



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**APLICACIÓN DE LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO A OVEJAS
CRIOLLAS SINCRONIZADAS**

T E S I S

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

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN INNOVACIÓN GANADERA**

PRESENTA:

María del Rosario Santos Cortés

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



Julio de 2009

Chapingo, Estado de México

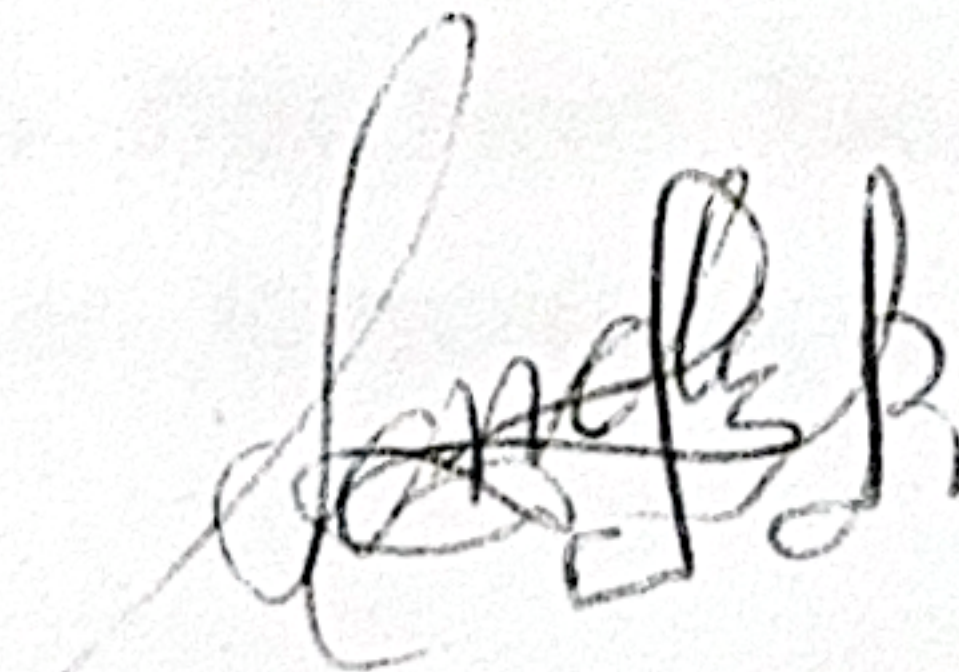
APLICACIÓN DE LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO A OVEJAS CRIOLLAS SINCRONIZADAS

Tesis realizada por María del Rosario Santos Cortés, bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR: Raymundo Rangel S.
Ph.D. RAYMUNDO RANGEL SANTOS

ASESOR: R-1-134-L.R.
Ph.D. RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA

ASESOR: 
M.C. CARLOS SÁNCHEZ DEL REAL

A-T 3703

DEDICATORIA

A mi hija **Itzel García Santos** que ha sido motivo de superación y el mejor regalo de la vida.

A mi madre **Enriqueta Santos Cortés** por su comprensión y amistad en todo momento.

A mis abuelos **Guadalupe Cortés Sierra y Francisco Santos Pacheco** como testimonio de un eterno agradecimiento, por sus consejos y valores que me inculcaron.

A Juan **Carlos García López** por su compañía, confianza y apoyo en esta fase de estudios.

A la señora **María Elena López Sandoval y Santos García Acosta** por sus invaluable consejos.

A mis **tíos** (Elvia, Francisco, Alejandro, Alfonso, Lourdes, Carmelo), **hermanos y primos** que con su cariño me impulsaron a seguir superándome espiritual y profesionalmente.

A mis **amigos** Sandra, Rosy, Elias, Eloisa, Neón, Bety, Honorio, Beny, Gaby, Alberta, Fabián, Ray, Omar, Hortencia y a todos mis compañeros de posgrado, por su amistad.

Sinceramente y con cariño.
María del Rosario

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme disfrutar de la vida y darme la fortaleza para enfrentar las adversidades.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Posgrado en Producción Animal del Departamento de Zootecnia por darme la oportunidad de culminar una meta más en mi formación profesional y personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico recibido para realizar mis estudios de maestría.

Al consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por el financiamiento otorgado para el proceso de escritura del documento.

Al Ph.D. Raymundo Rangel Santos por haber compartido sus conocimientos, su apoyo, y su tiempo durante el desarrollo de esta investigación.

Al Ph.D. Raymundo Rodríguez de Lara y M.C. Carlos Sánchez del Real por sus sugerencias y apoyo para la culminación de la investigación.

A todos los profesores del posgrado por su contribución en mi formación académica.

Al personal del módulo de ovicaprinos de la granja experimental por las facilidades otorgadas para el desarrollo de la fase de campo.

A mis amigos y compañeros que me apoyaron durante la fase de campo, en especial Eloisa, Elias y alumnos de licenciatura de zootecnia.

Con afecto
María del Rosario

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: María del Rosario Santos Cortés

Fecha de nacimiento: 16 de diciembre de 1978

Lugar de nacimiento: México, Distrito Federal

CURP: SACR781216MMCNRS05

Profesión: Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia

Cédula Profesional: 5150637



Desarrollo académico

1996-1999

Preparatoria Agrícola

Departamento de Preparatoria Agrícola

Universidad Autónoma Chapingo

1999-2003

Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia

Departamento de Zootecnia

Universidad Autónoma Chapingo

2007-2008

Maestro en Ciencias en Innovación Ganadera

Posgrado en Producción Animal

Departamento de Zootecnia

Universidad Autónoma Chapingo

CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DATOS BIOGRÁFICOS	v
CONTENIDO	vi
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Fisiología reproductiva de la oveja	3
2.1.1 Control neuroendócrino de la reproducción en la oveja	3
2.1.2 Gonadotropinas hipofisiarias	4
2.1.3 Foliculogénesis	5
2.1.4 Ciclo estral	6
2.1.5 Anestro	7
2.2 Líquido folicular	8
2.2.1 Composición bioquímica del líquido folicular	9
2.2.2 Líquido folicular equino (LFE)	9
2.2.3 Obtención y procesamiento del líquido folicular equino	9
2.2.4 LFE y sincronización de estros en ovejas	10
2.3 Sincronización de estros en ovejas	12
2.3.1 Sincronización con productos hormonales	12

2.4 Inducción de celos en época de anestro	15
2.4.1 Progestágenos combinados con eCG	16
2.4.2 Melatonina	16
2.4.3 Efecto macho	17
2.4.4 Socialización de hembras	17
2.5 Hormonas para mejorar la tasa ovulatoria.....	18
2.5.1 Gonadotropina coriónica equina (eCG)	18
2.5.2 Gonadotropina Coriónica Humana (hCG).....	19
2.5.3 Hormona folículo estimulante (FSH)	20
2.5.4 Inhibina	21
2.5.5 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)	22
2.6 Literatura citada	24
3. APLICACIÓN DE LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO A OVEJAS CRIOLLAS SINCRONIZADAS	41
3.1 Resumen	41
3.2 Abstract	42
3.3 Introducción	43
3.4 Materiales y métodos	44
3.4.1 Localización	44
3.4.2 Animales y manejo.....	44
3.4.3 Manejo reproductivo	44
3.4.4 Obtención de líquido folicular equino	45
3.4.5 Análisis estadístico	45
3.5 Resultados y discusión.....	46
3.5.1 Incidencia de estros	46
3.5.2 Inicio del estro.....	47
3.5.3 Distribución de estros	49
3.5.4 Número y diámetro de folículos preovulatorios	49

3.5.5 Tasa ovulatoria y diámetro del cuerpo lúteo	51
3.5.6 Tasa de gestación	53
3.5.7 Prolificidad	55
3.6 Conclusión.....	56
3.7 Implicaciones.....	56
3.8 Literatura citada.....	57

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Componentes del líquido folicular con respuesta estimuladora o inhibidora.	8
Cuadro 2. Aplicación intramuscular de 2 mL de líquido folicular equino en diferentes días del programa de sincronización de estros y su respuesta en variables reproductivas.	11
Cuadro 3. Efecto de eCG sobre la tasa ovulatoria en ovinos.	18
Cuadro 4. Medias ^Z ($\pm$ error estándar) para inicio del estro en ovejas Criollas tratadas con líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.	48
Cuadro 5. Distribución de estros en ovejas Criollas tratadas con líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.	49
Cuadro 6. Medias ^Z ($\pm$ error estándar) para número y diámetro del folículo preovulatorio en ovejas Criollas tratadas con líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.	50
Cuadro 7. Medias ^Z ($\pm$ error estándar) para prolificidad en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.	55

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Efecto de la dosis de eCG en prolificidad de ovejas Merino x Akkaraman (Mehmet <i>et al.</i> , 2006).....	19
Figura 2. Incidencia de estros en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.	46
Figura 3. Número de cuerpos lúteos de ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL (T1, T2, T3 y T4) de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.....	51
Figura 4. Diámetro del cuerpo lúteo en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.	53
Figura 5. Tasa de gestación en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.	54

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los ovinos son una fuente importante de proteína de origen animal (Velázquez *et al.*, 1995; Córdova *et al.*, 2008), y el estudio de su fisiología reproductiva es necesario para alcanzar la máxima eficiencia en la producción (Mitchell *et al.*, 1996), ya que esta especie presenta variaciones en su comportamiento reproductivo dependiendo de la raza, latitud geográfica, clima y manejo (Cruz *et al.*, 1994). La aplicación de programas de manejo reproductivo, de selección y mejora genética es básica para conseguir un aumento en la producción (Serratos *et al.*, 1985).

En la especie ovina la estacionalidad reproductiva constituye una limitante que impide mantener una producción continua a lo largo del año (Álvarez *et al.*, 1999), por lo que generalmente se recurre a la inducción de la actividad reproductiva durante los meses de anestro utilizando tratamientos hormonales, fotoperiódicos o de bioestimulación (Rubianes y Ungerfeld, 2002), los cuales permiten un cambio en la actividad sexual (Legan y Karsch, 1980).

El manejo reproductivo es básico en cualquier explotación pecuaria ya que influye en el rendimiento productivo total (Azzarini, 1992). Este manejo se asocia a cada raza, medio y sistema de explotación, tendiendo hacia la optimización de los rendimientos productivos que puede ofrecer un sistema específico (Medrano, 2000). Entre los aspectos más importantes que inciden en la producción se encuentran las épocas de empadre y parición (Notter, 2000), por lo que es importante desarrollar líneas de investigación en el control del periodo de servicio (Blissitt *et al.*, 1994) para romper la estacionalidad, incrementar la oferta de corderos y aumentar la prolificidad (Slósarz *et al.*, 2003). En los sistemas extensivos tradicionales, la tendencia reproductiva es a

obtener un parto al año (Safranski *et al.*, 1992). Sin embargo, a medida que los sistemas tienden a una mayor intensificación, las prácticas de manejo se relacionan con tecnologías de control de la reproducción (Velázquez *et al.*, 1995) que permiten alcanzar 3 partos en 2 años (Umberger *et al.*, 1994). El número de corderos disponible en un periodo de tiempo determinado es importante desde el punto de vista económico (Porrás *et al.*, 2003), porque el productor puede tener más corderos para venta o reemplazo (Roberts, 2000). La prolificidad (número de corderos nacidos por oveja) depende de la tasa ovulatoria (Dahl *et al.*, 1995), la cual es uno de los componentes biológicos que determina el tamaño de camada (Shoenian y Burfening, 1990). También es afectada por la tasa de fertilización y la sobrevivencia de los embriones o fetos durante la gestación (Azzarini, 1992).

Existen técnicas hormonales para incrementar la tasa ovulatoria (Boscos *et al.*, 2002) basándose en el uso de gonadotropinas, pero la variabilidad de los resultados obtenidos y el incremento de los costos difícilmente justifican su uso comercial (González *et al.*, 1999), por lo cual es necesario buscar alternativas más económicas para caracterizar los eventos fisiológicos al inducir y sincronizar el estro, para mejorar la fertilidad. El objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento reproductivo de ovejas Criollas sincronizadas mediante la aplicación de acetato de fluorogestona (FGA) más líquido folicular equino.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Fisiología reproductiva de la oveja

El conocimiento de la fisiología reproductiva es necesario para programar eficientemente la reproducción de la oveja (Caraty *et al.*, 1995). La mayoría de las razas ovinas domésticas presentan varios estros durante una época determinada del año, siendo la actividad sexual influenciada por el fotoperiodo (Steinlechner y Niklowitz, 1992). La actividad ovárica es controlada por el sistema nervioso central (Deveson *et al.*, 1992), mediante inervaciones noradrenérgicas y peptidérgicas que regulan los receptores a gonadotropinas, estrógenos, progesterona y con la melatonina modifican la frecuencia y amplitud de los pulsos de secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), hormona luteinizante (LH) y hormona folículoestimulante (FSH) (Bartlewski *et al.*, 1998). Esto favorece el crecimiento de folículos preovulatorios que producen estrógenos, hasta llegar a inducir la primera liberación preovulatoria de LH y la primera ovulación (Kinder *et al.*, 1995). Algunos factores como la edad, el peso, la condición corporal y la época del año, pueden ocasionar alteraciones y afectar la fisiología reproductiva de la hembra (Martínez-Rojero, 1999).

2.1.1 Control neuroendócrino de la reproducción en la oveja

La mayoría de las razas de ovejas tienen un patrón estacional de reproducción (Lubbers y Jackson, 1993), del equinoccio de otoño al de primavera, iniciando su estación reproductiva con los días cortos (Chemineau *et al.*, 1992). El fotoperiodo actúa en la glándula pineal que secreta melatonina y a su vez regula la secreción de GnRH (Guerin *et al.*, 1994). La GnRH estimula la hipófisis que secreta FSH y LH para regular el crecimiento folicular y la ovulación (Braden *et al.*, 1989).

Los estrógenos producidos por el folículo son los responsables de la conducta del estro (Fukui *et al.*, 1999), en ovejas se requiere de un estímulo previo de laprogesterona en el hipotálamo para evitar la presentación de una ovulación silenciosa (Kassem *et al.*, 1990) y asegurar la formación de un cuerpo lúteo de duración normal (Driancourt *et al.*, 1991). Las hormonas de la glándula pineal, del hipotálamo, de la hipófisis anterior y la progesterona, se pueden utilizar para manipular el estro y la ovulación (Haresing, 1992; Galina y Valencia, 2008).

2.1.2 Gonadotropinas hipofisiarias

El lóbulo anterior de la hipófisis secreta cuatro hormonas importantes: FSH, LH, prolactina y hormona estimulante de la tiroides (TSH) (Ginther *et al.*, 1995). La LH causa la ovulación y transformación del folículo ovárico en cuerpo lúteo, mientras FSH promueve el desarrollo del folículo graafiano en el ovario (Malpaux *et al.*, 1997). La LH y FSH son glucoproteínas (Noel *et al.*, 1993). Los pesos moleculares estimados de las gonadotropinas varían entre y dentro de las especies (Lubbers y Jackson, 1993), para LH ovina, bovina, porcina y equina son: 28,000 a 32,500, 25,200 a 30,000, 27,000 a 34,000 y 33,500 respectivamente. Los pesos moleculares para la FSH ovina y equina son 32,700 a 33,800 y 33,200 (Galina y Valencia, 2008).

La FSH actúa al inicio del desarrollo folicular y se requiere para la formación del antro del folículo (Karsch *et al.*, 1984), actúa sinérgicamente con los estrógenos, induce la formación de los receptores de FSH y LH en las células granulosas del folículo (Kassem *et al.*, 1990; Arroyo-Ledesma *et al.*, 2006). Aproximadamente tres días antes de la ovulación aumentan los niveles de estradiol (Ravindra *et al.*, 1994), ocasionando la liberación de un pico preovulatorio de LH de la hipófisis y provocando la ovulación del folículo graafiano maduro (Driancourt *et al.*, 1991). Las células de la granulosa del folículo ovulado se transforman en células lúteas del cuerpo lúteo por acción de la LH (Bartlewski *et al.*, 2000).

En el macho las gonadotropinas estimulan la secreción de hormonas esteroides, la espermatogénesis y la síntesis de proteínas específicas ligadoras de andrógenos (Rawlings *et al.*, 1984). Las concentraciones tónicas o basales de LH actúan conjuntamente con la FSH estimulando la conversión del colesterol en testosterona (Scaramuzzi y Baird, 1997).

2.1.3 Foliculogénesis

La hembra desde que nace posee miles (50,000 a 150,000) de folículos primordiales en su ovario que crecen durante toda su vida reproductiva (Galina y Valencia, 2008). El crecimiento es consecuencia de cambios en la forma de las células foliculares de planas a cuboides (Caraty *et al.*, 1995). Cuando algún folículo sale de la reserva, sigue creciendo hasta la ovulación o hasta que degenera (Beard y Hunter, 1994). El folículo de mayor tamaño produce casi toda la secreción de estrógenos durante el estro, dicha secreción disminuye con rapidez hacia el momento del pico preovulatorio de LH (Cardwell *et al.*, 1998). En ovejas uno o dos folículos grandes secretan más estrógenos y estimulan la aparición de receptores en la teca de las células de la granulosa (Baird *et al.*, 1991). La duración total del crecimiento folicular es de más de 20 días y quizá de hasta seis meses (Driancourt, 1991).

En el crecimiento folicular intervienen la proliferación y la diferenciación inducidas por hormonas de las células de la teca y de la granulosa (Moore *et al.*, 2000), lo que causa un incremento en la capacidad de los folículos de producir estradiol y de reaccionar con las gonadotropinas (González *et al.*, 1999). La producción de estradiol determina el folículo que obtendrá los receptores de LH necesarios para la ovulación y la luteinización (Schrack *et al.*, 1993). Las perturbaciones en la reactividad de las células de la granulosa y señales gonadotrópicas, interrumpen el crecimiento folicular e inician la atresia (Smeaton y Robertson, 1971).

