H. M. 1986. Suppression of follicular development after chronic LH-RH immune-neutralization in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 76:481-490.
- McNeilly, A. S., Crow, W., Brooks, J. and Evans G. 1992. Luteinizing hormone pulses, follicle-stimulating hormone and control of follicle selection in sheep. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 45:5-19.

- Midgley, A. R. 1973. Autoradiographic analysis of gonadotrophin binding to rat ovarian tissue sections. *Adv. Exp. Med. Biol.* 36:365–378.
- Mieusset, R., Quintana, P., Sánchez, L. G., Sowerbutts, S. F., Zup, J. L. and Setchell, B. P. 1992. Effects of heating the testes and epididymis of ram by scrotal insulation on fertility and embryo mortality in ewes inseminated with frozen semen. *J. Reprod. Fert.* 94:337-343.
- Monget, P. and Monniaux, D. 1995. Growth factors and the control of folliculogenesis. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 49:321-333.
- Moore, N. W. and Eppleston, J. 1979. The control of oestrus, ovulation and fertility in relation to artificial insemination in the Angora goat. *Aust. J. Agric. Res.* 30:965-972.
- Moore, R. M., Hay, M. F., Short, R. V. and Rowson, L. E. A. 1970. The corpus luteum of the sheep: effect of uterine removal during luteal regression. *J. Reprod. Fert.* 21:319-326.
- Morgan, P. D., Arnold, G. W. and Lindsay, A. R. 1972. A note on the mating behavior of ewes with various senses impaired. *J. Reprod. Fert.* 30:151-160.
- Moses, D., Martínez, A. G., Iorio, G., Valcasel, A., Pessi, H., Castañón, R., Macias, A. and De las Haras, M. A. 1997. A large scale program in laparoscopic intrauterine insemination with frozen thawed semen in Australian Merino sheep in Argentine Patagonia. *Theriogenology* 48:651-657.
- Murray, P. J., Rowe, J. B. and Petrick, D. W. 1991. Effect of season and nutrition on scrotal circumference of Merino rams. *Aust. J. Exp. Agric.* 31:753-756.
- Nanda, A. S., Ward, W. R. and Dobson, H. 1989. Effects of naloxone on the estradiol-induced LH surge and cortisol release in transported cows. *J. Reprod. Fert.* 87:803-807.
- Nanda, A. S., Ward, W. R. and Dobson, H. 1990. Naloxone antagonizes the morphine suppression of the estradiol induced surge of luteinising hormone surge in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 22:289-296.
- Nakvi, S. M. K., Joshi, A., Bag, S., Pareek, S. R. and Mittal, J. P. 1998. Technical note: Cervical penetration and transcervical AI of tropical sheep Malpura at natural oestrus using frozen-thawed semen. *Small. Rum. Res.* 29:329-333.
- Nakvi, S. M. K., Gulyani, R., Das, G. K. and Mittal, J. P. 1999. Comparison of three treatments for estrous synchronization in sheep during summer. *Ind. J. Anim. Sci.* 69:180-181.

- Navarro, L. 1972. Observaciones sobre estros y época de pariciones en diferentes razas de ovejas en la Mesa de Guanipa. El Tigre. Venezuela. J. Reprod. Fert. Suppl. 34:201-213.
- Nett, T. M., Straingmiller, R. B., Akbar, A. D., Diekman, M. A., Ellinwood, W. E. and Niswender, G. D. 1976. Secretion of prostaglandin F2 α in cycling and pregnant ewes. J. Anim. Sci. 42:876-880.
- Noel, B. , Bister, J. L. and Paquay, R. 1993. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. J. Reprod. Fert. 99:695-700.
- Notter, D. R. 2000. Effect of ewe age and season of lambing on prolificacy in US Targhee, Suffolk and Polypay sheep. Small Ruminant Research 38:1-7.
- Nowak, R. and Rodway, R. G. 1985. Effect of intravaginal implants of melatonin on the onset of ovarian activity in adult and prepuberal ewes. J. Reprod. Fert. 74:287-293.
- Núñez, H. E. Y. 1999. Repetibilidad de la tasa de ovulación en ovejas Suffolk y Criollas con estro sincronizado y natural. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. Pp. 70.
- Núñez, H. E. Y., Rangel, S. R., Apodaca, S. C. A., Rodríguez de Lara, R., García, M. J. G., Ayala, O. J. y Armendáriz, M. J. 1999. Inseminación transcervical en ovejas Suffolk. XXVIII Reunión anual de la Asociación Mexicana de Producción Animal. Tapachula, Chis. México. Pp. 111-114.
- O'Callaghan, D., Donovan, A., Sunderland, S. J., Boland, M. P. and Roche, J. F. 1994. Effect of the presence of male and female flock mates on reproductive activity in ewes. J. Reprod. Fert. 100:497-503.
- Oldham, C. M., Martin, G. B. and Knight, T. W. 1978. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by the induction of rams. I. Time from the introduction of rams to the preovulatory LH surge and ovulation. Anim. Reprod. Sci. 1:283-290.
- Ottobre, J. S., Lewis, G. S., Thayne, W. V. and Inskeep, E. K. 1980. Mechanisms by which progesterone shortens the estrus cycle of the ewe. Biol. Reprod. 23:1046-1053.
- Perkins, A. and Fitzgerald, J. A. 1994. The behavioral component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of oestrus in anovulatory ewes. J. Anim. Sci. 72:51-55.
- Peter, A. T., Simon, J. E., Luker, C. W. and Bosu, W. T. K. 1990. Site of action for endotoxin-induced cortisol release in the suppression of preovulatory luteinising hormone surges. Theriogenology 33:637-643.

