

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Uso de esponjas vaginales impregnadas con diferentes dosis de progesterona  
aunadas a eCG para inducir la respuesta reproductiva de ovejas Dorper durante la  
época de anestro estacional

Por:

**JESÚS ANTONIO DOMÍNGUEZ GUERRERO**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Uso de esponjas vaginales impregnadas con diferentes dosis de progesterona  
aunadas a eCG para inducir la respuesta reproductiva de ovejas Dorper durante la  
época de anestro estacional.

Por:


**JESÚS ANTONIO DOMÍNGUEZ GUERRERO**


TESIS


Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial  
para obtener el título de:


**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**


Aprobada por:

  
\_\_\_\_\_  
MC. Gerardo Arellano Rodríguez  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Francisco Gerardo Veliz Deras  
Vocal

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz  
Vocal

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Oscar angel García  
Vocal

  
\_\_\_\_\_  
MC. J. Guadalupe Rodríguez Martínez  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México  
Diciembre 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Uso de esponjas vaginales impregnadas con diferentes dosis de progesterona  
aunadas a eCG para inducir la respuesta reproductiva de ovejas Dorper durante la  
época de anestro estacional.

Por:


**JESÚS ANTONIO DOMÍNGUEZ GUERRERO**


TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
MC. Gerardo Arellano Rodríguez  
Asesor Principal

  
Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras  
Coasesor

  
Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz  
Coasesor

  
MC. J. Guadalupe Rodríguez Martínez  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torresón, Coahuila, México  
Diciembre 2019



## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios** por darme salud y ponerme a las personas correctas para mi crecimiento en el camino.

**A mis padres** Jesús Antonio Domínguez Guerrero y Olga Lidia Guerrero Barrón por su apoyo incondicional durante toda mi carrera universitaria y durante toda mi vida.

**A mis profesores** porque sin ellos no hubiera sido posible la adquisición de los conocimientos que me fueron transmitiendo a lo largo de los años hasta concluir con este trabajo.

## **DEDICATORIAS**

**A mis padres** ya que sin su apoyo tanto intelectual como económico y emocional no hubiera sido posible concluir este trabajo de investigación.

**A mis profesores** ya que guiaron mi camino para poder aprender mas durante el proceso de la realización de este proyecto, así como despejar mis dudas y ayudarme a buscar y tener información clave para su realización.

**A mi familia** ya que siempre estuvieron apoyándome incondicionalmente para la realización y terminación de este proyecto.

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue la realización de esponjas, intravaginales con diferentes dosis de progesterona (P4) mas gonadotropina corionica equina (eCG) sobre la inducción del estro en ovejas dorper. Veinte ovejas multíparas de raza Dorper, las cuales estaban bajo un sistema de explotación intensivo, se dividieron en cuatro grupos homogéneos en cuanto a peso y condición. El grupo eC-10 (n=10), recibieron esponjas con 10 mg de progesterona; mientras que los grupos eG-20 (n=10), recibieron esponjas con 20 mg de progesterona. Las esponjas permanecieron por 6 días en las hembras. Las hembras de los grupos eC fueron tratadas con 300 UI de eCG al retiro de la esponja (día 0). Ninguna hembra presentó actividad estral durante el estudio ( $P>0.05$ ). Sin embargo, el porcentaje de ovulaciones fue mayor en el eC, donde se obtuvo un 60% (12/20), Mientras que el porcentaje de ovulaciones de acuerdo a la dosis de P4 de 10 y 20 mg fue de 50% y 45%, respectivamente ( $P>0.05$ ). El presente estudio sugiere que administrar 10 y 20 mg de progesterona natural, en ovejas Dorper no induce la actividad estral, además la eCG indujo actividad ovulatoria.