2.1.4 Ciclo estral

El ciclo estral se define como un fenómeno rítmico con periodos regulares pero limitados de receptividad sexual, asociado con la liberación de óvulos capaces de ser fertilizados (Blissitt *et al.*, 1994). La finalidad de la actividad cíclica ovárica es la de producir un gameto fértil y preparar el tracto genital con las condiciones favorables para la ovulación, fecundación, implantación, desarrollo embrionario y fetal (Caraty *et al.*, 1995; Evans *et al.*, 1995).

Fases del ciclo estral

El ciclo estral se divide en dos fases: folicular y lútea (Moore *et al.*, 2000). La primera corresponde al proestro y estro, la segunda al metaestro y diestro. Estos periodos ocurren de manera cíclica y secuencial (Méndez *et al.*, 2000). La fase folicular comprende desde la lisis del cuerpo lúteo (CL) hasta la ovulación y dura de 2 a 3 días (Schrack *et al.*, 1993). Esta fase no refleja la duración del crecimiento de los folículos de Graaf (Godfrey *et al.*, 1998). En la fase lútea el folículo de Graaf roto se llena de un coágulo de sangre conocido como cuerpo hemorrágico (Smeaton y Robertson, 1971).

Estro

Es el periodo de receptividad sexual; es decir, momento durante el cual la hembra acepta la cópula (Arroyo-Ledesma *et al.*, 2006). Se determina por la concentración elevada de estrógenos que también estimulan la liberación de GnRH (Karsch *et al.*, 1984). El estro es concomitante con la fase folicular del ciclo estral cuando la FSH disminuye, debido a la retroalimentación negativa de los estrógenos e inhibina (Murdoch, 1995). La disminución de FSH evita el desarrollo de más folículos (Moore *et al.*, 2000). Por lo regular el estro termina cuando ocurre la ovulación (Correa *et al.*, 1994). En la oveja, este periodo tiene una duración de 24 a 36 h (Crosby *et al.*, 1991).

Proestro

El proestro se caracteriza porque durante este tiempo aumentan las concentraciones de gonadotropinas (Bartlewski *et al.*, 1995) y hay un

crecimiento folicular previo a la receptividad sexual, culminando en la selección de un folículo ovárico con un incremento en las concentraciones de estradiol (Ginther *et al.*, 1995); todo esto sucede como consecuencia de una disminución en las concentraciones de progesterona debido a que el cuerpo lúteo deja de ser funcional (Hunter, 1991).

Metaestro

Es el periodo que sigue a la ovulación y se caracteriza por ser una fase de transición entre la ovulación y la transformación del cuerpo hemorrágico en cuerpo lúteo (Dickie *et al.*, 1999), a causa de la multiplicación y transformación de las células de la granulosa y la teca interna en células luteínicas (Scaramuzzi *et al.*, 1993). El cuerpo hemorrágico funciona como medio nutritivo para la proliferación de células luteínicas (Ginther *et al.*, 1996). En ovinos dura dos días iniciando con la ovulación y termina al alcanzar el cuerpo lúteo su plena funcionalidad (Belloc y Briois, 1990).

Diestro

Se caracteriza por la plena funcionalidad del cuerpo lúteo, el cual secreta las máximas cantidades de progesterona (Arroyo-Ledesma *et al.*, 2006); durante el diestro desaparecen las contracciones uterinas predominando un estado de quietud (Driancourt *et al.*, 1991). El diestro ocupa la mayor parte del ciclo estral y en ovinos dura de 11 a 12 días (Caraty *et al.*, 1995).

Duración del ciclo estral

La duración del ciclo estral oscila de 16-17 días en ovejas (Hunter, 1991; Neary, 1992) y tiende a incrementarse hacia el final de la estación reproductiva (Fukui *et al.*, 1999).

2.1.5 Anestro

En especies estacionales, anestro es la etapa de inactividad del eje hipotálamo –hipófisis- ovario (Caraty *et al.*, 1995), en la cual hay ausencia de ovulación y manifestaciones de estro (Durotoye *et al.*, 1991), causado por la baja frecuencia

de secreción de los pulsos de LH (2 pulsos/24 h) y ausencia de progesterona (O'Callaghan *et al.*, 1991). El fotoperiodo es la principal causa ambiental que controla la actividad reproductiva anual de las ovejas (Malpaux *et al.*, 1997), las cuales presentan una máxima sensibilidad al fotoperiodo y baja concentración de LH durante el anestro (días largos) (Deveson *et al.*, 1992). En cambio, la sensibilidad de las ovejas al fotoperiodo es mínima durante la época reproductiva (días cortos), lo cual permite que la LH propicie el desarrollo folicular (Wuliji *et al.*, 2003).

2.2 Líquido folicular

El líquido folicular se origina principalmente en el plasma periférico por trasudación (Orsi *et al.*, 2005) a través de la lámina basal folicular y se acumula en el antro formado por la coalescencia de pequeños sacos con líquido (Nandi *et al.*, 2007). La composición del fluido folicular (Cuadro 1) afecta el desarrollo del ovocito (Ocaña *et al.*, 1997), mantiene el ambiente interno del folículo y contribuye en los procesos de ovulación (Yamada y Gentry, 1994).

Cuadro 1. Componentes del líquido folicular con respuesta estimuladora o inhibidora.

Sustancia	Respuesta fisiológica
Factor inhibidor de la maduración de ovocitos	Inhibe la terminación de la meiosis del ovocito
Factor inhibidor de la luteinización	Inhibe la luteinización de las células de la granulosa
Factor inhibidor de la unión de FSH al receptor	Inhibe la unión de FSH a las células de la granulosa
Inhibina	Inhibe la secreción de FSH
Factor estimulador de la luteinización	Estimula la luteinización de células de la granulosa

Armstrong y Webb (1997).

2.2.1 Composición bioquímica del líquido folicular

El líquido folicular es modificado por actividades metabólicas foliculares (Jeffrey *et al.*, 1980); además, posee constituyentes específicos sintetizadas por las células de la pared folicular (Nambo *et al.*, 2006). Su composición bioquímica varía con la madurez folicular (Beg y Ginther, 2006). El fluido folicular de los folículos antrales grandes a diferencia de los pequeños contienen concentraciones altas de 17- β estradiol (Findlay *et al.*, 1987), y conforme se aproxima la ovulación los folículos preovulatorios acumulan factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF), esteroides (principalmente, estradiol, progesterona y 4-androstenediona), inhibina-A, péptidos (Beg y Ginther, 2006), receptores de gonadotropinas, receptores de LH (Gigli y Agüero, 2006), además factor inhibidor de la maduración de los ovocitos (Armstrong y Webb, 1997).

2.2.2 Líquido folicular equino (LFE)

La procedencia del LFE comienza en folículos de 0.2 a 0.4 mm, siendo el folículo preovulatorio mayor a 35 mm (Gigli y Agüero, 2006), el que presenta concentraciones mayores de estradiol, IGF-I, activina-A e inhibina-A (González y Foote, 1991; González *et al.*, 1999). Cuando un folículo primordial empieza a convertirse en un folículo preovulatorio, el diámetro del folículo aumenta linealmente con el aumento del volumen del ovocito (Yamada y Gentry, 1994). Nambo *et al.* (2006), determinaron una concentración de inhibina y estradiol de 88 y 4040 ng mL⁻¹ en el líquido folicular equino de folículos preovulatorios.

2.2.3 Obtención y procesamiento del líquido folicular equino

El LFE se obtiene de los folículos visibles de ovarios de yeguas (Hernández *et al.*, 1997). Los ovarios se transportan en un contenedor a un laboratorio y se examinan visualmente identificando los folículos que contienen fluido folicular para que se aspire (Ocaña *et al.*, 1997) con una jeringa. Posteriormente se centrifuga a 3000 rpm durante 30 minutos para eliminar los detritos celulares y se conserva a -5 °C (Hernández *et al.*, 1997).

El procedimiento para aplicar LFE vía intravenosa es el siguiente: ya aspirado el fluido folicular se centrifuga a 1000 rpm durante 15 minutos a 4 °C para eliminar los detritus celulares, con la finalidad de remover las hormonas esteroides presentes en el LFE, se adiciona carbón activado (10 mg mL⁻¹) más dextrán (0.1 mg mL⁻¹) y se agita durante una h a 25 °C. Para retirar el carbón activado más dextrán se centrifuga a 3000 rpm durante 30 minutos a 4 °C. Finalmente se agrega penicilina G sódica (100 UI mL⁻¹) para evitar la contaminación microbiana y se mantiene a -20 °C hasta su utilización (Mejía *et al.*, 1998).

Cuando se desea aplicar el fluido folicular vía intramuscular se succiona en condiciones estériles el líquido de los folículos visibles con jeringa de 5 mL, posteriormente se coloca en tubos de ensayo para su centrifugación a 3500 rpm durante 30 minutos y se almacena a -5 °C hasta el momento de aplicarlo (Hernández *et al.*, 2001).

2.2.4 LFE y sincronización de estros en ovejas

El líquido folicular equino representa una fuente rica en inhibina (hormona glucoproteínica producida por las células de la granulosa) (García *et al.*, 2001). La función de la inhibina es inhibir el desarrollo folicular y en consecuencia disminuir la concentración de estradiol, retrasando la presencia del estro (Hernández *et al.*, 1997). Ortiz (2006) utilizó LFE los días 10 y 12 en un programa de sincronización de 12 días, encontrando un retraso en el tiempo de inicio al estro. Resultados similares reportaron Salazar (2001), Hernández, (2003) y Santos y Huerta (2004), cuando se aplicó LFE a ovejas Pelibuey (Cuadro 2).

Cuadro 2. Aplicación intramuscular de 2 mL de líquido folicular equino en diferentes días del programa de sincronización de estros y su respuesta en variables reproductivas.

Día de aplicación	Especie	Incidencia de estros, %	Inicio al estro, h	Duración del estro, h	Fertilidad, %	Prolificidad	Autor
0 ^z	Ovinos P ^y	100	29.98	38.8	40.0	1.33	Hernández, 2003
6	Ovinos P ^y	100	33.94	39.92	70.0	2.00	Hernández, 2003
12	Ovinos P ^y	88.8	36.75	33.5	62.5	1.80	Santos y Huerta, 2004
10	Ovinos P ^y	100	50.50	35.98	74.0	1.78	Salazar, 2001
10	Cabras	100	61.20	NR ^x	44.4	2.00	Ortiz, 2006
12	Cabras	100	38.00	NR ^x	88.9	1.57	Ortiz, 2006

0^z = Momento de inserción de esponja; ^yP = Pelibuey; ^xNR = No reportado.

Hernández (2003) al aplicar LFE (sin remover esteroides) vía intramuscular el día 6 después de la inserción de la esponja obtuvo 70% de gestación y 2.0 de prolificidad, mientras que cuando lo aplicó al momento de colocar la esponja (día cero) encontró 60% y 1.6, respectivamente.

Hernández *et al.* (2004) evaluaron el efecto de la administración de LFE libre de esteroides en ovejas. Las concentraciones de estradiol y progesterona en el líquido folicular antes del procesamiento fueron de 760 ng mL⁻¹ y 124 ng mL⁻¹ y después del tratamiento de 0.4 ng mL⁻¹ y 0.02 ng mL⁻¹, respectivamente. Los autores sincronizaron las ovejas y al día 11 del ciclo estral formaron 2 grupos: el grupo LFE recibió 3 mL de LFE vía intravenosa cada 8 h hasta que las ovejas mostraron estro, el grupo testigo recibió 3 mL de solución salina fisiológica cada 8 h, y se obtuvieron muestras sanguíneas diariamente para determinar la concentración de progesterona y FSH. El tratamiento con LFE redujo la secreción de FSH, originando folículos ováricos de menor tamaño con menores concentraciones de estradiol, finalmente ocasionando un alargamiento de la fase lútea. Los resultados concuerdan con los señalados por Mejía *et al.* (1998) quienes reportaron alargamiento de la fase lútea en cuatro de 13 ovejas (30.76%) al administrar 3 mL de LFE con intervalos de 8 h durante 3 días.

García *et al.* (2001) encontraron en ovejas Rambouillet una tasa de ovulación de 2.9 ± 0.29 cuerpos lúteos cuando aplicaron LFE, mientras que para el grupo

testigo fue de 1.23 ± 0.12 . Se ha observado en ovejas que el LFE suprime el crecimiento folicular, particularmente de los folículos > de 4 mm de diámetro y es posible que provoque la eliminación del folículo dominante, lo que permite un aumento en el número de folículos potencialmente reclutados por la FSH (Hernández *et al.*, 1997).

2.3 Sincronización de estros en ovejas

El objetivo de la sincronización es tener hembras en estro al mismo tiempo, reducir el periodo de detección del estro y realizar inseminación artificial (López, 2001). Los métodos más utilizados para la sincronización del estro y estimulación del crecimiento folicular en ovejas incluyen la progesterona, los progestágenos y el uso de eCG (Godfrey *et al.*, 1998; Uribe *et al.*, 2008).

La sincronización de estros facilita:

1. Emplear técnicas de superovulación y trasplante de embriones.
2. Reducir el costo de mano de obra en los programas de inseminación artificial.
3. Hacer más factible la inseminación artificial al reducir problemas de manejo.
4. Planear los nacimientos cuando hay mayor producción de forraje.
5. Facilitar la alimentación en grupos uniformes.
6. Realizar un calendario de fechas probables de parto.
7. Disminuir el tiempo dedicado a la detección de estros.
8. Mejorar las prácticas de manejo en general (Smith *et al.*, 1971; Tritschler *et al.*, 1991).

2.3.1 Sincronización con productos hormonales

La utilización de productos hormonales para el control del ciclo sexual tiene el objetivo de permitir una reorganización de la empresa ovina y un racional aprovechamiento de los distintos factores de producción (Córdova *et al.*, 2008). La mayoría de los productos hormonales disponibles actúan a nivel ovárico (Greyling *et al.*, 1997; Córdova *et al.*, 1999), de manera que su eficacia se sustenta en su acción directa a nivel folicular o luteal, o bien en la

retroalimentación positiva o negativa que ejercen los esteroides ováricos (progesterona y estradiol) en el eje hipotálamo-hipofisario (Ehnert y Moberg, 1991).

Sincronización del estro utilizando progestágenos

La administración de progesterona o de un progestágeno sintético induce una fase lútea artificial que provoca una inhibición temporal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Molina-Mendoza *et al.*, 2005). Cuando se suprime la acción del progestágeno, el estro aparece de 36 a 48 h si el tratamiento se realiza en la estación sexual (Wildeus, 2000). En la época de anestro se inyecta además eCG (Aké *et al.*, 2003), la cual actúa a nivel de ovario logrando la agrupación de los estros y un aumento de la tasa de ovulación (Hamra *et al.*, 1989).

Los principales progestágenos utilizados son el acetato de fluorogestona (FGA), el acetato de Medroxiprogesterona (MAP) y el Norgestomet (Morgan *et al.*, 1993), los dos primeros compuestos se aplican por vía intravaginal con esponjas y el Norgestomet se aplica en implantes subcutáneos (Trejo *et al.*, 1991). Las dosis comúnmente utilizadas de progestágenos para la sincronización de estros en el caso de la progesterona es de 300 mg, FGA de 30 a 40 mg, MAP de 40 a 60 mg y norgestomet de 2 a 3 mg (Wildeus, 2000).

Progestágenos orales

La administración oral contempla la utilización de progestágenos oralmente activos en un periodo de 8 a 14 días. El progestágeno oral más comúnmente utilizado es el acetato de melengestrol (MGA) en dosis de 0.1-0.3 mg animal⁻¹ día⁻¹ (Perry *et al.*, 2004). Méndez *et al.* (2000) utilizaron 0.22 mg de MGA mezclado en el alimento durante nueve días en ovejas y obtuvieron 57% de estros a las 68 h de suspender el tratamiento. Resultados similares (58%) reportaron Umberger *et al.* (1994) con 0.3 mg durante 10 días. Mientras que Powell *et al.* (1996) usaron 0.25 mg durante 14 días y lograron 60% de estros 54 h después del tratamiento. La desventaja de la vía oral es la falta de uniformidad en la dosificación debido a que se administra mezclado con

alimentos pulverizados (Quispe *et al.*, 1994). Con la finalidad de concentrar más la presentación de celos se han aplicado estrógenos sintéticos (Zeranol) al momento de finalizar el tratamiento (Powell *et al.*, 1996).

Implantes subcutáneos

El implante subcutáneo impregnado de progestágeno se coloca debajo de la piel de la oreja (Córdova *et al.*, 2008) o bajo el hoyuelo de la pata delantera, con la ayuda de un aplicador especial. El retiro se hace mediante incisión de la piel (Crosby *et al.*, 1991). El dispositivo insertado permanece de 9 a 14 días y se utilizan de 2 a 3 mg de norgestomet, además comúnmente se combina con eCG y PGF_{2α} (Wildeus, 2000). El inicio del estro varía de 36 a 48 h después de finalizado el tratamiento (Cardwell *et al.*, 1998). El intervalo medio desde el final del tratamiento hasta la ovulación es de aproximadamente 55 h (Brunet *et al.*, 1995). Jabbar *et al.* (1994) utilizaron 3 mg de norgestomet durante 10 días y reportaron 72% de estros, por su parte Tritschler *et al.* (1991) con 2 mg pero con 14 días reportaron 96% de celos 48 h después del retiro del implante.