- Phogat, J. B. Smith, R. F. and Dobson, H. 1997. Effect of adrenocorticotrophic-releasing hormone- induced luteinising hormone secretion *in vitro*. Anim. Reprod. Sci. 48:53-65.
- Phogat, J. B., Smith, R. F. and Dobson, H. 1999a. Effect of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) on ovine pituitary gland responsiveness to exogenous pulsatile GnRH and oestradiol-induced LH release *in vivo*. Anim. Reprod. Sci. 55:193-203.
- Phogat, J. B., Smith, R. F. and Dobson, H. 1999b. Effect of transport of pituitary responsiveness to exogenous pulsatile GnRH and oestradiol-induced LH release in intact ewes. J. Reprod. Fert. 116:9-18.
- Picton, H. M., Tsonis, C. G. and McNeilly, A. S. 1990. FSH causes at time dependent stimulation of preovulatory follicular growth in the absence of pulsatile LH secretion in ewes chronically treated with gonadotrophin-releasing hormone agonist. J. Endocr. 126:297-307.
- Piper, L. R. and Bindon, B. M. 1982. The BooroolaMerino and the performance of medium non-peppin crosses at Armidale. In: The Booroola Merino. Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol. 14:9-20.
- Poulton, A. L., Symons, A. M., Kelly, M. I. and Arendt, J. 1987. Intraruminal soluble glass boluses containing melatonin can induce early onset of ovarian activity in ewes. J. Reprod. Fert. 80:235-239.
- Przekop, F., Polowska, J. and Mateusiak, K. 1988. The effect of prolonged stress on the hypothalamic luteinising hormone-releasing hormone (LH-RH) in the anoestrous ewes. Experimental Clinical Endocrinology 91:334-340.
- Quinn, P. J., White, I. G. and Cleland, K. W. 1969. Chemical and ultrastructural changes in ram spermatozoa after watching cool shock and freezing. J. Reprod. Fert. 18:209-220.
- Quintela, L. A., C. Díaz, A. I., Peña, J. Becerra. and Herradón, P. G. 1999. Diagnóstico precoz de gestación por ecografía transrectal en la oveja. Arch. Zootec. 48:13-20.
- Quirke, J. F. 1981. Regulation of puberty and reproduction in female lambs. A review. Livestock. Prod. Sci. 8:37-53.
- Quirke, J. F., Meyer, H. M., Lahlon-Kassi, A., Hanrahan, J. P., Bradford, G. E. and Stabenfeldt, G. A. 1987. Natural and induced ovulation rate in prolific and non prolific sheep in Ireland, Morocco and New Zealand. J. Reprod. Fert. 81:309-316.