**Palabras clave:** Anestro, Esponjas intravaginales, Progesterona, eCG

## **INDICE GENERAL**

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b><i>i</i></b>
<b>DEDICATORIAS</b>	<b><i>ii</i></b>
<b>INDICE GENERAL</b>	<b><i>iv</i></b>
<b>RESUMEN</b>	<b><i>iii</i></b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b><i>Revisión de literatura</i></b>	<b>1</b>
Ciclo estral	1
Fisiología	2
Progesterona y crecimiento folicular	5
Progestagenos	6
Gonadotropinas	6
Sincronización de celos	7
Tratamientos tradicionales para sincronizar e inducir respuesta reproductiva en ovejas	9
Tratamientos cortos	10
Efecto macho	11
<b><i>Materiales y Métodos</i></b>	<b>13</b>
Localización, animales y manejo	13
Grupos experimentales y tratamientos	13
<b><i>Variables a Evaluar</i></b>	<b>14</b>
Actividad estral	14
Porcentaje de ovulación, número de cuerpos lúteos	14
Análisis estadístico	15
<b><i>Resultados</i></b>	<b>16</b>
Respuesta y conducta reproductiva de las hembras	16
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>17</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>18</b>
<b>Referencias</b>	<b>19</b>

## **INDICE DE FIGURAS**

*Figura 1.- Esquema del diseño experimental del protocolo de inducción de la ovulación con esponjas vaginales* \_\_\_\_\_ 14

## **LISTA DE TABLAS**

*Tabla 1.- Comportamiento reproductivo de ovejas anovulatorias tratadas con esponjas vaginales con diferentes dosis de eCG, bajo condiciones de fotoperiodo natural durante los meses de marzo.*  
\_\_\_\_\_ 16



## INTRODUCCIÓN

Durante 70 años, investigadores de todo el mundo han estado examinando la posibilidad de emplear hormonas en el control del estro y la ovulación en ovejas, el progreso hacia técnicas de reproducción controlada comercialmente aceptables se aceleró en gran medida a principios de la década de 1950 cuando Terry Robinson en Australia demostró el papel crucial de la progesterona en el ciclo de la oveja (Gordon, 2004). Los protocolos más utilizados para estas técnicas se desarrollaron utilizando progestágenos con la combinación de gonadotropina corionica equina eCG (*Menchaca, et al., 2007*).

Para disminuir la estacionalidad reproductiva en ovejas y cabras, se administra P4 a través de dispositivos vaginales, ya sea esponjas, CIDR, o DICO, los cuales se retiran a los 5 o 6 días de su inserción. Los dos progestágenos más empleados son el acetato de medroxiprogesterona (MAP) y el acetato de fluorogestona (FGA) en dosis de 20 y 60 mg respectivamente ( *Abecia, et al., 2012*). En este caso, para obtener un alto porcentaje de animales que respondan, el tratamiento deberá asociarse a la administración de eCG al retiro del dispositivo (Ungerfeld & Rubianes, 2002). Los protocolos en los que se disminuya el uso de hormonales, como la administración de dosis bajas de P4 en esponjas intravaginales más la aplicación intramuscular de eCG o efecto macho, podrían ser efectivas para la inducción de la actividad sexual ( *Abecia, et al., 2012*)

### Revisión de literatura

#### Ciclo estral

Un ciclo estral es el intervalo desde el comienzo de un estro hasta el comienzo del siguiente, los que tienen varios ciclos de estro por año son poliestricos. Muchos animales, como los ovinos, tienen períodos sucesivos de estro si no se establece y mantiene un embarazo. El tiempo de estos períodos a menudo está determinado por los cambios estacionales en la duración del día, por lo que estos animales son poliestricos estacionales. El período relativamente largo de inactividad en los

animales poliestricos se denomina anestro y forma parte del ciclo sexual. (Fails & *Christianne* , 2018)

El ciclo estral comienza con el lanzamiento de ovulos capaces de ser fertilizado (ovulación), y es de aproximadamente 17 días de duración en ovejas. La ovulación se acompaña de cambios de comportamiento conocidos como "estro" o "calor". Durante el estro, las ovejas son tanto atractivas como receptivas a los carneros. Las ovejas buscarán un carnero y podrán adoptar una postura en cuclillas, mientras se muestra meneando la cola o acariciando el flanco del semental antes de estar de pie para estar acoplado. El estro dura aproximadamente 36 horas en ovejas, y la ovulación ocurre 18-24 horas después de que comienza. El primer estro de la temporada a menudo se describe como silencioso, por lo que las ovejas no muestran signos de comportamiento (*Sargison, Crilly, & Andrew, 2018*)