CIDR

EL CIDR (Controlled internal drug release) es un dispositivo intravaginal de silicona (Wheaton *et al.*, 1993) impregnado de progesterona natural y se utilizan dosis de 300 a 330 mg (Godfrey *et al.*, 1998). Los protocolos usados con CIDR son similares a los de esponjas intravaginales permaneciendo de 10 a 14 días (Wildeus, 2000). El estro se presenta de 24 a 48 h después del retiro del dispositivo (Thompson *et al.*, 1990). Carlson *et al.* (1989) reportaron 91% de celos y 95% de fertilidad al utilizar CIDR durante 12 días.

Esponjas intravaginales

Las esponjas intravaginales impregnadas con FGA o MAP se introducen en la vagina de la oveja, y permanecen insertadas por periodos de 10 a 14 días (Boscós *et al.*, 2002). Las ovejas manifiestan estro entre 24 y 48 h después de retirar la esponja (Crosby *et al.*, 1991). Al comparar esponjas impregnadas con los dos tipos de progestágenos, no se han reportado diferencias en la incidencia

de estros (85 a 100%), por lo que la recomendación de utilizar cualquiera de las dos es indistinta (Greyling *et al.*, 1997).

La respuesta depende de factores como raza, edad, estado fisiológico y condición corporal (Cushwa *et al.*, 1992) al aplicar el tratamiento y factores externos como estación, alimentación, estado sanitario y manejo de machos en el empadre (Braden *et al.*, 1989). También la habilidad del operador al insertar las esponjas puede incidir en los resultados reproductivos finales (López, 2001).

Prostaglandinas (PGF_{2α})

La acción de PGF_{2α} depende de la presencia de un cuerpo lúteo (CL) en el ovario (Beck *et al.*, 1993). El CL es sensible a las prostaglandinas desde el día 4 al 14 del ciclo estral (Twagiramungu *et al.*, 1992), el mayor efecto se observa en CL maduros (Urviola *et al.*, 2005). La regresión del CL es causada por la PGF_{2α} secretada por el útero en el día 13-16 post estro (Nancarrow *et al.*, 1982). La aplicación de PGF_{2α} entre los días 4 a 6 del ciclo y una segunda dosis con 9 a 10 días de diferencia, generó 100% de ovejas en estro 40 h después de la aplicación (Urviola *et al.*, 2005).

La aplicación de prostaglandinas entre los días 5 al 14 del ciclo estral provoca la regresión del cuerpo lúteo, y el estro se presenta entre 48 y 72 h después del tratamiento (Hernández *et al.*, 2001). La dosis también afecta la respuesta ya que la aplicación de 20 mg de PGF_{2α} indujo el estro en todas las ovejas y al utilizar 15 mg solo el 70% respondieron (Rantala *et al.*, 2008). Su mayor inconveniente es que únicamente son efectivas en ovejas que se encuentran en la fase lútea (Karsch *et al.*, 1984).

2.4 Inducción de celos en época de anestro

La inducción del celo y la ovulación en las ovejas es factible durante la temporada de anestro estacional (Fukui *et al.*, 1994; Córdova *et al.*, 1999; Porras *et al.*, 2003). Los métodos más utilizados para la inducción del celo y estimulación del crecimiento folicular en época de anestro son el uso de progestágenos y la administración intramuscular de eCG (Caraty *et al.*, 1995;

Uribe *et al.*, 2008). Además del uso de melatonina y bioestimulación como efecto macho y socialización de hembras.

2.4.1 Progestágenos combinados con eCG

Para que los progestágenos sean efectivos en época de anestro necesitan combinarse con gonadotropinas (Romano *et al.*, 1996). Regularmente se utiliza eCG que ejerce actividad de FSH y LH, estimulando el crecimiento folicular y la ovulación (Joseph *et al.*, 1995). La dosis utilizada varía de 400 a 600 UI (Wildeus, 2000). Tritschler *et al.* (1991) trabajaron ovejas en época de anestro y aplicaron 500 UI de eCG dos días antes del retiro de la esponja y reportaron 96% de estros y 59% de fertilidad, mientras que Jabbour y Evans (1991) con 400 UI obtuvieron 90% de estros y también 59% de fertilidad.

2.4.2 Melatonina

La melatonina es secretada por la glándula pineal (Wuliji *et al.*, 2003) y liberada a la circulación periférica, la duración del pico nocturno varía según las h de oscuridad, lo cual está determinado por la estación del año, si es invierno o verano (Maeda y Lincoln, 1990). La duración del periodo de secreción se relaciona con los efectos del fotoperiodo y su influencia en el sistema neuroendócrino (Williams *et al.*, 1992). Como señal inductora la melatonina estimula la secreción pulsátil de GnRH, disminuyendo el poder inhibitor del estradiol. En contraste, como señal supresora inhibe al centro generador de pulsos de la GnRH, aumentando la acción generadora del estradiol (Legan y Karsch, 1980).

La melatonina modifica la retroalimentación negativa de los esteroides sobre la actividad neuroendócrina (Karsch *et al.*, 1984) por lo que al utilizar implantes subcutáneos de melatonina de 18 mg (Regulin)[®] para adelantar la estación reproductiva, las ovejas reaccionan como si percibieran un día corto (O'Callaghan *et al.*, 1991; Porras *et al.*, 2003).

2.4.3 Efecto macho

La introducción de machos diferentes a los que normalmente están habituados las ovejas induce la ovulación (Pearce y Oldham, 1988) debido a las señales originadas por las feromonas que estimulan la función ovárica y desencadenan un incremento en la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH (González *et al.*, 1991; Álvarez y Zarco, 2001). Para que el efecto macho se presente es necesario que las hembras se aislen previamente del mismo (Shelton, 1990) por lo menos 3 a 4 semanas (Eldon, 1993). La mayoría de las hembras ovulan en los siguientes dos días después de la introducción del macho (Noel *et al.*, 1993).

El efecto macho es una técnica económica que puede usarse para estimular la ovulación durante la época de anestro (Phillips *et al.*, 1994). El uso de machos “estimulados” mediante el contacto previo con hembras en celo mejora la respuesta (Ramos y Ungerfeld, 2006). Dicha estimulación se logra al permitir el contacto de los machos con hembras en estro uno a dos días antes de ser utilizados (Álvarez y Zarco, 2001). Ramón y Sanguinés (2002) al utilizar el efecto macho en ovejas Pelibuey durante abril, lograron una inducción y sincronización de estros de 89.2% con una fertilidad de 80% en un ciclo.

2.4.4 Socialización de hembras

Las hembras pueden utilizar información social (comunicación feromonal de la conducta de estro de otras hembras) para iniciar su actividad reproductiva que a su vez puede ser usada por sus compañeras para coordinar sus eventos reproductivos (Córdova *et al.*, 2002). La información social es captada a través del olfato y por estímulos visuales y auditivos (Álvarez *et al.*, 1999). La oveja en celo atrae a otras ovejas (Galina y Valencia, 2008), por lo que la introducción de hembras en estro a grupos de ovejas anéstricas provoca una respuesta ovulatoria sincronizada de 50% en los primeros tres a cinco días siguientes (Ramos y Ungerfeld, 2006).

2.5 Hormonas para mejorar la tasa ovulatoria

La tasa de ovulación (TO) se define como el número promedio de óvulos liberados en ovejas que se encuentran ciclando (Bartlewski *et al.*, 1995), se determina contando el número de cuerpos lúteos presentes en la superficie de los ovarios ya sea por examinación laparoscópica o utilizando un equipo de ultrasonido transrectal (Dickie *et al.*, 1999). Para mejorar la tasa ovulatoria se utilizan gonadotropinas exógenas, las cuales aumentan la concentración de hormonas esteroideas afectando la dinámica folicular (Miller y Armstrong, 1981).

2.5.1 Gonadotropina coriónica equina (eCG)

La eCG es una glicoproteína secretada por las copas endometriales del útero equino, su función es parecida a FSH y LH (Noel *et al.*, 1994; Alí, 2007). El uso de eCG en los programas de sincronización de celos afecta el crecimiento folicular aumentando la tasa ovulatoria (Uribe *et al.*, 2008; Camacho-Ronquillo *et al.*, 2008). Se han reportado diferencias en la tasa de ovulación de 3.2 ± 0.4 y 2.0 ± 0.0 cuerpos lúteos para ovejas tratadas con eCG en comparación con ovejas control (Husein *et al.*, 1998). Resultados similares han sido reportados por otros investigadores (Rajamahendran *et al.*, 1993; Cardwell *et al.*, 1998; Córdova *et al.*, 1999; Boscos *et al.*, 2002; Barrett *et al.*, 2004). Aunque algunos autores indican que la mayor tasa ovulatoria obtenida al aplicar eCG, se asocia con la tasa ovulatoria natural de las ovejas como se observa en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Efecto de eCG sobre la tasa ovulatoria en ovinos.

Raza	Tasa ovulatoria		Diferencia	Autores
	0 UI de eCG	500 UI de Ecg		
Criolla	1.1	2.0	+0.9	Córdova <i>et al.</i> , 1999
Pelibuey	1.5	4.4	+2.9	Avendaño-Reyes <i>et al.</i> , 2007
Romanov	3.0	8.2	+5.2	Driancourt, 1987

La dosis de eCG aplicada puede ser de 100 a 500 UI sin que la incidencia de estros sea modificada (Martínez-Tinajero *et al.*, 2006; Avendaño-Reyes *et al.*, 2007) o tan alta como 500 a 1000 UI de eCG, obteniendo los mismos resultados (Fukui *et al.*, 2002; Horoz y Kasirci, 2003). Sin embargo, dosis superiores a 750 UI pueden ser indeseables debido a una sobreestimulación de los ovarios, manifestándose en una reducción de fertilidad y tamaño de camada (Crosby *et al.*, 1991; Avendaño-Reyes *et al.*, 2007). La prolificidad es afectada por la dosis de eCG (Figura 1) (Mehmet *et al.*, 2006), además depende de la tasa ovulatoria (Driancourt, 1987).

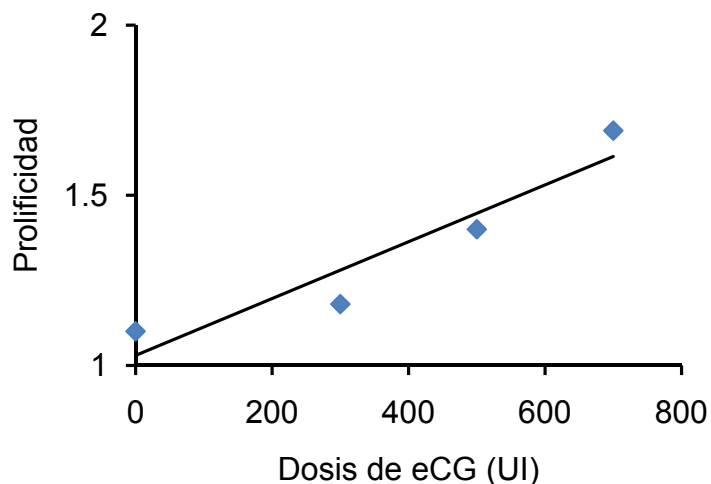


Figura 1. Efecto de la dosis de eCG en prolificidad de ovejas Merino x Akkaraman (Mehmet *et al.*, 2006).

2.5.2 Gonadotropina Coriónica Humana (hCG)

La hCG es producida por la placenta, está presente en suero y orina de mujeres embarazadas. Su actividad biológica es similar a la de LH (Rao y Lei, 2007), tiene una vida media de 32-37 h, lo cual permite una actividad prolongada. Esta hormona tiene la misma cantidad de FSH que de LH (Rubianes *et al.*, 1995) y los tratamientos consisten en aplicaciones intramusculares cada 12 h en dosis decrecientes por 3 a 5 días (Córdova *et al.*, 2008). La hCG estimula el cuerpo lúteo para mantener las secreciones de estrógenos y progestágenos (Catalano *et al.*, 2006).

Braden *et al.* (1989) indujeron la ovulación en ovejas durante la época reproductiva aplicando progesterona durante 14 días, seguida de una inyección de hCG, la mayoría de las ovulaciones se presentaron entre 20 y 28 h después de la aplicación y encontraron una tasa ovulatoria promedio de 8 ± 2 cuerpos lúteos.

2.5.3 Hormona folículo estimulante (FSH)

La FSH se utiliza para la estimulación de la ovulación con la finalidad de inducir un aumento en el número de folículos en crecimiento y estimular su desarrollo (Roche, 1996). La FSH ovina o porcina tienen vida media de 5 h, requiriendo de 6 a 8 inyecciones a intervalos de 12 h, iniciadas 2 ó 3 días antes de remover el progestágeno (Córdova *et al.*, 2008). Aké *et al.* (2003) superovularon 10 ovejas Pelibuey con 25 mg de hormona folículo estimulante vía intramuscular. Aplicaron inyecciones cada 12 h durante cuatro días en dosis decrecientes (5-4, 4-3, 3-2 y 2-2 mg), encontrando un 70% de respuesta al estímulo superovulatorio y un promedio de 8.28 cuerpos lúteos.

En ovinos, la administración de FSH en los protocolos habituales con inyecciones cada 12 h comienza a actuar sobre la población folicular presente en el ovario entre 12 y 24 h del inicio del tratamiento. A partir de ese momento y hasta las 48 h se observa un marcado crecimiento de los folículos de 2 a 5 mm de diámetro. Los folículos en crecimiento alcanzarán el tamaño preovulatorio entre las 36 y 60 h pero principalmente entre las 48 y 60 h (Neary, 1992). El perfil de crecimiento varía en función del tipo de preparado comercial de FSH (Rantala *et al.*, 2008) y de su protocolo de aplicación; sin embargo, una característica constante de los folículos que ovulan como consecuencia de la administración de dosis superovulatorias de gonadotropinas es su menor tamaño respecto al de los folículos ovulatorios presentes durante el ciclo sexual (Driancourt *et al.*, 1991; Sakurai *et al.*, 1995).

2.5.4 Inhibina

La inhibina es una glicoproteína de origen gonadal, formada por dos subunidades la α y β (Kretser *et al.*, 2002; Watson *et al.*, 2002), las cuales se encuentran unidas por puentes disulfuro (Beg y Ginther, 2006). Existen dos formas de subunidad β : la β_A y la β_B , las cuales se asocian con una única subunidad α dando lugar a la formación de los dímeros inhibina A e inhibina B (Ginther *et al.*, 2001). Las diferencias se encuentran en la variación de la secuencia de aminoácidos de la subunidad β ; la inhibina A consiste de α - β_A y la inhibina B de α - β_B , (Roser *et al.*, 1994). La inhibina regula la secreción de FSH mediante un mecanismo de retroalimentación negativo a nivel de la expresión del gen que codifica la subunidad β de la gonadotropina (Kretser y Robertson, 1989; Padilla y Holtz, 2006). Las fuentes de producción de inhibina más importantes son las células de la granulosa en el ovario y las células de Sertoli en el testículo (Bergfelt *et al.*, 2001).

Las células de la granulosa sintetizan inhibinas A y B (Kretser y Robertson, 1989) y su producción está regulada por FSH, factores de transformación del crecimiento β (TGF- β), factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF-I), activina y folistatina (Campbell *et al.*, 1991; Kretser *et al.*, 2002). La inhibina B es producida en correlación positiva con FSH durante los estadios tempranos del desarrollo folicular (Gastal *et al.*, 1999). Por el contrario, la concentración de inhibina A es alta en el folículo preovulatorio (Bergfelt *et al.*, 1991; Campbell y Baird, 2001).

Algunos estudios con preparaciones impuras de inhibina han demostrado que su mecanismo de acción provoca una disminución en la sensibilidad de GnRH (Donadeu y Ginther, 2001), reduciendo el número de receptores de FSH en las células neurosecretoras de la pituitaria (Miller *et al.*, 1981). En condiciones de cultivo su tiempo medio es de 15 minutos (Robertson *et al.*, 1986).

Las células granulosas de folículos grandes producen más inhibina que las de los folículos pequeños (Miller *et al.*, 1979; Beg y Ginther, 2006). Además el

incremento de inhibina en la fase folicular coincide con el pico máximo de LH (Ginther, 2000), lo cual se refleja en altas concentraciones de inhibina en el fluido folicular (Ginther *et al.*, 2000; Donadeu y Ginther, 2002; Medan *et al.*, 2004). La aplicación de fluido folicular bovino (FFb) en ovejas reduce la concentración de FSH 6-8 h después de su última aplicación (Larson *et al.*, 1987; Herrera-Álvarez *et al.*, 1998), posteriormente alcanza su máxima concentración a las 40-41 h (McNeilly, 1984; Wallace *et al.*, 1985; Wallace y McNeilly, 1985). Según Larson *et al.* (1987) es posible que el fluido folicular actúe directamente en el ovario, sin embargo, su mecanismo de acción aún no es claro (Wheaton *et al.*, 1996; García *et al.*, 2001).

Inmunización contra inhibina

La inmunización activa contra inhibina ha sido utilizada en algunos casos como método de superovulación (Baird *et al.*, 1991). La inmunización activa de ovejas contra esteroides e inhibina aumenta la tasa de ovulación (Dickie *et al.*, 1999). Los estrógenos son inhibidores de la retroalimentación negativa de LH y FSH, por lo que la inmunización contra estradiol e inhibina aumenta notablemente la secreción de gonadotropinas (Findlay *et al.*, 1987). El aumento de la tasa de ovulación se puede atribuir a la alta concentración de FSH en los animales inmunizados (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

Otros autores han encontrado que la inmunización contra inhibina en ovejas aumenta la concentración de FSH 12 h después del tratamiento (Kusina *et al.*, 1995). Por su parte, Wheaton *et al.* (1996) reportaron que la inmunización contra inhibina 48 h antes de remover el progestágeno incrementa la concentración de FSH en un 78%, de 24 a 30 h después de retirar el progestágeno. La aplicación de Inhibina A suprime FSH, a partir de 6 h después de la primera aplicación hasta 12 h después de la última aplicación (Findlay *et al.*, 1990).