- Quispe, Q. T., Zarco, Q. L. y Valencia, M. J. 1994. Control artificial de la reproducción en la oveja. Curso de actualización de ovinos. Del 22 al 25 de marzo. Toluca México. Pp. 58-70.
- Quispe, Q. T., Hernández, A. O., Zarco, L. Q. y Valencia J. M. 1995. Sincronización de estros en ovejas mediante un tratamiento corto con Acetato de Melengestrol (MGA), combinado con Cipionato de estradiol (ECP). Vet. Mex. 26:1-9.
- Rangel, S. R., Echegaray, T. J. L., Santos, L. R., Apodaca, S. C. y Ayala, O. J. 1997. Efecto de la administración de PMSG en ovejas Pelibuey sincronizadas. Memorias del IX Congreso Nacional de Producción Ovina. Querétaro, Querétaro. Pp. 84-87.
- Rangel, S. R., apodaca, S. C., Rodríguez de Lara, R., Ávila, O. J. G., Ayala, O. J. y Armendáriz, M. J. 2000. Efecto del semental en la fertilidad de ovejas inseminadas intrauterinamente. *In*: Memorias de la XXVIII Reunión Anual de la Asociación Mexicana de Producción Animal. Tapachula, Chiapas México. Pp.122-124.
- Ravindra, J. P., Rawlings, N. C., Evans, A. C. O. and Adams, G. P. 1994. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrus cycle. J. Reprod. Fert.101:501-509.
- Regeiro, M. P., Pérez Clairget, A., Ganzabal, M., Aba Ana, M. and Forsberg, A.1999. Effect of medroxyprogesterone acetate and ECG treatment on the reproductive performance of dairy goats. Small Ruminant Research 33:223-230.
- Rhodes, L. and Nathanielsz, P. W. 1988. Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal medroxyprogesterone sponges for estrus synchronization in the ewe. Theriogenology 4:831-844.
- Riley, S. C., Butt, A. R., Dowgthon, B. W., Li, S. X., Zheng, S. H., Findlay, J. K. and Salamonsen, L. A. 1994. Endothelin in the ovine uterus during the oestrus cycle and early pregnancy. J. Reprod. Fert. 100:451-459.
- Ritar, A. J. and Ball, P. D. 1993. The effect of freeze thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. Anim. Reprod. Sci. 31:249-262.
- Robinson, J. J., Wallace, J. M. and Aitken, R. P. 1989. Fertilization and ovum recovery rates in superovulated ewes following cervical insemination or laparoscopic intrauterine insemination at different times after progestagen withdrawal and in one or both uterine horns. J. Reprod. Fert. 87:711-782.

- Robinson, T. J. 1965. Use of progestagen-impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrus cycle in the sheep. *Nature* 206:39-43
- Roche, J. F. 1968. Effect of the interval between withdrawal of progestagen pessaries and time of PMSG administration on oestrus and ovulation in cyclic ewes. *Irish J. Agric. Res.* 7:1-6.
- Romano, J. E., Rodas, E., Ferreira, A., Lago, I. and Benech, A. 1996. Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. *Small Ruminant Research* 23:157-162.
- Ryle, M. 1971. The activity of human follicles stimulating hormone preparations as measured by a response *in vitro*. *J. Endocr.* 51:97-107.
- Salamon S. and Robinson T. J. 1962. Studies on the artificial insemination of Merino sheep. I. The effect of frequency and season of insemination, age of the ewe, ram and milk diluents on lambing performance. *Aust. J. Agric. Res.* 13:52-68.
- Salamon, S. and Lightfoot, R. J. 1970. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. III. The effects of insemination technique, oxytocin and relaxin on lambing. *J. Reprod. Fert.* 22:409-423.
- Salamon S. and Maxwell W. M. C. 1991. Frozen storage of ram semen. I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim Reprod. Sci.* 24:25-35.
- Salamon, S. and Maxwell, W. M. C. 1995a. Frozen storage of ram semen. I. Processing freezing thawing and fertility after cervical insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 37:185-249.
- Salamon, S. and Maxwell, W. M. C. 1995b. Frozen storage of ram semen II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Anim. Reprod. Sci.* 38:1-36.
- Salamon, S. and Maxwell, W. M. C. 2000. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62:77-111.
- Salamonense, L. A., Jonas, H. A., Burder, H. G., Buckmaster, J. M. Chamley, W. A., Cumming, I. A., Findlay, J. K. and Goding, J. R. 1973. A heterologous radioimmunoassay for follicle stimulating hormone: application to measurement of FSH in the ovine estrous cycle and in several other species including man. *Endocrinology* 93:610-618.