El intervalo entre períodos de actividad del estro es de 14 a 19 días (con un promedio de 17 días): de 3 a 5 días de metestrus, 7 a 10 días de diestro, y 2 días de proestro. La alta concentración de estradiol es parcialmente responsable de que la oveja muestre signos de estro. (*Edmondson, Roberts, Baird, Bychawski, & Pugh, 2012*)

### Fisiología

La actividad reproductiva en ovejas parece ser generada por un ritmo endógeno que es cronometrado a la estación apropiada por el ciclo anual de fotoperiodo. (*Karsch, et al., 1989*) (*Malpoux, et al., 1988*)

El epitalamo, incluye la glándula pineal, que es un órgano endocrino en los mamíferos. Su secreción primaria, la melatonina, parece ser importante en los ritmos circadianos (diarios) y en los ciclos del sueño. Además, la actividad de la glándula pineal es importante en especies con ciclos reproductivos estacionales. (*Fails & Christianne , 2018*)

El mecanismo endocrino que controla el paso de una estación a otra está determinado por la modificación en la sensibilidad del hipotálamo a los esteroides

gonadales por medio de la variación en la secreción de la melatonina, una indolamina secretada por la glándula pineal. Es decir, la glándula pineal actúa como un mediador que transforma los impulsos ópticos de la luz en descargas hormonales que son capaces de alterar la sensibilidad del hipotálamo a los esteroides gonadales. (*Jimeno, et al., 2001*)

De todos los factores ambientales, el fotoperiodo es el más repetible y con variabilidad nula entre años. Por lo tanto, la duración de las horas luz, sincroniza el ciclo reproductivo anual de la oveja. Los ovinos detectan las variaciones anuales en la duración del fotoperiodo, utilizan una compleja red neural a nivel central y transforman la señal luminosa en una señal hormonal a través de la síntesis y secreción de melatonina. (*Bittman & Karsh, 1984; Malpoux, et al., 1996; Malpoux, et al., 1997; Malpoux, et al., 1999; Barrell, et al., 2000*)

En este mecanismo, la luz es captada en el ojo, a través de la retina, la señal luminosa se transforma en una señal eléctrica que es conducida de la retina al hipotálamo por medio del tracto retinohipotalámico; en el hipotálamo, el núcleo supraquiasmático capta la señal y posteriormente se transfiere al núcleo paraventricular; finalmente al cerebro posterior, específicamente al ganglio cervical superior. En este punto, la señal eléctrica se transforma en una señal química; el ganglio cervical superior libera noradrenalina, la cual es captada por receptores alfa y beta adrenérgicos en la membrana celular de los pinealocitos, se induce la síntesis de la N-acetil-transferasa, enzima fundamental en la síntesis de melatonina. (*Arendt, 1998*); de esta manera, la hormona se sintetiza en los pinealocitos de la glándula pineal durante las horas de oscuridad a partir del aminoácido triptófano (*McMillen, et al., 1995; Rosa & Bryant, 2003*)

La menor duración en la secreción de melatonina durante los días largos, permite la síntesis de dopamina e induce el anestro estacional. Durante los días cortos, la mayor duración en la síntesis y secreción de melatonina inhibe la producción de dopamina, con el subsecuente restablecimiento de la actividad estral y la ovulación (*Viguié, et al., 1997; Malpoux, et al., 1999*)

Los cambios estacionales en la actividad reproductiva se manifiestan en el nivel neuroendocrino como cambios en la secreción pulsátil de LH. En ovejas, por ejemplo, un aumento en la secreción pulsátil de LH se asocia con la transición a la temporada de reproducción en otoño, y una disminución en la secreción pulsátil es característica de la transición al anestro a fines del invierno (*l'Anson & Legan, 1988*) (*Goodman, et al., 1982*)

Se describieron dos tipos de anestro; Anestro Ligero, que se produce al inicio del periodo del anestro, caracterizado por la presencia de folículos normales; y Anestro Profundo, ocurriendo 80 días en el período de anestro y caracterizado por una reducción marcada en el Número de folículos antrales presentes. La ovulación durante el anestro leve podría ser inducida por inyecciones de hormona luteinizante (LH) sola, mientras que la ovulación durante el anestro profundo requería la Administración de LH y hormona estimulante del folículo (FSH). (*Oussaid , Cognie , & Mariana , 1993*)