2.5.5 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

La GnRH se produce en el hipotálamo, el cual envía una señal a la pituitaria para que libere las gonadotropinas FSH y LH, las que actúan a nivel de los

folículos. La secreción de LH y FSH depende de la liberación pulsátil de GnRH (Recabarren *et al.*, 2006). La vida media de GnRH es de 3-4 minutos (Maltaris *et al.*, 2007). Bozkurt y Mehmet (2006) aplicaron 10 µg de buserelina, un agonista de GnRH, a 15 ovejas (Merino x Akkaraman crossbred) aumentando la fertilidad en un 90.9%. Este mismo agonista en vacas produce entre las 2 y 4 h un pico de LH y FSH que, dependiendo del número de receptores que presenten los folículos puede inducir la ovulación o la atresia de folículos medianos y grandes (Rantala *et al.*, 2008). La eliminación de los folículos mayores de 4 mm presentes en el ovario al inicio del tratamiento mediante la aplicación continua de GnRH induce un mayor número de ovulaciones (Uribe *et al.*, 2008).

2.6 Literatura citada

- Aké L., J. R., M. Heredia A., M. Alfaro G., F. Centurión C., y O. Rojas R. 2003. Efecto de la hormona eCG en la respuesta superovulatoria y de la sincronía del estro en el porcentaje de gestación de ovejas Pelibuey. *Veterinaria México* 34: 225-233.
- Ali, A. 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research* 72: 33-37.
- Álvarez R., L., A. E. Ducoing W., L. A. Zarco Q., y A. M. Trujillo G. 1999. Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. *Veterinaria México* 30: 25-31.
- Álvarez R., L., y L. A. Zarco Q. 2001. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Veterinaria México* 32: 117-129.
- Armstrong, D. G., and R. Webb. 1997. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviews of Reproduction* 2: 139-146.
- Arroyo-Ledesma, J., J. Gallegos-Sánchez, A. Villa-Godoy, y J. Valencia-Méndez. 2006. Sistemas de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja. *Interciencia* 31: 8-15.
- Avendaño-Reyes, L., F. D. Álvarez-Valenzuela, L. Molina-Ramírez, R. Rangel-Santos, A. Correa-Calderón, J. Rodríguez-García, M. Cruz-Villegas, P. H. Robinson, and T. R. Famula. 2007. Reproduction performance of Pelibuey ewes in response to estrus synchronization and artificial insemination in northwestern Mexico. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6: 807-812.
- Azzarini, M. 1992. Reproducción de ovinos en América Latina. Algunos resultados de la investigación sobre factores determinantes del desempeño reproductivo y su empleo en condiciones de pastoreo. *Producción Ovina* 5: 7-56.
- Baird, D. T., B. K. Campbell, G. E. Mann, and A. S. McNelly. 1991. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 43: 125-138.
- Barrett, W. M., P. M. Bartlewski, M. A. Batista, A. Symington, and N. C. Rawlings. 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing. *Theriogenology* 61: 311-327.

- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1995. The presence of the corpus luteum and/or embryo during pregnancy influences ovarian follicular development in the post-partum ewe. *Journal of Reproduction and Fertility* 16: 9-15.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 2000. An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicle and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology* 54: 229-245.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, S. J. Cook, and N. C. Rawlings. 1998. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 113: 275-285.
- Beard, A. P., and M. G. Hunter. 1994. Effects of bovine follicular fluid and exogenous oestradiol on the GnRH-induced short luteal phase in anoestrous ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 100: 211-217.
- Beck, N. F., M. B. Davies, and S. P. Williams. 1993. Oestrous synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. *Animal Production* 56: 207-210.
- Beg, M. A., and O. J. Ginther. 2006. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction* 132: 365-377.
- Belloc, J. P., and M. Briois. 1990. Elite Lacaune ewes pretreated with a GnRH antagonist yield more usable embryos following pFSH. *Journal of Reproduction and Fertility* 52: 12-15.
- Bergfelt, D. R., B. G. Mann, N. B. Schwartz, and O. J. Ginther. 1991. Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *Journal of Equine Veterinary Science* 11: 319-322.
- Bergfelt, D. R., E. L. Gastal, and O. J. Ginther. 2001. Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. *Biology of Reproduction* 65: 426-432.
- Blissitt, M. J., K. P. Bland, and D. F. Cottrell. 1994. Detection of oestrous-related odour in ewe urine by rams. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 189-191.
- Boscós, M. C., F. C. Samartzi, S. Dellis, A. Rogge, A. Stefanakis, and E. Krambovitis. 2002. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology* 58: 1261-1272.
- Bozkurt, A. M., and A. Mehmet. 2006. GNRH-PGF2 α and PGF2 α -PGF2 α synchronization in Akkaraman cross-breed sheep in the breeding season. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 50: 101-104.

- Braden, H. A., D. R. Lamond, and H. M. Radford. 1989. Control of the time of ovulation in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 11: 389-401.
- Brunet, A. G., A. L. Sebastian, R. A. Picazo, B. Cabellos, and S. Goddard. 1995. Reproductive response and LH secretion in ewes treated with melatonin implants and induced to ovulate with the ram effect. *Animal Reproduction Science* 39: 23-34.
- Camacho-Ronquillo, J. C., J. C. Rodríguez-Castillo, J. E. Hernández-Hernández, A. Pró-Martínez, C. M. Becerril-Pérez, y J. Gallegos-Sánchez. 2008. Características reproductivas de ovejas Pelibuey sincronizadas e inducidas a la pubertad. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 16: 18-24.
- Campbell, B. K., A. S. McNeilly, and D. T. Baird. 1991. The effect of stage of estrous cycle and follicular maturation on ovarian inhibin production in sheep. *Biology of Reproduction* 44: 483-490.
- Campbell, B. K., and T. Baird. 2001. Inhibin A is a follicle stimulating hormone-responsive marker of granulosa cell differentiation, which has both autocrines and paracrine actions in sheep. *Journal of Endocrinology* 169: 333-345.
- Caraty, A. J., F. Karsch, A. Herbison, G. Bruneau, B. Delaleu, G. Venier, and C. Fabre. 1995. Neuroendocrine control of ovulation in sheep. *Journal of Endocrinology* 56: 539-542.
- Cardwell, B. E., G. Q. Fitch, and R. D. Geisert 1998. Ultrasonic evaluation for the time of ovulation in ewes treated with norgestomet and norgestomet followed by pregnant mares serum gonadotropin. *Journal Animal Science* 76: 2235-2238.
- Carlson, K. M., H. A. Pohl, J. M. Marcek, R. K. Muser, and J. E. Wheaton. 1989. Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispensers for synchronization of estrus in sheep. *Animal Reproduction Science* 18: 205-218.
- Catalano, R., C. González, M. Teruel, J. Cabodevila, y S. Callejas. 2006. Respuesta reproductiva de la oveja a la administración de gonodotropina coriónica humana en el momento del servicio. *Revista Veterinaria* 17: 94-97.
- Chemineau, P., B. Malpoux, J. A. Delgadillo, Y. Guerin, J. P. Ravault, J. Thimonier, and J. Pelletier. 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melanonin. *Animal Reproduction Science* 30: 157-184.

- Córdova I., A., L. Ruiz G., O. Saltijeral J., G. Pérez J., y D. Degefa T. 1999. Inducción y sincronización de celos en ovejas Criollas anéstricas estacionales con esponjas vaginales impregnadas con FGA Y PMSG inyectable. Archivos de Zootecnia 48: 1-4.
- Córdova I., A., M. S. Córdova J., C. A. Córdova J., y J. E. Guerra L. 2008. Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. Revista Veterinaria 19: 67-79.
- Córdova, A., J. Nava R., y J. Pérez F. 2002. Importancia de las feromonas en la reproducción animal. Medicina Veterinaria y Zootecnia 19: 99-107.
- Correa, J. E., B. Bergmann, and R. Gatica. 1994. Fertilization rate in sheep unilaterally inseminated with frozen semen. Small Ruminant Research 13: 99-101.
- Crosby, T. E., M. P. Boland, and I. Gordon. 1991. Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. Animal Reproduction Science 24: 109-118.
- Cruz L., C., S. Fernández B., J. A. Álvarez L., y H. Pérez R. 1994. Variaciones estacionales en presentación de ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria de ovejas Tabasco en el trópico húmedo. Veterinaria México 25: 23-27.
- Cushwa, W. T., G. E. Bradford, G. H. Stabenfeldt, Y. M. Berger, and M. R. Dally. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrus ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. Journal of Animal Science 70: 1195-1200.
- Dahl, G. E., N. P. Evans, L. A. Thrun, and F. J. Karsh. 1995. Thyroxine is permissive to seasonal transitions in reproductive neuroendocrine activity in the ewe. Biology of Reproduction 52: 690-696.
- Deveson, S. L., J. Arendt, and I. A. Forsyth. 1992. The influence of the pineal gland and melatonin on the reproductive performance of domesticated female ungulates. Animal Reproduction Science 30: 113-134.
- Dickie, A. M., C. J. Paterson, L. M. Anderson, and J. S. Boyd. 1999. Determination of corpora lutea numbers in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. Theriogenology 51: 1209-1224.
- Donadeu, F. X., and Ginther O. J. 2002. Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. Biology of Reproduction 66: 1111-1118.

- Donadeu, F. X., and O. J. Ginther. 2001. Effect of number and diameter of follicles on plasma concentrations of inhibin and FSH in mares. *Reproduction* 121: 897-903.
- Driancourt, M. A. 1987. Ovarian features contributing to the variability of PMSG-induced ovulation rate in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 80: 207-212.
- Driancourt, M. A. 1991. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* 35: 55-79.
- Driancourt, M. A., R. Webb, and R. C. Fry. 1991. Does follicular dominance occur in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 93: 63-70.
- Durotoye, L. A., R. Rajkumar, C. M. Argo, R. Nowak, G. E. Webley, M. E. McNelly, N. B. Graham, and R. G. Rodway. 1991. Effect of constant-release melatonin implants on the onset of oestrous activity and on reproductive performance in the ewe. *Animal Production* 52: 489-497.
- Ehnert, K., and G. P. Moberg. 1991. Disruption of estrous behavior in ewes by dexamethasone or management-related stress. *Journal of Animal Science* 69: 2988-2994.
- Eldon, J. 1993. Effect of exogenous melatonin and exposure to a ram on the time of onset and duration of the breeding season in Icelandic sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 99: 1-6.
- Evans, N. P., G. E. Dahl, D. Mauger, and F. J. Karsh. 1995. Estradiol induces both qualitative and quantitative changes in the pattern of gonadotropin-releasing hormone secretion during the presurge period in the ewe. *Journal of Endocrinology* 136: 1603-1609.
- Findlay, J. K., D. M. Robertson, and I. J. Clarke. 1987. Influence of dose and route of administration of bovine follicular fluid and suppressive effect of purified inhibin (M 31 000) on plasma FSH concentrations in ovariectomized ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 80: 455-461.
- Findlay, J. K., I. J. Clarke, and D. M. Robertson. 1990. Inhibin concentrations in ovarian and jugular venous plasma and the relationship of inhibin with FSH and LH during the ovine estrous cycle. *Journal of Endocrinology* 126: 528-535.
- Fukui, Y., D. Ishikawa, N. Ishida, M. Okada, R. Itagaki, and T. Ogiso. 1999. Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four different intravaginal devices during the breeding season. *Journal of Reproduction and Development* 45: 337-343.

- Fukui, Y., K. Iida, A. Okada, Y. Zyouzyou, S. Wachi, and M. Togawa. 2002. Fertility of estrus-induced ewes during the non-breeding season and artificially inseminated with frozen semen imported from New Zealand. *Journal of Reproduction and Development* 48: 485-488.
- Fukui, Y., K. Tabuchi, A. Yamada, N. Ayashi, and K. Tanaka. 1994. Effect of insertion periods of controlled internal drug release device (CIDR) on conception rate by fixed-time intrauterine insemination with frozen semen in seasonally anoestrous ewes. *Journal of Reproduction and Development* 40: 221-226.
- Galina, C., y J. Valencia. 2008. *Reproducción de Animales Domésticos*. 3ª ed. Limusa. México. pp: 457-486.
- García A., A., C. Hernández J., y M. Valencia J. 2001. Efecto de la administración de líquido folicular equino libre de esteroides durante la fase lútea sobre la tasa de ovulación en ovejas Rambouillet. *Veterinaria México* 32: 1-5.
- Gastal, E. L., M. O. Gastal, and O. J. Ginther. 1999. Experimental assumption of dominance by a smaller follicle and associated hormonal changes in mares. *Biology of Reproduction* 61: 724-730.
- Gigli I., R. A., y A. Agüero. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *Veterinaria Argentina* 8: 183-204.
- Ginther, O. J. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science* 60: 61-79.
- Ginther, O. J., M. A. Beg, D. R. Bergfelt, F. X. Donadeu, and K. Kot. 2001. Follicle selection in monovular species. *Biology of Reproduction* 65: 639-647.
- Ginther, O. J., D. R. Bergfelt, L. J. Kulick, and K. Kot. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles. *Biology of Reproduction* 62: 920-927.
- Ginther, O. J., K. Kot, and M. C. Wiltbank. 1995. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43: 689-703.
- Ginther, O. J., M. C. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbison, and K. Kot. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction* 55: 1187-1194.

- Godfrey, R. W., J. R. Collins, E. L. Hensley, and J. E. Wheaton. 1998. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 51: 985-997.
- González B., A., J. M. Santiago, J. M. Cocero, J. H. Souza, R. M. García G., A. López, and D. T. Baird. 1999. Measurement of inhibin A predicts the superovulatory response to exogenous FSH in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 24: 4-9.
- González R., A. J., and W. C. Foote. 1991. Hair sheep in México: reproduction in the Pelibuey sheep. *Journal of Animal Science* 59: 509-524.
- González, R., P. Orgeur, P. Poindron, and J. P. Signoret. 1991. Female effect in sheep. The effects of sexual receptivity of females and the sexual experience of rams. *Reproduction, Nutrition and Development* 31: 97-102.
- Greyling, J. P., J. A. Erasmus, G. J. Taylor, and S. V. Merwe. 1997. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. *Small Ruminant Research* 26: 137-143.
- Guerin, M. V., A. J. Napier, and C. D. Matthews. 1994. Effect of exogenous melatonin and extending the dark period at dusk before the summer solstice on the onset of oestrus in Romney Marsh ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 145-150.
- Hamra, A. H., J. W. McNelly, J. M. Marcek, K. M. Carlson, and J. E. Wheaton. 1989. Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrus ewes. *Animal Reproduction Science* 18: 219-226.
- Haresing, W. 1992. Manipulation of reproduction in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 45: 127-139.
- Hernández C., J., J. Valencia M., y L. Zarco Q. 2001. Regresión del cuerpo lúteo y presentación del estro en ovejas con dos inyecciones de prostaglandina con 8 días de intervalo. *Veterinaria México* 28: 53-57.
- Hernández C., J., L. Zarco Q., H. Kindahl, y J. Valencia M. 2004. Desarrollo folicular, concentraciones de FSH, estradiol y MPGF2 asociado con persistencia lútea inducida por la administración de líquido folicular equino libre de esteroides en la oveja. *Veterinaria México* 35: 1-12.
- Hernández C., J., M. Murcia J., M. Valencia S., J. Rojas M., L. Zárate Q., y L. Zarco Q. 1997. Efecto del líquido folicular equino libre de esteroides sobre la secreción de FSH en ovejas en anestro estacional y la

presentación del estro inducido con PGF2 α en ovejas ciclando. *Veterinaria México* 28: 117-121.

Hernández M., A. 2003. Sincronización de estros en ovejas Pelibuey: efecto del líquido folicular equino. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp: 37-50.

Herrera-Álvarez, R., J. Rodríguez-Pozzi, M. T. Carvalho-Pinto, and C. Nunes-Perone. 1998. Effect of charcoal-treated bovine follicular fluid on the secretion of FSH in ovariectomized and intact prepubertal heifers. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 35: 215-217.

Horoz, H., and G. Kasirci. 2003. Controlling the breeding season using melatonin and progestagen in Kivircik ewes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 27: 301-305.

Hunter, M. G. 1991. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 43: 91-99.

Husein, M. Q., M. T. Bailey, M. M. Ababneh, J. E. Romano, B. G. Crabo, and J. E. Wheaton. 1998. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. *Theriogenology* 49: 997-1005.

Jabbar, G., S. H. Umberger, and G. S. Lewis. 1994. Melengestrol acetate and norgestomet for the induction of synchronized estrus in seasonally anovular ewes. *Journal of Animal Science* 72: 3049-3054.

Jabbour, H. N., and G. Evans. 1991. Ovarian and endocrine responses of Merino ewes following treatment with PMSG and GnRH or PMSG antiserum. *Animal Reproduction Science* 24: 259-270.

Jeffrey, K. Y., R. J. Ryan, and P. J. Dyck. 1980. The porcine ovarian follicle. VI. Comparison of fatty acid composition of serum and follicular fluid at different developmental stages. *Biology of Reproduction* 22: 141-147.

Joseph, I. B., J. P. Ravindra, and N. C. Rawlings. 1995. Oestradiol and the preovulatory surges of luteinising hormone and follicle stimulating hormone in ewes during the breeding season and transition into anoestrus. *Animal Reproduction Science* 40: 291-298.