- Sánchez, V. E. 2001. Efecto de la condición corporal sobre la fertilidad y prolificidad en ovejas Pelibuey. Tesis de Maestría en Producción Animal. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo México. Pp. 69.
- SAS Institute, Inc, 1988. SAS/STAT. Users guide, release 6.03. Edition, Cary, N.C. SAS, Institute, Inc.
- Schams, D., Menzer, C. H., Schallemburger, E., Hoffmann, B., Hahn, J. and Hahn, R. 1978. Some studies on pregnant serum gonadotrophin (PMSG) and on endocrine responses after application for superovulation in cattle. *Theriogenology* 4:112-117.
- Scudamore, C. I., Robinson, J. J. and Aitken, R. P. 1991. The effect of timing of laparoscopic insemination in superovulated ewes, with or without sedation, on the recovery of embryos, their stage of development and subsequent viability. *Theriogenology* 35:907-914.
- Selaive-Villaroel, A. B. and Kennedy, J. P. 1983a. Fertility studies in young and mature Merino ewes. *Theriogenology* 20:537-543.
- Selaive-Villaroel, A. B. and Kennedy, J. P. 1983b. Fertility studies in young and mature Merino ewes. 2- Sperm transport. *Theriogenology* 20:544-547.
- Shrestha, J. N. B., Langford, G. A. and Heaney, D. P. 1983. Influence of breed, birth date, age and body weight on testicular measurement of growing rams maintained in a controlled environment. *Can. J. Anim. Sci.* 63:835-873.
- Sirois, J. and Fortune, J. E. 1989. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of progesterone: a model for studing ovarian follicular dominance. *Endocrinology*. 127:916-925.
- Smart, D., Forhead, A. J., Smith, R. F. and Dobson, H. 1994. Transport stress delays the oestradiol-induced LH surge by a non-opioidergic mechanism in the early postpartum ewe. *J. Endocr.* 142:447-451.
- Smith, P. A., Boland, M. P. and Gordon, I. 1978. Conception rate in ewes: effects of method of breeding and number of insemination. *J. Agric. Sci. Camb.* 91:511-512.
- Smith, R. F., Gore, S. W., Phogat, P. B. and Dobson, H. 1997. The psychological stress of transport stimulates both CRF and AVP secretion into hypophyseal portal blood. *J. Endocr. Suppl.* 152:172.
- Steffan, J., Poissonnet, P. and Thibier, S. 1982/1983. Control of oestrus in ewe lambs and yearling ewes with Medroxyprogesterone Acetate and Fluorogestone Acetate. *Anim. Reprod. Sci.* 5:191-198.

- Summermatter, P. and Flukiger, A. 1982. Buck semen processing during of breeding season, In: Proc. 3rd. Int. Conf. Goat Prod. Disease, Tucson, AZ. USA :Pp. 284 (Abstract).
- Suttie, J. M., Foster, D. L., Veenvliet, B. A., Manley, T. R. and Corson, I. D. 1991. Influence of food intake both independence of body weight on puberty in female sheep. J. Reprod. Fert. 92:33-39.
- Symons, A. M., Arendt, J. and Laud, C. A. 1983. Melatonin feeding decreases prolactin levels in the ewe. J. Endoc. 99:41-44.
- Takenaka, S., Fukui, Y. and Ono, H. 1985. Intra uterine insemination with frozen semen in the ewe using a laparoscope. Jpn. J. Anim. Reprod. 31:25-27.
- Tempest, W. M. and Minter, C. M. 1994. Sincronización de celos y partos. En: Nuevas Técnicas de Producción Ovina. Ed. Acribia. Zaragoza, España. Pp. 241-245.
- Tervit, H. R., Havik, P. G. and Smith, J. F. 1977. Effect of breed of ram on the onset of the breeding season in Romney ewes. Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 37:142 (Abstract).
- Tervit, H. R., Goold, D. G., James, R. W. and Frazer, M. D. 1984. The insemination of sheep with fresh or frozen semen. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod. 44:11-13.
- Thimonier, J. and Pelletier, J. 1971. Differences genetiques dans la decharge ovulante (LH) chez les brebis de race Il-de-France: relation avec le nombre d'ovulations. Ann. Biol. Anim. Biophys. 11:559-567.
- Thimonier, J. 1979. Hormonal control of oestrus cycle in the ewe. Livest. Prod. Sci. 6:39-50.
- Thimonier, J. 1981. Practical uses of prostaglandins in sheep and goats. Act. Vet. Scand. Suppl. 77:193-208.
- Thimonier, J., Cognie, Y., Lassoved, N. and Khaldi, G. 2000. L effet male chez les ovins : une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. INRA Prod. Anim. 13:223-251.
- Thorburn, G. D., Basset, J. M., and Smith, I. D. 1969. Progesterone concentration in the peripheral plasma of sheep during the cycle. J. Endocrinol. 45:459-469.
- Thwaites, G. J. and Hannan, G. D. 1989. The effects of frequency of ejaculation and undernutrition on the size and tone of the ram testes. Anim. Reprod. Sci. 19: 29-35.