El estradiol secretado por los folículos en desarrollo tiene una retroalimentación negativa sobre la secreción de LH. A medida que se acerca la pubertad, esta influencia inhibitoria se vuelve menos importante, y los pulsos de GnRH del hipotálamo y los pulsos hipofisarios subsiguientes de LH se vuelven más frecuentes. Esta actividad hormonal estimula el desarrollo folicular. El consiguiente aumento de LH induce la luteinización del folículo y generalmente la ovulación. (*Edmondson, et al., 2012*)

Cada onda folicular antral es estimulada por un aumento en la secreción de FSH causada por la regresión del folículo dominante de la ola anterior. El folículo dominante adquiere posteriormente la dependencia de LH para su propio crecimiento continuo y suprime la secreción de FSH. (*Duggavathi, Bartlewski, Barrett, Gratton, Bagu, & Rawlings, 2004*)

Han demostrado que existe un umbral de concentración de la hormona folículo estimulante (FSH) que necesita ser superado para estimular la entrada de pequeños folículos antrales, en ondas de desarrollo folicular (es decir, folículos que crecen

sincrónicamente a diámetros claramente ovulatorios antes de regresión u ovulación (*Bartlewski, Baby, & Giffin, 2011*)

### **Progesterona y crecimiento folicular**

La manipulación de las concentraciones circulantes de progesterona (P4) permite la regulación del estro y de la ovulación (Leyva , et al., 1998) La función básica de la progesterona durante esta parte del ciclo estral es prepararse para un embarazo. La progesterona aumenta la secreción de la glándula uterina e inhibe la motilidad uterina para promover la implantación y mantener cualquier embarazo, los niveles altos de progesterona actúan sobre el eje hipotalámico-adenohipofisario para inhibir la secreción de LH. Si no se establece un embarazo exitoso, los cuerpos lúteos deben someterse a una regresión (luteolisis) para permitir que el animal continúe el ciclo estral. Las señales humorales entre el útero y el ovario que inician o inhiben la luteólisis difieren entre las especies La progesterona de los folículos preovulatorios, el desarrollo de cuerpos lúteos o cuerpos lúteos de ciclos anteriores también promueve el estro de comportamiento en algunas especies. Durante el metaestro, los estrógenos séricos disminuyen y la progesterona aumenta. Un cuerpo lúteo completamente desarrollado tiene una influencia notable en el útero. El revestimiento endometrial del útero se engrosa; agrandar las glándulas uterinas; y los músculos uterinos muestran un mayor desarrollo. Los genitales externos vuelven a su estado antes del estro a medida que disminuyen los estrógenos plasmáticos. (Fails & Christianne , 2018)

#### Estacionalidad en las ovejas

La estacionalidad de la reproducción, como parte del proceso de selección natural, es un mecanismo de adaptación desarrollado por algunos mamíferos silvestres como estrategia para minimizar el impacto negativo del ambiente (temperatura, humedad y disponibilidad de alimento) en la supervivencia de las crías (*Malpaux , et al., 1996*) de manera que los nacimientos ocurren en la época más favorable del año, con abundancia de pastos y temperatura ambiental confortable. Los ovinos presentan anualmente dos etapas fisiológicas bien definidas (*Barrell, et al., 1992*) .

Una fase de anestro estacional (días largos), con ausencia de ciclos estrales regulares, receptividad sexual y ovulación; en el macho, cesa la espermatogénesis y la libido. La otra etapa fisiológica, conocida como época reproductiva (días cortos), se caracteriza por la ocurrencia de ciclicidad estral, conducta de estro y ovulación en la hembra; en el macho, se restablece la espermatogénesis y el deseo sexual (*Malpoux, et al., 1997*). El fotoperiodo es el factor ambiental primario que regula estos eventos. La oveja posee un sistema neurofisiológico capaz de transformar la señal luminosa en una señal hormonal a través de la síntesis de melatonina y de esta manera detecta las variaciones anuales en la duración del fotoperiodo (McMillen, et al., 1995; Arendt, 1998; Williams & Helliwell , 1993 )

### Progestagenos

En los ovinos, las técnicas de sincronización de celos más utilizadas incluyen el uso de dispositivos intravaginales impregnados con progesterona o progestágenos. Los primeros dispositivos de este tipo fueron desarrollados en Australia por Robinson (1956). (Manes & Ungerfeld, 2015)

En los protocolos de sincronización son usados la progesterona o sus análogos, entre los cuales los progestágenos, imitan la función del cuerpo lúteo (CL). Por otra parte, el uso de las prostaglandinas es una alternativa para controlar la reproducción eliminando el CL e induciendo una subsecuente fase folicular acompañada de ovulación.