Karsch, F. J., E. L. Bittman, D. L. Foster, R. L. Goodman, S. J. Legan, and J. E. Obinson. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormone Research* 40: 185-232.

Kassem, R., J. B. Owen, and I. Fadel. 1990. A note on the characteristics of oestrus and ovulation in Awassi ewes. *Animal Production* 50: 198-201.

- Kinder, J. E., M. E. Bergfeld, K. Wehrman, E. Peters, and F. N. Kojima. 1995. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 49: 393-407.
- Kretser, D. M., and D. M. Robertson. 1989. The isolation and physiology of inhibin and related proteins. *Biology of Reproduction* 40: 33-47.
- Kretser, D. M., M. P. Hedger, K. L. Loveland, and D. J. Phillips. 2002. Inhibins, activins and follistatin in reproduction. *Human Reproduction Update* 8: 529-541.
- Kusina, N. T., R. L. Meyer, K. M. Carlson, and J. E. Wheaton. 1995. Passive immunization of ewes against an inhibin-like peptide increases follicle-stimulating hormone concentrations, ovulation rate, and prolificacy in spring-mated ewes. *Journal of Animal Science* 73: 1433-1439.
- Larson, G. H., P. E. Lewis, R. A. Dailey, E. K. Inskeep, and E. C. Townsend. 1987. Follicle stimulating hormone pattern and luteal function in ewes receiving bovine follicular fluid during three stages of the estrous cycle. *Journal of Animal Science* 64: 1491-1497.
- Legan, S. J., and F. J. Karsch. 1980. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: Modulation of negative feedback action of estradiol. *Biology of Reproduction* 23: 1061-1068.
- López S., A. 2001. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *In: Memorias II Curso Internacional: Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. 18 al 21 de septiembre. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México. pp: 1-21.
- Lubbers, L. S., and G. L. Jackson. 1993. Neuroendocrine mechanisms that control seasonal changes of luteinizing hormone secretion in sheep are sexually differentiated. *Biology of Reproduction* 49: 1369-1376.
- Maeda, K., and G. Lincoln. 1990. Phase shifts in the circadian rhythm in plasma concentration of melatonin in rams induced by a 1-hour light impulse. *Journal Biological Rhythm Research* 5: 97-106.
- Malpaux, B. A., J. Delgadillo, y P. Chemineau. 1997. Neuroendocrinología del fotoperiodo en el control de la actividad reproductiva. *In: Memorias del Seminario Internacional: Tópicos Avanzados en la Producción Animal*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp: 23-42.
- Maltaris, T., M. W. Beckmann, H. Binder, and A. Mueller. 2007. The effect of a GnRH agonist on cryopreserved human ovarian grafts in severe combined immunodeficient mice. *Reproduction* 133: 503-509.

- Martínez-Rojero, R. D. 1999. Patrones reproductivos de la oveja Pelibuey en el trópico Mexicano. *Agrociencia* 33: 75-80.
- Martínez-Tinajero, J. J., M. T. Sánchez-Torres, L. Bucio-Alanís, R. Rojo-Rubio, G. D. Mendoza-Martínez, J. L. Cordero-Mora, y O. Mejía-Villanueva. 2006. Efecto de eCG e inseminación laparoscópica sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (Damara x Merino). *Revista Científica* 1: 72-77.
- McNeilly, A. S. 1984. Changes in FSH and the pulsatile secretion of LH during the delay in oestrus induced by treatment of ewes with bovine follicular fluid. *Journal of Reproduction and Fertility* 72: 165-172.
- Medan, M. S., G. Watanabe, Y. Nagura, H. Kanazawa, M. Fujita, and K. Taya. 2004. Passive immunoneutralization of endogenous inhibin increases ovulation rate in miniature Shiba goats. *Journal of Reproduction and Development* 50: 705-710.
- Medrano, J. A. 2000. Recursos animales locales del centro de México. *Archivos de Zootecnia* 49: 385-390.
- Mehmet, A., B. Bülbül, M. A. Bozkurt, and S. Dere. 2006. Induction of multiple births in Akkaraman cross-bred sheep synchronized with short duration and different doses of progesterone treatment combined with PMSG outside the breeding season. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 50: 97-100.
- Mejía V., O., L. Zarco Q., A. Rojas M., M. Rosas G., y J. Valencia M. 1998. Efecto del líquido folicular equino y la somatotropina bovina en la sobrevivencia de embriones ovinos transferidos asincrónicamente. *Veterinaria México* 29: 359-367.
- Méndez M., M., J. Hernández C., N. O. Pacheco R., y A. Porras. 2000. Los tratamientos sincronizadores de estro, utilizando progestágenos en combinación con estrógenos, inducen conducta estral en ovejas ovariectomizadas. *Veterinaria México* 31: 371-373.
- Miller, G. B., and T. D. Armstrong. 1981. Effects of a superovulatory dose of pregnant mare serum gonadotrophin on ovarian function; serum estradiol, and progesterone levels and early embryo development in immature rats. *Biology of Reproduction* 25: 261-271.
- Miller, K. F., J. A. Wesson, and O. J. Ginther. 1979. Changes in concentrations of circulating gonadotropins following administration of equine follicular fluid to ovariectomized mares. *Biology of Reproduction* 21: 867-872.

- Miller, K. F., J. A. Wesson, and O. J. Ginther. 1981. Interaction of estradiol and a nonsteroidal follicular fluid substance in the regulation of gonadotropin secretion in the mare. *Biology of Reproduction* 24: 354-358.
- Miller, K. F., J. K. Critser, R. F. Rowe, and O. J. Ginther. 1979. Ovarian effects of bovine follicular fluid treatment in sheep and cattle. *Biology of Reproduction* 21: 537-544.
- Mitchell, L. M., M. E. King, R. P. Aitken, and J. M. Wallace. 1996. Effect of mating season and body condition on ovulation, fertilization and pregnancy rates in crossbred ewes. *Theriogenology* 45: 293-297.
- Molina-Mendoza, P., M. T. Sánchez-Torres, E. O. García-Flores, A. Martínez-García, M. Cárdenas-León, J. Peralta-Ortiz, J. L. Cordero-Mora, A. Hizarza-Espinoza, y M. E. Ortega-Cerilla. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia* 39: 11-18.
- Moore, L. G., W. N. Chie, N. L. Hudson, and K. P. McNatty. 2000. Isoforms and half-life of FSH from sheep with different reproductive states. *Journal of Endocrinology* 165:185-192.
- Morgan, G. L., R. D. Geisert, J. P. McCann, F. W. Bazer, T. L. Ott, M. A. Mirando, and M. Stewart. 1993. Failure of luteolysis and extension of the interoestrous interval in sheep treated with the progesterone antagonist mifepristone (RU 486). *Journal of Reproduction and Fertility* 98: 451-457.
- Murdoch, W. J. 1995. Programmed cell death in preovulatory ovine follicles. *Biology of Reproduction* 53: 8-12.
- Nambo, Y., K. Hashimoto, R. Nakai, Y. Asai, G. Watanabe, and K. Taya. 2006. Biological significance of follicular fluid discharged into the peritoneal cavity at ovulation in mares. *Animal Reproduction Science* 94: 228-231.
- Nancarrow, D. C., B. M. Evison, and P. J. Connell. 1982. Effect of embryos on luteolysis and termination of early pregnancy in sheep with cloprostenol. *Biology of Reproduction* 26: 263-269.
- Nandi, S., V. Girish, B. M. Manjunatha, and P. S. Gupta. 2007. Biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size. *Development, Growth and Differentiation* 49: 61-66.
- Neary, M. 1992. Reproductive management of the ewe flock and the ram. *Small Ruminant Research* 38: 25-31.
- Noel, B., J. L. Bister, and R. Paquay. 1993. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *Journal of Reproduction and Fertility* 99: 695-700.

- Noel, B., J. L. Bister, B. Pierquin, and R. Paquay. 1994. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. *Theriogenology* 41: 719-727.
- Notter, D. R. 2000. Effects of ewe age and season of lambing on prolificacy in US Targhee, Suffolk and Polipay sheep. *Small Ruminant Research* 38: 1-7.
- O'Callaghan, D., F. J. Karsch, M. P. Boland, and F. J. Roche. 1991. What photoperiod signal is provided by a continuous release melatonin implant. *Biology of Reproduction* 45: 927-933.
- Ocaña, J. M., M. Moreno M., M. Pinedo M., and A. Rodero F. 1997. Influence of different follicular fractions on in vitro maturation of immature bovine oocytes. *Archivos de Zootecnia* 46: 51-59.
- Orsi, N. M., N. Gopichandran, H. J. Leese, H. M. Picton, and S. E. Harris. 2005. Fluctuations in bovine ovarian follicular fluid composition throughout the oestrous cycle. *Reproduction* 129: 219-228.
- Ortiz S., J. A. 2006. Efecto del líquido folicular equino en la tasa ovulatoria de cabras Nubia x Boer sincronizadas con un progestágeno. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp: 36-58.
- Padilla R., G. R., y W. Holtz. 2006. Secreción de LH en cabras Boer inmunizadas activamente contra inhibina recombinante ovina subunidad α . *Veterinaria México* 37: 51-58.
- Pearce, G. P., and M. C. Oldham. 1988. Importance of non-olfactory ram stimulatory in mediating ram induced ovulation in the ewe. *Animal Reproduction Science* 84: 333-339.
- Perry, A. G., W. V. Welshons, R. C. Bott, and M. F. Smith. 2004. Basis of melengestrol acetate action as a progestin. *Domestic Animal Endocrinology* 28: 147-161.
- Phillips, D. J., N. L. Hudson, L. R. Gentle, and K. P. McNatty. 1994. Bioactive follicle stimulating hormone concentrations in the plasma during the estrous cycle of the ewe. *Biology of Reproduction* 51: 1292-1298.
- Porras A., A., L. Zarco Q., y J. Valencia M. 2003. Estacionalidad reproductiva en ovejas. *Ciencia Veterinaria* 9: 6-8.
- Powell, M. R., M. Kaps, W. R. Lamberson, and D. H. Keisler. 1996. Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. *Journal of Animal Science* 74: 2292-2302.

- Quispe, T., L. Zarco, J. Valencia, and A. Ortiz. 1994. Estrus synchronization with melengestrol acetate in cyclic ewes. Insemination with fresh or frozen semen during the first or second estrus post treatment. *Theriogenology* 41: 1385-1392.
- Rajamahendran, R., J. Raniowski, and V. Ravindran. 1993. Effect of PMSG and ram contact on the reproductive performance of progestagen-treated ewes during breeding and anestrus seasons. *Small Ruminant Research* 10: 341-347.
- Ramón U., J. P., y J. R. Sanguinés G. 2002. Respuesta al efecto macho de primas Pelibuey en condiciones de pastoreo y suplementación en trópico. *Técnica Pecuaria en México* 40: 309-317.
- Ramos, M. A., and R. Ungerfeld. 2006. A note on ram preference by oestrous ewes: influence of rams age and sexual performance. *Applied Animal Behaviour Science* 100: 314-318.
- Rantala, H. M., T. Katila, and J. Taponen. 2008. Effect of time interval between prostaglandin F2 α and GnRH treatments on occurrence of short estrous cycles in cyclic dairy heifers and cows. *Theriogenology* 30: 1-9.
- Rao, V. C., and Z. M. Lei. 2007. The past, present and future of nongonadal LH/hCG actions in reproductive biology and medicine. *Molecular and Cellular Endocrinology* 269: 2-8.
- Ravindra, J. P., N. C. Rawlings, A. C. Evans, and G. P. Adams. 1994. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 501-509.
- Rawlings, N. C., I. A. Jeffcoate, and D. L. Reiger. 1984. The influence of oestradiol 17- β and progesterone on peripheral serum concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in the ovariectomized ewe. *Theriogenology* 22: 473-488.
- Recabarren E., S., P. Muñoz, A. Lobos, C. Vilches, y J. Pajarillo. 2006. Análogo de GnRH disminuye la secreción de hormona folículo estimulante (FSH) en ovejas prepúberes. *Archivos de Medicina Veterinaria* 38: 39-46.
- Roberts, J. A. 2000. Frequency of the prolificacy gene in flocks of Indonesian thin tail sheep. *Small Ruminant Research* 36: 215-226.
- Robertson, D. M., F. L. Vos, L. M. Foulds, R. I. McLachlan, H. G. Burger, M. T. Hearn, F. J. Morgan, and D. M. Krester. 1986. Isolation of 31 kDa form of inhibin from bovine follicular fluid molecular and cellular. *Journal of Endocrinology* 44: 271-277.

- Roche, F. J. 1996. Control and regulation of folliculogenesis – a symposium in perspective. *Reviews of Reproduction* 1: 19-27.
- Romano, J. E., E. Rodas, A. Ferreira, I. Lago, and A. Benech. 1996. Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. *Small Ruminant Research* 23: 157-162.
- Roser, J. F., P. M. McCue, and E. Hoyer. 1994. Inhibin activity in the mare and stallion. *Domestic Animal Endocrinology* 11: 87-100.
- Rubianes, E., D. Ibarra, R. Ungerfeld, B. Carbajal, and T. Castro. 1995. Superovulatory response in anestrus ewes is affected by the presence of a large follicle. *Theriogenology* 43: 465-472.
- Rubianes, E., y R. Ungerfeld. 2002. Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina en América Latina en el marco de las actuales tendencias productivas. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 10: 117-125.
- Safranski, T. J., W. R. Lamberson, and D. H. Keisler. 1992. Use of melengestrol acetate and gonadotrophins to induce fertile estrus in seasonally anestrus ewes. *Journal of Animal Science* 70: 2935-2939.
- Sakurai, H., B. M. Adams, and T. E. Adams. 1995. Gonadotroph responsiveness in orchidectomized sheep. IV. Effect of estradiol infusion during the breeding and anoestrus seasons. *Biology of Reproduction* 52: 382-389.
- Salazar O., J. 2001. Sincronización de estros con progestágenos y líquido folicular equino en ovejas Pelibuey. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp: 36-59.
- Santos C., M. R., y A. Huerta S. 2004. Sincronización de estros en la oveja Pelibuey: efecto de la frecuencia de aplicación de líquido folicular equino. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp: 32-43.
- Scaramuzzi, R. J., and D. T. Baird. 1997. Pulsatile release of luteinizing hormone and the secretion of ovarian steroids in sheep during anoestrus. *Journal of Endocrinology* 101: 1801-1806.
- Scaramuzzi, R. J., N. R. Adams, D. T. Baird, B. K. Campbell, J. A. Downing, J. K. Findlay, K. M. Henderson, G. B. Martin, K. P. McNatty, A. S. McNeilly, and C. G. Tsonis. 1993. A Model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, Fertility and Development* 5: 459-478.
- Schrick, F. N., R. A. Surface, J. Y. Prichard, R. A. Dailey, E. C. Townsend, and E. K. Inskeep. 1993. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biology of Reproduction* 49: 1133-1140.

- Serratos E., G., E. García, y J. Valencia. 1985. Estacionalidad reproductiva, tasa de ovulación y características de la gestación de la oveja Criolla. *Veterinaria México* 16: 179-183.
- Shelton, M. 1990. Influence of docking fat-tail (Karaku) sheep on lamb production. *Small Ruminant Research* 3: 73-76.
- Shoenian, G. S., and P. J. Burfening. 1990. Ovulation rate, lambing rate, litter size and embryo survival of Rambouillet sheep selected for high and low reproductive rate. *Journal of Animal Science* 68: 2223-2270.
- Slószar, P., A. Frankowska, and M. Mis. 2003. Transrectal ultrasonography in diagnosing the ovulation rate in sheep. *Journal of Animal Science* 21: 183-189.
- Smeaton, T. C., and H. A. Robertson. 1971. Studies on the growth and atresia of graafian follicles in the ovary of the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 25: 243-252.
- Smith, J. F., and A. J. Allison. 1971. The effect of exogenous progestagen on the production of cervical mucus in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility* 24: 279-282.
- Steinlechner, S., and P. Niklowitz. 1992. Impact of photoperiod and melatonin on reproduction in small mammals. *Animal Reproduction Science* 30: 1-28.
- Thompson, J. G., A. C. Simpson, R. W. James, and H. R. Tervit. 1990. The application of progesterone-containing CIDR devices to superovulated ewes. *Theriogenology* 33: 1297-1304.
- Trejo G., A., R. Soto G., Y. Pérez R., y F. González D. 1991. Efecto de la dosis de PMSG sobre la fertilidad, prolificidad y el intervalo entre partos en ovejas Pelibuey inducidas al estro el día del destete. *In: Memorias del IV Congreso Nacional de Producción Ovina*. San Cristóbal de las Casas, Chiapas. pp: 178-180.
- Tritschler, J. P., R. T. Duby, E. M. Parsons, M. J. Parsons, and D. J. Giordano. 1991. Comparison of two progestagens during out-of-season breeding in a commercial ewe flock. *Theriogenology* 35: 943-952.
- Twagiramungu, H., L. A. Guibault, J. Proulx, and J. J. Dufour. 1992. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology* 38: 1131-1140.
- Umberger, S. H., G. Jabbar, and G. S. Lewis. 1994. Seasonally anovulatory ewes fail to respond to progestagen treatment in the absence of gonadotropin stimulation. *Theriogenology* 42: 1329-1336.