- Trounson, A. O. and Moore, N. W. 1974. Fertilization in the ewe following multiple ovulation and uterine insemination. *Aust. J. Biol. Sci.* 27:301-304.
- Turnbull, K. E., Braden, A. W. H. and Mattner, P. E. 1977. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.* 30:229-241.
- Uribe, G. M. 1997. Efecto de la edad y tiempo de administración de PMSG en la sincronización de celos en ovinos. Tesis de Licenciatura. Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. Pp. 51.
- Valencia, M., Castillo, H. y Berruecos, J. M., 1975. Reproducción y manejo del borrego Tabasco o Pelibuey. [Reproduction and management in the Tabasco or Pelibuey sheep]. *Técnica Pecuaria en México* 29:66-72.
- Valencia M. J. 1987. La inseminación artificial en ovinos. *Memorias del segundo curso Bases de la Cría Ovina, AMTEO.* pp. 23-25.
- Vallet, J. L., Lamming, G. E. and Batten, M. 1990. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and oestradiol in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 90:625-634.
- Vallet, J. L., Baril, G., Levoeuf, B. and Perrin, J. 1992. Insemination artificielle intra-uterine souz controlled laparoscopique chez les petits ruminants domestiques. *Ann. Zootech.* 41:305-309.
- Visser, D. and Salamon, S. 1973. Fertility of ram spermatozoa frozen in tris-based diluent. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:23-53.
- Vivanco, M. W. 1998. Inseminación artificial en ovinos. *En: Memorias del Seminario Internacional Aplicaciones de Técnicas Biotecnológicas en la Reproducción de Ovinos y Caprinos.* Chapingo México, 26-27 de octubre. Pp. 135-194.
- Walker, S. K., Smith, D. H., Little, D. L. Warnes, G. M., Quinn, P. and Seamark, R. F. 1984. Artificial insemination and transfer of embryos by laparoscopy. In: DR. Lindsay and D.T. Theriogenology 31:55-564.
- Watson, P. F. 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fert. Dev.* 7:871-891.
- Webb, R., Baxter, G., McBride, D., Ritche, M. and Springbett, A. J. 1992. Mechanism controlling ovulation rate in ewes in relation to season anoestrus. *J. Reprod. Fert.* 94:143-151.

- Wilson, H. R. and Maxwell, W. M. C. 1989. The use of CIDRs and progestagen sponges; A.I programmes. Proc. Aust. Assoc. Anim. Artif. Breed. 2:13 (Abstract).
- Windsor, D. P. 1994. Does postpartum interval influence the success of transcervical uterine insemination in Merino Ewes?. A preliminary study. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. 20:374-381.
- Windsor, D. P., Szell, A. Z., Busehbeck, C., Edward, A. Y., Milton, J. T. B. and Buckrell, B. C. 1994. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozenthawed semen. Theriogenology 42:147-157.
- Woody, L.O., First, N.L. and Pope, A.L. 1967. Effect of exogenous progesterone on estrous cycle length. J. Anim. Sci. 26:139-141.
- Xu, Z. Z., Garverick, H. A., Smith, G. W., Smith, M. F., Hamilton, S.A. and Youngquist, R. S. 1995. Expression of follicle- stimulation hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. Biol. Reprod. 53:951-957.
- Yoshida, M. 2000. Conservation of sperms: current status and new trends. Anim. Reprod. Sci. 60-61:349-355.
- Zarco, L. Q., Rodríguez, E. F., Angulo, M. R. B. and Valencia, J. 1995. The stimulating of ovarian activity in the ewe. Anim. Reprod. Sci. 39:251-258.
- Zieba, D. A., Murawski, M. G. and Wierzechos, E. 2000. The role of luteal steroid hormone in the regulation of the oestrus cycle of high fecundity Olkuska sheep. Anim. Reprod. Sci. 58:87-98.