### Gonadotropinas

Adicionalmente, la gonadotropina coriónica equina (eCG), siendo una hormona análoga a la LH (hormona luteinizante), ayuda con la presentación de la ovulación. (Lozano-González, Uribe-Velásquez, & Henry Osorio, 2012)

La luteolisis se puede inducir en el ganado al administrar análogos de PGF<sub>2</sub>α en cualquier punto del ciclo estral, siempre y cuando el cuerpo lúteo esté intacto y en funcionamiento. La eliminación del cuerpo lúteo permite el rápido desarrollo de nuevos folículos y la ovulación en aproximadamente 3 días. El uso de PGF<sub>2</sub>α para inducir la ovulación y el estro en un tiempo predecible es una herramienta de manejo para sincronizar los ciclos de estro de grupos de animales (*Acritopoulou, et al.,*

1977) La progesterona exógena o sus análogos (por ejemplo, MAP), cuando se administra durante 12 a 14 días, permite la regresión del cuerpo lúteo, pero no se producen estrógeno ni ovulación hasta después de que se elimina la progesterona exógena.

### **Sincronización de celos**

Durante 70 años, investigadores de todo el mundo han estado examinando la posibilidad de emplear hormonas en el control del estrógeno y la ovulación en ovejas, el progreso hacia técnicas de reproducción controlada comercialmente aceptables se aceleró en gran medida a principios de la década de 1950 cuando Terry Robinson en Australia demostró el papel crucial de la progesterona en el ciclo de la oveja y se pusieron a su disposición análogos altamente potentes de progesterona diseñados para su uso en el control de la fertilidad humana en ovejas. (*Gordon, 2004*)

El control del ciclo estral, concretamente la inducción y sincronización del estrógeno, se ha llevado a cabo en ovinos mediante el empleo de métodos farmacológicos y/o naturales. Entre los primeros se destacan el uso de la progesterona y sus análogos, administrados principalmente en forma de dispositivos intravaginales, y el uso de prostaglandina o sus análogos, administrados por vía parenteral. Entre los métodos naturales, destaca el uso de la bioestimulación ejercida por la presencia del carnero más conocido como "efecto macho". (*Bentancor Bertalmio & González Castrillejo, 2015*)

La hormona más utilizada para inducir la ovulación en pequeños rumiantes es la gonadotropina coriónica equina eCG. Sin embargo, el uso repetido de eCG está asociado con una reacción inmunogénica en cabras (*Baril, et al., 1992; Baril, et al., 1996; Drion, et al., 2001*)

Las nuevas tendencias en la fisiología reproductiva de los pequeños rumiantes incluyen la revisión de algunos de los conceptos tradicionales, principalmente en relación con el período prolongado de exposición a la progesterona y el uso de eCG. La exposición prolongada a la progesterona (es decir, 12 días) usando un dispositivo

intravaginal induce concentraciones de progesterona en suero. (aproximadamente 1 ng / ml) en ovinos. (*Viñoles, et al., 1999*).

Se hace necesario diferenciar el término sincronización, de inducción; ya que el primero hace mención a hembras con cuerpo lúteo (CL) funcional que están ciclando, en donde se pretende homogenizar lotes de hembras; mientras el segundo, hace referencia a las hembras que están en anestro y se quiere reinducir . (*Lozano-González, et al., 2012*)

Durante la transición del anestro a la época de reproducción, estudios previos apoyan la opinión de que P4 puede modular la secreción de gonadotropinas en la oveja (*Legan, et al., 1985; Legan, et al., 1991; l'Anson & Legan, 1988*)

El único cambio más reciente ha sido una reducción de la dosis a 20 mg (la mitad de la concentración en dispositivos anteriores) de progestágeno en el caso de esponjas de acetato de fluorogestona. Con el uso de la dosis modificada de progestágeno, fueron similares efectos fisiológicos, de comportamiento y endocrinos como con la dosis de 40 mg que se había utilizado anteriormente ( *Letelier, et al., 2009*)