- Uribe V., L. F., E. Oba, y M. I. Souza L. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Archivos de Medicina Veterinaria* 40: 83-88.
- Urviola S., M., V. Leyva V., H. Huamán U., y W. García V. 2005. Manipulación de la ovulación del folículo dominante con prostaglandina en diferentes estadios del ciclo estral sobre las tasas reproductivas en ovinos Corriedale. *Revista de Investigación Veterinaria* 16: 103-113.
- Velázquez L., A., C. Cruz L., y J. A. Álvarez L. 1995. Efecto del nivel de suplementación sobre la presentación del primer estro en ovejas Tabasco nacidas en verano. *Veterinaria México* 26: 107-111.
- Wallace, J. M., A. S. McNeilly, and D. T. Baird. 1985. Ovulation rate and embryo survival in Damline ewes after treatment with bovine follicular fluid in the luteal phase of the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 75: 101-109.
- Wallace, J. M., and A. S. McNeilly. 1985. Increase in ovulation rate after treatment of ewes with bovine follicular fluid in the luteal phase of the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 73: 505-515.
- Watson, D. E., R. Thomassen, M. Steele, M. Heald, R. Leask, P. N. Groome, and C. S. Riley. 2002. Concentrations of inhibin, progesterone and estradiol in fluid from dominant and subordinate follicles from mares during spring transition and the breeding season. *Animal Reproduction Science* 74: 55-67.
- Wheaton, J. E., D. L. Thomas, N. T. Kusina, R. G. Gottfredson, and R. L. Meyer. 1996. Effects of passive immunization against inhibin-peptide on secretion of follicle-stimulating hormone and ovulation rate in ewes carrying the Booroola fecundity gene. *Biology of Reproduction* 55: 1351-1355.
- Wheaton, J. E., K. M. Carlson, H. F. Windels, and L. J. Jonhston. 1993. CIDR: a new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science* 33: 127-141.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. *Journal of Animal Science* 77: 1-14.
- Williams, A. H., S. R. Mcphee, J. R. Reeve, and L. D. Staples. 1992. Optimum use of subcutaneous melatonin implant to enhance the reproductive performance of seasonal and non seasonal sheep joined in spring and early summer. *Animal Reproduction Science* 30: 225-258.

- Wuliji, T., A. Litherland, A. L. Goetsch, T. Sahlu, R. Puchala, L. J. Dawson, and T. Gipson. 2003. Evaluation of melatonin and bromocryptine administration in Spanish goats. Effects on the out of season breeding performance in spring, kidding rate and fleece weight of does. *Small Ruminant Research* 49: 31-40.
- Yamada, M., and P. Gentry. 1994. The hemostatic profile of equine ovarian follicular fluid. *Thrombosis Research* 77: 45-54.

3. APLICACIÓN DE LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO A OVEJAS CRIOLLAS SINCRONIZADAS

3.1 Resumen

El objetivo fue evaluar la eficiencia del líquido folicular equino (LFE) en un protocolo de sincronización de estros en ovejas Criollas. Se sincronizaron 79 ovejas (con un peso vivo promedio de 37 ± 7.1 kg), con esponjas intravaginales con 20 mg de FGA, 10 días después de la inserción se inyectaron 0.075 mg de prostaglandina, el día 11 los animales recibieron 0 (T1; n=20), 2 (T2; n=20), 3 (T3; n=20) ó 4 (T4; n=19) mL de LFE. El LFE se obtuvo aspirando folículos mayores de 20 mm de diámetro, se centrifugó a 3500 rpm por 15 minutos y se almacenó a -5°C hasta su utilización. Las esponjas se retiraron el día 12 y 24 h después se inició la detección de estros. Las ovejas fueron inseminadas por laparoscopia 20 h después del inicio del estro con 100×10^6 de espermatozoides con semen fresco. Se evaluó incidencia de estros (IE, %), tiempo de inicio al estro (TIE, h), número de folículos preovulatorios (NFP), diámetro del folículo preovulatorio (DFP, mm), tasa ovulatoria (TO), diámetro del cuerpo lúteo (DCL, mm), tasa de gestación (TG, %) y prolificidad (P). Los datos se analizaron con pruebas de ji-cuadrada y ANOVA. Se encontraron diferencias ($p \leq 0.05$) en TIE entre T1 y T3 (55.95 ± 2.18 vs 64.60 ± 2.18) y en TO entre T1, T3 y T4 (1.25 ± 0.15 vs 1.85 ± 0.15 vs 2.44 ± 0.16 cuerpos lúteos). La TG fue similar entre T1 (30) y T2 (36) y entre T3 (55) y T4 (61), pero la TG en T1 y 2 fue inferior ($p \leq 0.05$) a T3 y 4. No hubo diferencias ($p \geq 0.05$) entre tratamientos en IE, NFP, DFP, DCL y P. En conclusión, la administración de 3 ó 4 mL de LFE afectó TIE, TO y TG.

Palabras clave: ovejas, sincronización, líquido folicular equino.

APPLICATION OF EQUINE FOLLICULAR FLUID TO CREOLE SYNCHRONIZED EWES

3.2 Abstract

The objective was to evaluate the efficiency of equine follicular fluid (EFF) in a protocol of estrous synchronization in Creole ewes. Seventy nine ewes (with an average live body weight of 37 ± 7.1 kg) were synchronized with intravaginal sponges containing 20 mg of FGA; 10 days after sponge insertion the ewes were injected with 0.075 mg of prostaglandin; on day 11, the animals received 0 (T1; n=20), 2 (T2; n=20), 3 (T3; n=20) or 4 (T4; n=19) mL of EFF. The EFF was obtained by aspirating follicles greater than 20 mm, and it was centrifuged at 3500 rpm during 15 min and stored at -5 °C until use. The sponges were withdrawn on day 12 and estrus detection started 24 h after. Ewes were inseminated 20 h after estrus started. Insemination was done by laparoscopy with 100×10^6 spermatozoa as fresh semen. The variables evaluated were incidence of estrous (IE, %), time of onset of estrous (TOE, h), number of preovulatory follicles (NPF), diameter of the preovulatory follicle (DPF, mm), ovulation rate (OR), diameter of corpus luteum (DCL, mm), gestation rate (GR, %), and prolificacy (P). The data were analyzed by chi-square tests and ANOVA. Differences were found ($P \leq 0.05$) in TOE between T1 and T3 (55.95 ± 2.18 vs 64.60 ± 2.18 h) and in OR between T1, T3 and T4 (1.25 ± 0.15 vs 1.85 ± 0.15 vs 2.44 ± 0.16 corpus luteum). The GR was similar between T1 (30) and T2 (36) and between T3 (55) and T4 (61), but GR in T1 and 2 was lower ($p \leq 0.05$) compared to GR in T3 and T4. There were no significant differences ($p \geq 0.05$) among treatments in IE, NPF, DPF, DCL, and P. In conclusion, the administration of 3 or 4 mL of EFF to Creole ewes affected TOE, OR, and GR.

Key words: ewes, synchronization, equine follicular fluid.

3.3 Introducción

Una de las técnicas reproductivas más eficaces para sincronizar estros en ovejas consiste en utilizar esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos sintéticos, como el acetato de fluorogestona (FGA) y el acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Viñoles *et al.*, 1999; Wildeus, 2000). Córdova *et al.* (1999) administraron FGA en ovejas durante un periodo de 12 a 14 días, estimulando la aparición del estro dos a tres días después de suspender el tratamiento, su eficiencia se incrementó al combinarla con PGF_{2α} y eCG (gonadotropina coriónica equina); esta última indujo el crecimiento folicular e incrementó la tasa ovulatoria (Ungerfeld y Rubianes, 1999). Otra opción para controlar el crecimiento folicular y la tasa ovulatoria (Das *et al.*, 2009) es mediante la aplicación de líquido folicular equino (LFE), el cual es una fuente rica en inhibina, hormona glucoprotéica que inhibe la liberación de FSH (Hernández *et al.*, 2004).

En ovejas, Hernández *et al.* (1997) suprimieron las concentraciones de FSH al aplicar 3 mL de LFE cada 8 h durante tres días. En cabras, Ortiz *et al.* (2006) aplicaron 2 mL de LFE al momento de retirar la esponja, observando 3.6 vs 2 cuerpos lúteos respecto a cabras no tratadas. McNeilly (1984) indicó que la aplicación de líquido folicular bovino (LFb) en ovejas suprimió las concentraciones de FSH 24 h después de su aplicación. Wallace *et al.* (1985) utilizaron también LFb en ovejas y se presentó una respuesta de “rebote” a las 41 h después de la aplicación de LFb, caracterizada por un incremento en las concentraciones de FSH, además de un 35% de aumento en la tasa de ovulación.

El LFb contiene esteroides (principalmente, estradiol, progesterona y 4-androstenediona), glucosaminoglicanos y otros metabolitos sintetizados por las células de la teca que disminuyen la secreción de FSH (Wallace y McNeilly, 1985; Larocca *et al.*, 1997; Nandi *et al.*, 2007). Sin embargo, la disponibilidad de LFb es limitada por el tamaño pequeño de los folículos preovulatorios (15 a 20 mm de diámetro) (García *et al.*, 2001), mientras que en la yegua son de 40 a 50

mm (Ginther, 1990; Gigli y Agüero, 2006) y se obtiene mayor volumen de líquido folicular. El LFE podría utilizarse en protocolos de sincronización de estros, aunque la información de su uso en ovejas Criollas es limitada. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia del LFE en un programa de sincronización de celos en ovejas Criollas.

3.4 Materiales y Métodos

3.4.1 Localización

El experimento se realizó de agosto de 2008 a enero de 2009 en el Módulo de Ovicaprinos de la Granja Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en el km. 38.5 de la carretera México-Texcoco, localizada entre los 19° 29' N y 98° 53' O y 2245 msnm. El clima es C (Wo)(W)b(i)"g, templado subhúmedo con lluvias en verano, con una temperatura media anual de 15 °C, siendo mayo el mes más caliente y enero el más frío, la precipitación media es de 644.6 mm anuales (García, 1998).

3.4.2 Animales y manejo

Se utilizaron 79 ovejas Criollas, con un peso vivo promedio de 37 ± 7.1 kg y condición corporal 3.6, considerando la escala propuesta por Russell (1984) y con diferente número de parto (2 a 6). Los animales recibieron una dieta balanceada para mantenimiento de acuerdo con sus necesidades fisiológicas, conteniendo 14% de PC y 2.3 Mcal de EM según recomendaciones del NRC (2007). Las ovejas fueron desparasitadas dos semanas antes de la inserción de esponjas, mediante la aplicación de 1 mL por cada 50 kg PV^{-1} de Ivermectina vía subcutánea, y se distribuyeron en 4 grupos asignados al azar con n=20 para T1, T2 y T3, y T4 n=19.

3.4.3 Manejo reproductivo

Las hembras fueron sincronizadas con esponjas intravaginales impregnadas con Bovoflavina y conteniendo 20 mg de FGA (Chronogest); 10 días después de la inserción se inyectaron 0.075 mg de D-cloprostenol vía intramuscular y el día 11 se aplicaron 0 (T1), 2 (T2), 3 (T3), ó 4 (T4) mL de líquido folicular equino.

Las esponjas se retiraron el día 12, y 24 h después se inició la detección de estros con la ayuda de cinco machos provistos de un mandil, a intervalos de 8 h durante 4 d para determinar la incidencia de estros (INE) y tiempo de inicio al estro (TIE). Las ovejas en estro se revisaron 12 h después del inicio de estro, con un equipo de ultrasonido (Sonovet 2000 Madison, USA) equipado con un transductor rectal de 7.0 MHz para determinar el número y diámetro de folículos preovulatorios (NFP y DFP), y fueron inseminadas por laparoscopia 20 h después de iniciado el estro con 100×10^6 de espermatozoides con semen fresco. El día 12 post inseminación se determinó la tasa ovulatoria (TO) mediante ultrasonografía rectal contando el número de cuerpos lúteos visibles en ambos ovarios, al mismo tiempo se midió el diámetro del cuerpo lúteo (DCL). La tasa de gestación (TG) se determinó el día 45 mediante ultrasonografía abdominal utilizando un ultrasonido equipado con un transductor de 3.5 MHz (Sonovet 600, Madison, USA). La prolificidad (P) se determinó al momento del parto contando el número de corderos nacidos por oveja parida.

3.4.4 Obtención de líquido folicular equino

El líquido folicular equino se obtuvo de ovarios de yeguas sacrificadas en un rastro local durante el mes de abril, mediante la aspiración de folículos mayores de 20 mm de diámetro; se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos y se almacenó a -5 °C (Hernández *et al.*, 1997) para su posterior aplicación de acuerdo con el protocolo de sincronización.

3.4.5 Análisis estadístico

Las variables categóricas incidencia de estros y tasa de gestación se analizaron con una prueba de ji-cuadrada utilizando el modelo de regresión logística del programa JPM (SAS, 2008). Las variables tiempo de inicio al estro, prolificidad, número y diámetro de folículos preovulatorios, tasa ovulatoria, y diámetro del cuerpo lúteo, se analizaron mediante un análisis de varianza con un diseño completamente al azar con diferente número de repeticiones empleando el paquete estadístico GLM de SAS (2008). La comparación de medias se hizo mediante pruebas de Tukey.

3.5 Resultados y Discusión

3.5.1 Incidencia de estros

La incidencia de estros no fue diferente ($p \geq 0.05$) al aplicar 0, 2, 3 ó 4 mL de LFE en ovejas Criollas (Figura 2). La incidencia general de estros fue 97.42%. Estos resultados son similares a los reportados por Salazar (2001) y Santos y Huerta (2004) quienes aplicaron 2 mL de LFE el día 10 en un protocolo de sincronización de 12 días a ovejas Pelibuey. La incidencia de estros tampoco es diferente al aplicar el LFE al momento de la inserción de la esponja (100%) o al día 6 (100%) comparado con el control de 100% (Hernández, 2003). En cabras Boer, la aplicación de LFE el día 12 del protocolo de sincronización tampoco afectó la incidencia de estros (100%), comparativamente con cabras que no recibieron LFE (100%) (Ortiz *et al.*, 2006).

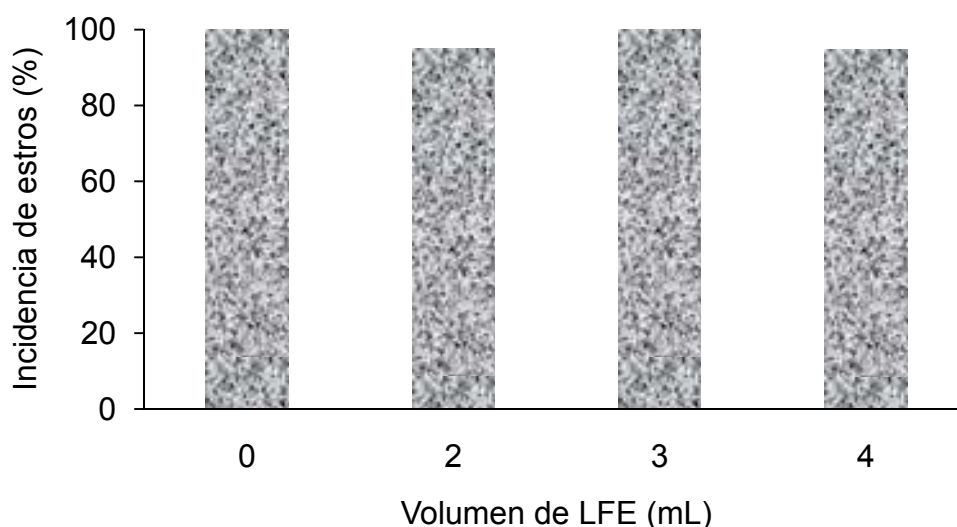


Figura 2. Incidencia de estros en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

Los resultados del presente estudio así como los reportados en la literatura sugieren que al aplicar LFE en los días 0, 6, 10, 11 ó 12 del programa de sincronización no afectan la incidencia de estros; así mismo, tampoco hay efecto del volumen de LFE aplicado (2, 3 ó 4 mL). La manifestación del estro depende de la concentración plasmática de estrógenos y aunque en el LFE se

ha encontrado una concentración de 760 ng mL^{-1} (Hernández *et al.*, 2004) la incidencia de estros no fue modificada. La duración de los protocolos de sincronización con progestágenos en ovinos generalmente es de 12 a 14 días (Robinson, 1988). En esta investigación se usó un tratamiento largo y se ha demostrado que la aplicación de FGA por periodos de 12 a 14 días, producen incidencia de estros de 95.8 (Córdova *et al.*, 1999) a 100% (Mellisho *et al.*, 2006; Camacho *et al.*, 2008; Bartlewski *et al.*, 2008) similares al grupo testigo (100%), lo cual demuestra la efectividad de los progestágenos para sincronizar estros en ovinos (Molina-Mendoza *et al.*, 2005).

3.5.2 Inicio del estro

El inicio del estro sólo fue diferente ($p \leq 0.05$) entre T1 y T3 (Cuadro 4). Las ovejas del T1 presentaron el inicio del estro más temprano con respecto a los animales del T3 (55.95 vs 64.60 h). El inicio al estro del grupo testigo es similar al reportado por Molina-Mendoza *et al.* (2005), Urviola *et al.* (2005) y Martínez *et al.* (2007) con 48 ± 10.8 , 47.45 ± 7.06 y 51 ± 8.8 h, respectivamente. El tiempo de inicio al estro de las ovejas que recibieron LFE (2, 3 y 4 mL) fue mayor que el encontrado por Hernández (2003), quien observó 29.9 h cuando aplicó 2 mL de LFE al momento de la inserción de la esponja y 33.9 h al inyectarlo al día 6 en un protocolo de sincronización de 12 días. También fue superior al publicado por Santos y Huerta (2004) quienes lo aplicaron el día de la remoción del dispositivo de sincronización (día 12) y durante los 12 días del programa de sincronización, encontrando 36.75 ± 3.07 y 41.7 ± 6.58 h, respectivamente. Sin embargo, otros autores reportan valores más cercanos a los obtenidos en este trabajo; Salazar (2001) aplicó el LFE el día 10 en ovejas y obtuvo 50.5 ± 4.9 h, mientras que Ortiz *et al.* (2006) al aplicar LFE en cabras también el día 10, obtuvo 61.2 ± 3.7 h, en ambos trabajos el protocolo de sincronización fue de 12 días.

Al aplicar el LFE en los primeros días (0 a 6) del programa de sincronización, el efecto del LFE desaparece mientras el progestágeno continua en las ovejas. Sin embargo, cuando se aplica al día 10, 11 ó 12, el progestágeno se retira en 1

ó 2 días, por lo que el efecto del LFE sigue presente y actúan los factores contenidos en el LFE, principalmente la inhibina, afectando el tiempo de inicio al estro.

Cuadro 4. Medias^z ($\pm$ error estándar) para inicio del estro en ovejas Criollas tratadas con líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

Tratamiento (mL de LFE)	Número de ovejas	Inicio del estro, h	Rango, h
1 (0)	20	55.95 $\pm$ 2.18 ^a	32-72
2 (2)	19	62.31 $\pm$ 2.24 ^{ab}	48-72
3 (3)	20	64.60 $\pm$ 2.18 ^b	48-72
4 (4)	18	62.77 $\pm$ 2.30 ^{ab}	48-72

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas, son diferentes ($p \leq 0.05$).

Hernández *et al.* (1997) publicaron que el tiempo de inicio al estro es más largo en ovejas tratadas con LFE libre de esteroides (con remoción de progesterona y estradiol) que en el grupo testigo (131 ± 9.9 y 44 ± 3.9 h, respectivamente). Das *et al.* (2009) utilizaron cabras durante la época de anestro para evaluar el efecto del fluido folicular de búfalo (FFbu) libre de esteroides en la respuesta al estro, aplicando 3 mL de FFbu vía intramuscular cada 12 h durante 3 días y el tiempo de inicio al estro fue de 67.0 ± 18.5 h comparado con el grupo testigo de 17.0 ± 3.6 h.

En general, los resultados sugieren que el inicio del estro está influenciado por el día y la cantidad de LFE usado, ya que la aplicación de 2, 3 ó 4 mL de LFE retrasaron el tiempo de inicio al estro; de igual manera, la aplicación de líquido folicular con (McNeilly *et al.*, 1976) o sin esteroides (Miller *et al.*, 1979) reduce las concentraciones de FSH (Das *et al.*, 2009) retrasando el momento de inicio al estro. Las diferencias podrían explicarse por el efecto que tiene el LFE como fuente biológica de inhibina, al disminuir la secreción de FSH inhibe el desarrollo folicular, lo que disminuye la concentración de estradiol (Wallace *et al.*, 1985; Bergfelt y Ginther, 1985; Hernández *et al.*, 2004) retrasando el momento de inicio del estro.

3.5.3 Distribución de estros

Los resultados de distribución de estros se presentan en el Cuadro 5; los datos no se analizaron estadísticamente debido al reducido número de observaciones en cada clase. Las ovejas del T1 iniciaron el estro a las 36 h, mientras las ovejas que recibieron LFE iniciaron el estro hasta las 48 h después de remover la esponja, similar a lo reportado por Salazar (2001) y Ortiz (2006). En T1 la mayor incidencia de estros (65%) se distribuyó entre 36 y 72 h, mientras que el 73% de las ovejas tratadas con LFE fue hasta las 84 y >84 h, lo cual puede ser debido a la disminución en la secreción de FSH, en respuesta a la inhibina presente en el LFE (Hernández *et al.*, 1997). Los bajos niveles de FSH ocasionan bajas concentraciones de estradiol (Hernández *et al.*, 2004) retrasando el momento de inicio del estro y su distribución (McNeilly, 1984; Wallace y McNeilly, 1985).

Cuadro 5. Distribución de estros en ovejas Criollas tratadas con líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

Tratamiento (mL de LFE)	Número de ovejas	Horas al estro después de la remoción de la esponja					
		36	48	60	72	84	>84
1 (0)	20	7	2	3	3	3	2
2 (2)	19	0	3	0	1	11	4
3 (3)	20	0	2	4	0	7	7
4 (4)	18	0	3	2	0	6	7

3.5.4 Número y diámetro de folículos preovulatorios

El número y diámetro de los folículos preovulatorios no fueron diferentes ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 6). El número promedio de folículos preovulatorios fue de 1.27 con un diámetro de 3.57 mm. El diámetro del folículo preovulatorio es similar al reportado por Román *et al.* (2008) de 3.38 ± 0.40 mm en ovejas Criollas. Guzmán (2008) reportó un rango de 3.31 a 4.15 mm en ovejas Criollas suplementadas con semilla de algodón, mientras que en este

trabajo el rango fue de 3.55 a 3.66 mm. Según Strmsnik *et al.* (2002), el menor diámetro de los folículos preovulatorios en ovejas está relacionado con un mayor número de ovulaciones. Bister *et al.* (1999) reportaron un diámetro de folículos preovulatorios de 5.9 ± 0.8 mm y tasa de ovulación de 1.2 ± 0.4 para ovejas Suffolk, mientras que Bartlewski *et al.*, (2003) encontraron un diámetro de 6.8 ± 0.4 mm y tasa ovulatoria de 2.1, también en ovejas Suffolk.

Cuadro 6. Medias^Z ($\pm$ error estándar) para número y diámetro del folículo preovulatorio en ovejas Criollas tratadas con líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

Tratamiento (mL de LFE)	Número de ovejas	Número de folículos	Diámetro del folículo preovulatorio, mm
1 (0)	20	1.20 ± 0.103^a	3.66 ± 0.095^b
2 (2)	19	1.22 ± 0.105^a	3.60 ± 0.097^b
3 (3)	20	1.33 ± 0.103^a	3.50 ± 0.095^b
4 (4)	18	1.35 ± 0.108^a	3.55 ± 0.100^b

^ZMedias sin una letra en común, dentro de columnas, son diferentes ($p \leq 0.05$).

Los folículos preovulatorios secretan altos niveles de inhibina y estradiol, disminuyendo las concentraciones de FSH y causando la atresia de los folículos de menor tamaño o subordinados (González *et al.*, 1996; Pacheco y Coila, 2007), a su vez los folículos preovulatorios evitan su atresia cambiando sus necesidades de FSH hacia LH (González-Bulnes *et al.*, 2002). Aunque en el presente trabajo no se midieron los componentes del LFE, el cual se obtuvo de folículos mayores a 20 mm (preovulatorios), algunos autores han reportado que en los folículos preovulatorios existen factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF), esteroides (principalmente, estradiol, progesterona y 4-androstenediona), inhibina-A y péptidos, los cuales participan en la regulación del desarrollo folicular del ovario (Wallace *et al.*, 1985; Campbell *et al.*, 1991; Larocca *et al.*, 1997; Valdés y Cruz, 2003; Hernández *et al.*, 2004), por lo que es probable que la aplicación de LFE haya incidido únicamente en el desarrollo de los folículos subordinados, sin afectar el número ni el diámetro del folículo preovulatorio.

3.5.5 Tasa ovulatoria y diámetro del cuerpo lúteo

La tasa ovulatoria (TO) fue de 1.25 ± 0.15 , 1.73 ± 0.15 , 1.85 ± 0.15 y 2.44 ± 0.16 cuerpos lúteos, para T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Las diferencias fueron significativas ($p \leq 0.05$) sólo entre T1, T3 y T4 (Figura 3). En este sentido, García *et al.* (2001) observaron una TO de 2.9 ± 0.29 cuando aplicaron 3 mL de LFE libre de esteroides a ovejas Rambouillet y para el testigo fue de 1.23 ± 0.12 , este último similar al T1 del presente trabajo. Por su parte Ortiz *et al.* (2006) observaron que la TO en cabras fue superior ($p \leq 0.05$) al aplicar 2 mL de LFE el día 12, con respecto al día 10 (3.6 ± 0.31 vs 2.08 ± 0.31). Sin embargo, en este estudio no hubo efecto al aplicar 2 mL de LFE. Las diferencias en respuesta podrían explicarse por la variación del contenido protéico y en particular de inhibina entre estudios. Las concentraciones de inhibina varían de acuerdo con el día del ciclo y con el tamaño de los folículos de los cuales se obtuvo el LFE (Campbell *et al.*, 1991).

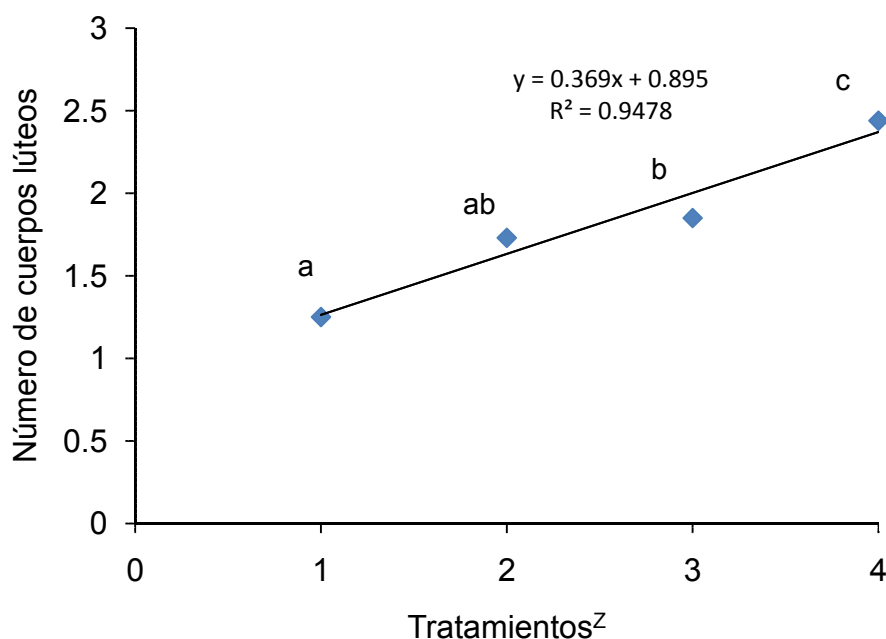


Figura 3. Número de cuerpos lúteos de ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL (T1, T2, T3 y T4) de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

^ZTratamientos sin una letra en común, son diferentes ($p \leq 0.05$).

El LFE tiene actividad de inhibina en la oveja (Rouillier *et al.*, 1998; García *et al.*, 2001) y Nambo *et al.* (2006) encontraron 88 ng mL⁻¹ de Inhibina-A en fluido folicular de folículos preovulatorios de yegua. En el presente estudio, la aplicación de 3 ó 4 mL de LFE el día 11 incrementó el número de cuerpos lúteos, lo que sugiere que al desaparecer el efecto inhibitor del LFE en el desarrollo folicular, permite un incremento en el número de folículos reclutables y se traduce en mayor número de ovulaciones (Hernández *et al.*, 1997; Mejía *et al.*, 1998). Sin embargo, la ausencia de efecto al aplicar 2 mL de LFE posiblemente se debe a que la cantidad no fue suficiente para modificar significativamente el desarrollo folicular.

La tasa ovulatoria está relacionada con el número de folículos preovulatorios (Ginther *et al.*, 1995; González *et al.*, 1996; González-Bulnes *et al.*, 2002) y aunque en ovinos la TO es baja, hay variaciones importantes entre razas (1 a 4 cuerpos lúteos). En ovejas que no recibieron LFE, Bartlewski *et al.* (2003) reportaron 1.9 ± 0.6 CL en ovejas Western White-faced, Dickie *et al.* (1999) 2.12 ± 0.5 en ovejas Texel y Ali (2007) 1.0 ± 0.2 CL en ovejas Ossimi, similar a la tasa ovulatoria encontrada en el presente estudio, 1.25 ± 0.15 para ovejas Criollas del grupo control.

El diámetro del cuerpo lúteo determinado el día 12 del ciclo (Figura 4) no fue diferente entre tratamientos ($p \geq 0.05$) (5.05 ± 0.17 , 5.26 ± 0.17 , 5.12 ± 0.17 y 5.33 ± 0.18 mm para T1, T2, T3 y T4, respectivamente), siendo en promedio de 5.19 mm de diámetro. Aparentemente la raza puede ser un factor que influye en el diámetro del cuerpo lúteo. Leyva *et al.* (1998) sin aplicar LFE reportaron diámetros de 11.4 ± 0.2 mm en ovejas Suffolk, mientras que en este trabajo con ovejas Criollas fue 5.05 mm para el grupo testigo. Schrick *et al.* (1993) y Bartlewski *et al.* (2003) señalan que el tamaño del cuerpo lúteo está relacionado con el diámetro del folículo que le da origen y depende de la raza. De manera similar, Bartlewski *et al.* (1999) encontraron un diámetro del folículo preovulatorio de 6.4 mm con un diámetro del CL de 13 mm para ovejas Finn, mientras que para la raza Western White-faced fue 5.3 y 10.5 mm de diámetro.

Das *et al.* (2009) no encontraron diferencias en cabras cuando aplicaron 3 mL de fluido folicular de búfalo (FFbu) cada 12 h durante 3 días, encontrando diámetros de 5.6 ± 0.2 y 5.2 ± 0.3 mm para el grupo tratado y el control, respectivamente.

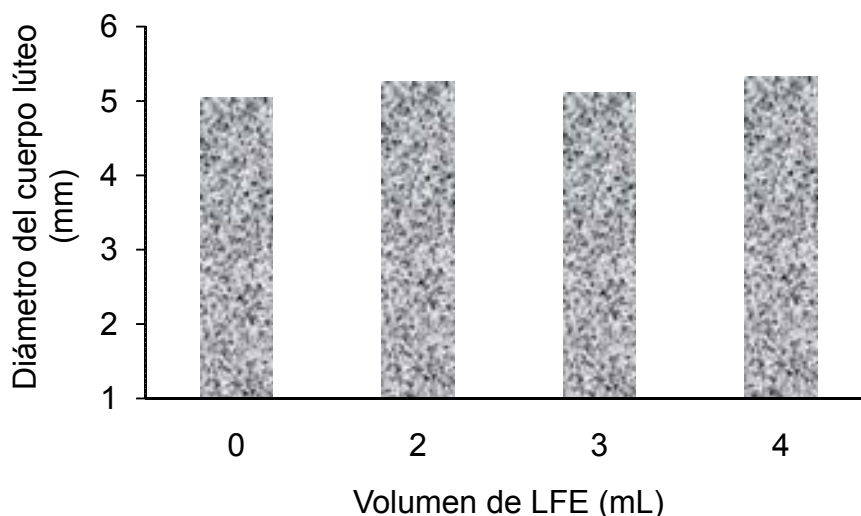


Figura 4. Diámetro del cuerpo lúteo en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

3.5.6 Tasa de gestación

La tasa de gestación fue similar ($p \geq 0.05$) entre T1 y T2 (30 y 36%) y entre T3 y T4 (55 y 61.1%), pero diferentes ($p \leq 0.05$) al comparar T1 y T2 con T3 y T4 (Figura 5). La respuesta en T1 no concuerda con lo encontrado por Maxwell y Barnes (1986), Godfrey *et al.* (1999), Catalano *et al.* (2006), Ungerfeld y Rubianes (2002), Mellisho *et al.* (2006) y Fukui *et al.* (2007) quienes publicaron tasas de gestación de 55.0, 52.9, 40.7, 67.4, 64.7 y 65.5%, respectivamente. Las diferencias en los resultados reportados refleja la variabilidad de condiciones (genotipo, nutrición, peso, condición corporal manejo, época del año entre otros) en las cuales se llevaron a cabo los estudios (Wildeus, 2000).

En un estudio, Santos y Huerta (2004) encontraron 50% de tasa de gestación al aplicar LFE durante 12 días, 100% al hacerlo cada tercer día y 62.5% al momento del retiro de la esponja, mientras que el testigo fue de 100%. Cuando

se aplicó LFE el día 12 (retiro de la esponja) en el estudio de Santos y Huerta (2004), la tasa de gestación fue similar a T3 y T4 de este trabajo. La aplicación de 2 mL de LFE no afectó negativamente la tasa de gestaciones en el estudio de Salazar (2001) quien obtuvo 74% al aplicarlo al día 0, comparado con 85% del grupo testigo, no existiendo efecto del LFE.

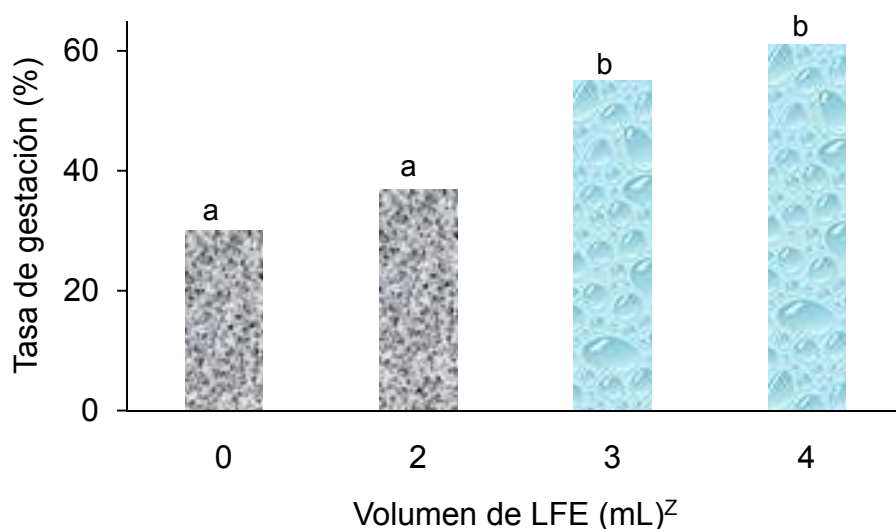


Figura 5. Tasa de gestación en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

²Volumen de LFE (mL) sin una letra en común, son diferentes ($p \leq 0.05$).

Una alta tasa ovulatoria puede generar altas tasas de gestación (Mellisho *et al.*, 2006). En esta investigación la aplicación de 3 ó 4 mL de LFE generó mayores tasas de gestación comparado con ovejas que recibieron 2 mL de LFE, lo cual puede estar asociado con el mayor número de cuerpos lúteos en T3 y T4. En otros estudios se ha demostrado una asociación entre la tasa ovulatoria y tasa de gestación; Cameron *et al.* (1988) obtuvieron un incremento del 8 % en fertilidad al cambiar la tasa ovulatoria de 1 a 2. Resultados similares fueron reportados por Wilkins (1997).

Algunos factores que han sido asociados con las variaciones de fertilidad incluyen la viabilidad reducida que presentan los espermatozoides en el tracto genital, reacciones inmunológicas al momento de realizar la inseminación, estrés al que son sometidas las ovejas (Salomon y Maxwell, 1995), raza, edad,

intervalo parto-servicio, estación, año, efecto macho, estado nutricional y técnica de inseminación entre otros (Lewis *et al.*, 1996; Nottle *et al.*, 1997; Anel *et al.*, 2005) ocasionando una amplia variación en la tasa de gestación.

3.5.7 Prolificidad

Los resultados de prolificidad no fueron diferentes ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 7). Salazar (2001) obtuvo una prolificidad de 1.78 en ovejas Pelibuey con 2 mL de LFE, comparado con el testigo de 1.0 ± 0.13 , mientras que Hernández (2003) no encontró diferencias, ya que la prolificidad fue 2.0 tanto al aplicar 2 mL de LFE el día 6 y como para el testigo. Santos y Huerta (2004) reportaron 1.8 ± 0.27 comparado con el control de 1.42 ± 0.20 , al aplicar 2 mL de LFE en ovejas Pelibuey. El efecto de la aplicación de LFE en la prolificidad es contradictorio, debido a que unos autores publican diferencias y otros no.

Los resultados del presente estudio pueden explicarse por el genotipo de las ovejas que es factor determinante en la tasa ovulatoria y prolificidad (Córdova *et al.*, 1999). La tasa ovulatoria del grupo genético utilizado (ovejas Criollas) es de 1.1 lo que puede limitar el efecto del LFE. El efecto que tuvo la aplicación de 3 ó 4 mL de LFE en la tasa ovulatoria no se reflejó en mayor prolificidad, lo cual puede ser debido a que se presentó una alta incidencia de pérdidas embrionarias. Thatcher *et al.* (1994) reportaron que en ovejas el 20% de los embriones mueren durante los primeros 15 días siguientes a la fertilización.

Cuadro 7. Medias^Z ($\pm$ error estándar) para prolificidad en ovejas Criollas tratadas con 0, 2, 3 ó 4 mL de líquido folicular equino (LFE) el día 11 del protocolo de sincronización.

Variables	Volumen de LFE (mL)			
	0	2	3	4
Ovejas paridas	6	7	11	11
Corderos nacidos	7	8	13	13
Prolificidad	1.16 ± 0.16^a	1.14 ± 0.15^a	1.18 ± 0.18^a	1.18 ± 0.18^a

^ZMedias sin una letra en común, dentro de columnas, son diferentes ($p \leq 0.05$).

Resultados de prolificidad similares al grupo testigo en ovejas Criollas (1.16) han sido encontrados por Córdova *et al.* (1999) y Salas (2000) de 1.15 y 1.18, respectivamente, confirmando el bajo nivel de prolificidad de este grupo genético.

3.6 Conclusión

La aplicación de 2, 3 ó 4 mL de LFE el día 11 después de la inserción de esponjas con FGA retrasó el inicio del estro sin afectar el número y tamaño de los folículos preovulatorios, ni el diámetro del cuerpo lúteo. El uso de 3 ó 4 mL de LFE incrementó la tasa ovulatoria y la tasa de gestación, pero no la prolificidad.

3.7 Implicaciones

La utilización de hormonas exógenas para sincronizar estros requiere conocer el comportamiento de las ovejas en variables reproductivas (presencia del estro, inicio del estro, fertilidad y prolificidad entre otras), para generar nuevas alternativas de manejo y mejorar la productividad de las unidades de producción ovinas. El presente estudio mostró la posibilidad de incrementar la tasa ovulatoria que puede resultar en el aumento de la prolificidad e incidir en la relación beneficio costo.

3.8 Literatura citada

- Ali, A. 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research* 72: 33-37.
- Anel, L., M. Kaabi, B. Abroug, M. Álvarez, E. Anel, J. C. Boixo, L. F. Fuente, and P. Paz. 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in Churra ewes: a field assay. *Theriogenology* 63: 1235-1247.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52: 115-130.
- Bartlewski, P. M., D. B. Alexander, and W. A. King. 2008. Ovarian and endocrine determinants of superovulatory responses in anestrus ewes. *Small Ruminant Research* 75: 210-216.
- Bartlewski, P. M., R. Duggavathi, J. Aravindakshan, D. Barrett, S. J. Cook, and N. C. Rawlings. 2003. Effects of a 6-day treatment with medroxyprogesterone acetate after prostaglandin F₂ alpha-induced luteolysis at midcycle on antral follicular development and ovulation rate in nonprolific Western white-faced. *Biology of Reproduction* 68: 1403-1412.
- Bergfelt, D. R., and O. J. Ginther. 1985. Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology* 24: 99-108.
- Bister, J. L., B. Noël, B. Perrad, S. N. Mandiki, J. Mbayahaga, and R. Paquay. 1999. Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology* 17: 315-328.
- Camacho R., J. C., J. C. Rodríguez C., J. E. Hernández H., A. Pró M., C. M. Becerril P., y J. Gallegos S. 2008. Características reproductivas de ovejas Pelibuey sincronizadas e inducidas a la pubertad. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 16: 18-24.
- Cameron, A. W., C. M. Oldman, I. J. Fairnie, E. J. Keogh, and D. R. Lindsay. 1988. The number of spermatozoa, the number of ovulations per ewe, and immunization against androstenedione affect fertility and prolificacy of sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 84: 43-50.
- Campbell, B. K., H. M. Picton, S. A. McNelly, and T. D. Baird. 1991. Effect of FSH on ovarian inhibin secretion in anoestrous ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 91: 501-509.

- Catalano, R., C. González, M. Teruel, J. Cabodevila, y S. Callejas. 2006. Respuesta reproductiva de la oveja a la administración de gonadotropina coriónica humana en el momento del servicio. *Revista Veterinaria* 17: 94-97.
- Córdova I., A., L. Ruiz G., O. Saltijeral J., G. Pérez J., y D. Degefa T. 1999. Inducción y sincronización de celos en ovejas Criollas anéstricas estacionales con esponjas vaginales impregnadas con FGA Y PMSG Inyectable. *Archivos de Zootecnia* 48: 1-4.
- Das, G. K., S. K. Agarwal, M. Hoque, V. P. Varshney, U. Shankar, and G. S. Bisht. 2009. Effect of exogenous administration of buffalo follicular fluid on follicular development, estrus response and luteal function in anoestrous goats (*Capra hircus*). *Animal Reproduction Science* 12: 1-10.
- Dickie, A. M., C. J. Paterson, L. M. Anderson, and J. S. Boyd. 1999. Determination of corpora lutea numbers in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology* 51: 1209-1224.
- Fukui, Y., H. Kohno, T. Togari, and M. Hiwasa. 2007. Fertility of ewes inseminated intrauterinally with frozen semen using extender containing bovine serum albumin. *Journal of Reproduction and Development* 53: 959-962.
- García A., A., C. Hernández J., y M. Valencia J. 2001. Efecto de la administración de líquido folicular equino libre de esteroides durante la fase lútea sobre la tasa de ovulación en ovejas Rambouillet. *Veterinaria México* 32: 1-5.
- García, E. 1998. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 2ª ed. Indianápolis. México. 75 p.
- Gigli I., R. A., y A. Agüero. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *Veterinaria Argentina* 8: 183-204.
- Ginther, O. J. 1990. Folliculogenesis during the transitional period and early ovulation season in mares. *Journal of Reproduction and Fertility* 90: 311-320.
- Ginther, O. J., K. Kot, and C. M. Wiltbank. 1995. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43: 689-703.
- Godfrey, R. W., J. R. Collins, E. L. Hensley, and J. E. Wheaton. 1999. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 51: 985-997.

- González B., A., J. M. Santiago, A. B. Gómez, M. L. García, and A. S. López 1996. Effect of follicular status prior to administration of exogenous gonadotrophin on the ovulation rate in ewes. *Theriogenology* 45: 318-327.
- González-Bulnes, A., J. Santiago-Moreno, R. M. García-García, M. J. Cocero, y A. López-Sebastián. 2002. Patrones y mecanismos de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes. *Investigación Agrícola: Producción y Sanidad Animal* 17: 1-12.
- Guzmán, J. E. 2008. Comportamiento reproductivo de ovejas Criollas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp: 95-99.
- Hernández C., J., M. C. Murcia, M. Valencia J., M. Rojas S., M. J. Zárate, y L. Zarco Q. 1997. Efecto del líquido folicular equino libre de esteroides sobre la secreción de FSH en ovejas en anestro estacional y la presentación del estro inducido con PGF_{2α} en ovejas ciclando. *Veterinaria México* 28: 117-121.
- Hernández C., J. Zarco Q., L. Kindahl, and V. M. Hans H. 2004. Follicular development, concentrations of FSH, estradiol and MPGF2 associated with luteal persistence induced by the administration of steroid-free equine follicular fluid in the ewe. *Veterinaria México* 35: 1-12.
- Hernández M., A. 2003. Sincronización de estros en ovejas Pelibuey: efecto del líquido folicular equino. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp: 37-50.
- Larocca, C., S. Kmaid, I. Lago, G. Rosés, D. Fila, M. Viqueira, and A. Berglavaz. 1997. Influence of follicular fluid from different sources on in vitro development of bovine embryos produced in vitro. *Theriogenology* 47: 292-298.
- Leyva, V., B. C. Buckrell, and J. S. Walton. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50: 395-416.
- Lewis, R. M., D. R. Notter, D. E. Hogue, and B. H. Magee. 1996. Ewe fertility in the star accelerated lambing system. *Journal of Animal Science* 74: 1511-1522.
- Martínez T., J. F., Izaguirre F. F., L. Sánchez O., C. G. García C., G. Martínez P., y G. Torres H. 2007. Comportamiento reproductivo de ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas con MPA y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. *Revista Científica* 17: 47-52.

- Maxwell, W. M., and D. R. Barnes. 1986. Induction of oestrus in ewes using a controlled internal drug release device and PMSG. *Theriogenology* 106: 201-203.
- McNeilly, A. S. 1984. Changes in FSH and the pulsatile secretion of LH during the delay in oestrus induced by treatment of ewes with bovine follicular fluid. *Journal of Reproduction and Fertility* 72: 165-172.
- McNeilly, J. R., A. S. McNeilly, J. S. Walton, and F. J. Cunningham. 1976. Development and application of a heterologous radioimmunoassay for ovine follicle stimulating hormone. *Journal of Endocrinology* 70: 69-79.
- Mejía V., O., L. Zarco Q., A. Rojas M. S., M. Rosas G., y J. Valencia M. 1998. Efecto del líquido folicular equino y la somatotropina bovina en la sobrevivencia de embriones ovinos transferidos asincrónicamente. *Veterinaria México* 29: 359-367.
- Mellisho E., S., R. Pinazo H., L. Chauca F., P. Cabrera V., y V. Rivas P. 2006. Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas Black Belly con semen congelado. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 17: 131-136.
- Miller, K. F., J. K. Critser, R. F. Rowe, and O. J. Ginther. 1979. Ovarian effects of bovine follicular fluid treatment in sheep and cattle. *Biology of Reproduction* 21: 537-544.
- Molina-Mendoza, P., T. Sánchez-Torres-Esqueda, E. O. García-Flores, A. Martínez-García, M. Cárdenas-León, J. Peralta-Ortiz, J. L. Cordero-Mora, A. Hizarza-Espinoza, y M. E. Ortega-Cerilla. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia* 39: 11-18.
- Nandi, S., V. K. Girish, B. M. Manjunatha, and P. S. Gupta. 2007. Biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size. *Development Growth and Differentiation* 49: 61-66.
- Nambo, Y., K. Hashimoto, R. Nakai, Y. Asai, G. Watanabe, and K. Taya. 2006. Biological significance of follicular fluid discharged into the peritoneal cavity at ovulation in mares. *Animal Reproduction Science* 94: 228-231.
- Nottle, M. B., D. O. Kleemann, T. I. Grosser, and R. F. Seamark. 1997. Evaluation of a nutritional strategy to increase ovulation rate in Merino ewes mated in late spring-early summer. *Animal Reproduction Science* 47: 255-261.
- NRC. 2007. *Nutrients Requeriments of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. The National Academies Press. Washington, D.C. 345 p.

- Ortiz S., J. A. 2006. Efecto del líquido folicular equino en la tasa ovulatoria de cabras Nubia x Boer sincronizadas con un progestágeno. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 71 p.
- Ortiz S., J. A., G. Torres H., B. Figueroa S., y J. Gallegos S. 2006. Efecto del líquido folicular equino en la tasa ovulatoria de cabras Nubia x Boer sincronizadas con un progestágeno *In: XXXIV Reunión Nacional de la Asociación Mexicana de Producción Animal*. 17 al 20 de octubre. Universidad Autónoma de Sinaloa. México. pp: 346-349.
- Pacheco, J. I., y P. Coila. 2007. Composición del fluido folicular de folículos secundarios y terciarios de alpaca (*Vicugna pacos*). *In: Memorias de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. pp: 1-3.
- Robinson, T. J. 1998. Controlled sheep breeding update. *Australian Journal of Biological Sciences* 41: 1-13.
- Román R., E., M. R. Santos C., R. Rangel S., R. Rodríguez D. L., J. Ayala O., C. Apodaca S., y C. Sánchez D. R. 2008. Número y tamaño de folículos preovulatorios en ovejas con celo inducido. *In: XVIII Reunión Internacional de Carne y Leche en Climas Cálidos*. 2 y 3 de octubre. Universidad Autónoma de Baja California. México. pp: 302-304.
- Rouillier, P., P. Matton, M. A. Sirard, and L. A. Guilbault. 1998. Effect of bovine follicular fluid from healthy and atretic follicles on follicle-stimulating hormone-induced production of estradiol by bovine granulosa cells cultured *in vitro*. *Journal of Animal Science* 76: 1172-1177.
- Russell, A. 1984. Body condition scoring of sheep. *In Practice*. 6: 91-93
- Salas B., G. 2000. Comportamiento reproductivo de ovejas Criollas sincronizadas. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo, México. 48 p.
- Salazar O., J. 2001. Sincronización de estros con progestágenos y líquido folicular equino en ovejas Pelibuey. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp: 36-59.
- Salomon, S., and W. M. Maxwell. 1995. Frozen storage of ram semen. II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Animal Reproduction Science* 38: 1-36.
- Santos C., M. R. y A. Huerta S. 2004. Sincronización de estros en la oveja Pelibuey: efecto de la frecuencia de aplicación de líquido folicular equino. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp: 32-43.
- SAS. 2008. SAS/STAT User's guide (release 9.1) SAS Inst. Inc., Cary, N.C.

- Schrick, F. N., R. A. Surface, J. Y. Pritchard, R. A. Dailey, E. C. Townsend, and E. K. Inskeep. 1993. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biology of Reproduction* 49: 1133-1140.
- Strmsnik, L., M. Pogacnik, N. Cebulj, and M. Kosec. 2002. Examination of oestrus cycle and early pregnancy in sheep using transrectal ultrasonography. *Slovenian Veterinary Research* 39: 47-58.
- Thatcher, W. W., C. R. Staples, G. Danet, B. Oldick, and E. P. Schmitt. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *Journal of Animal Science* 3: 16-30.
- Ungerfeld, R., and E. Rubianes. 1999. Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Journal of Animal Science* 68: 349-353.
- Ungerfeld, R., and E. Rubianes. 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research* 46: 63-66.
- Urviola, M., V. Leyva V., H. Huamán U., y W. García V. 2005. Manipulación de la ovulación del folículo dominante con prostaglandina en diferentes estadios del ciclo estral sobre las tasas reproductivas en ovinos Corriedale. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 16: 103-113.
- Valdés C., J. R., y A. Cruz Z. 2003. Composición bioquímica del fluido folicular ovárico de hembras bovinas y porcinas de abasto. *Revista Electrónica Veterinaria* 4: 1-5.
- Viñoles, C., A. Meikle, M. Forsberg, and E. Rubianes. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351-1361.
- Wallace, J. M., and A. S. McNeilly. 1985. Increase in ovulation rate after treatment of ewes with bovine follicular fluid in the luteal phase of the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 73: 505-515.
- Wallace, J. M., A. S. McNeilly, and D. T. Baird. 1985. Ovulation rate and embryo survival in Damline ewes after treatment with bovine follicular fluid in the luteal phase of the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 75: 101-109.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. *Journal of Animal Science* 77: 1-14.

Wilkins, J. F. 1997. Method of stimulating ovulation rate in Merino ewes may affect conception but not embryo survival. *Animal Reproduction Science* 47: 31-42.