Un aspecto negativo del uso de esponjas vaginales es la vaginitis causada, que generalmente presenta una baja en la fertilidad de las borregas ( *Hasani, et al., 2018*). El mantenimiento de esponjas intravaginales con progestágenos durante un periodo tan largo de 14 días están relacionados con vaginitis y con retención de las esponjas (*Suarez, et al., 2006; Martins, et al., 2009*) Estas técnicas pueden desarrollar otros problemas asociados, como un menor rendimiento de fertilidad en comparación con el estro natural, retención de esponjas; y que afectan la salud y el bienestar de los animales, debido a la proliferación de bacterias y otros patógenos. (*Cortés-López, et al., 2013*)

A pesar de los malos resultados en términos de tasas de embarazo, la capacidad de los regímenes de reproducción fuera de temporada para inducir el estro del comportamiento es generalmente buena. En los estudios de estro se mostró hasta



en un 95% de las ovejas. ( *Dawe, et al., 1969*) ( *Smith, et al., 1988*) ( *Knight, et al., 1989*) ( *Ungerfeld & Rubianes, 1999*)

Otros estudios en los que regímenes de estimulación similares (es decir, progesterona y eCG) fueron utilizados. Estos y otros estudios También mostraron que las tasas de embarazo fuera de temporada son más bajas que en la época de reproducción. ( *Robinson, et al., 1975*) ( *Wheaton, et al., 1992*)

Las esponjas de acetato de fluorocetona (FGA) redujeron el número de folículos en crecimiento; a pesar de este efecto al desaparecer después de la extracción de la esponja, la tasa de ovulación se reduce significativamente. El tratamiento con gonadotropina coriónica equina (eCG) restaura la tasa de ovulación (OR) al reducir la atresia de folículos preovulatorios. En condiciones similares, un tratamiento previo de las ovejas con melatonina otra vez redujo la tasa de atresia de los folículos grandes y dio lugar a una mayor tasa de ovulación. ( *Bister, Noël, Perrad, Mandiki, Mbayahaga, & Paquay, 1999*)

Sin embargo, los protocolos basados en P4-eCG se han asociado a alteraciones en el ovocito. Lo que determina menores tasas de fertilización y deterioro del desarrollo embrionario. ( *Gonzales-Bulnes, et al., 2005*) ( *Berlinguer, et al., 2007*)

Además, el uso repetido de eCG se ha asociado a una respuesta inmune humoral en ovejas y al desarrollo de quistes foliculares ( *Roy, et al., 1999*)

### **Tratamientos tradicionales para sincronizar e inducir respuesta reproductiva en ovejas**

El protocolo más utilizado es la combinación de P4 con eCG, que puede usarse tanto en la temporada de reproducción como más allá, para estimular la ovulación ( *Evans & Robinson, 1980*). En este caso, para obtener un alto porcentaje de animales que respondan, el tratamiento deberá asociarse a la administración de eCG al retiro del dispositivo ( *Ungerfeld & Rubianes, 2002*)

Los protocolos implican dispositivos intravaginales impregnados de progestágenos (P4) mantenidos durante 12 a 14 días, en conjunción o no con gonadotropina coriónica equina en el retiro del dispositivo (P4-eCG), que produce un embarazo aceptable tasas dentro y fuera de la temporada de reproducción fisiológica (*Abecia, Forcada, & González-Bulnes, 2012*).

Estos protocolos resultan en altas tasas de inducción de estro en animales tratados, pero con baja fertilidad. Se debe al tiempo que permanece el dispositivo, lo que genera un período excesivo de crecimiento del folículo y, por lo tanto, el envejecimiento del ovocito (*Viñoles, et al., 2001*)

### **Tratamientos cortos**

Debido a las demandas económicas de los productores de ovinos, se optó por una alternativa que minimizara el tiempo de permanencia del dispositivo vaginal por una corta exposición con los tratamientos de progesterona para la sincronización del estro (*Abecia, et al., 2012*).

Letelier et al. (2009), Knights et al. (2001) y Jackson et al. (2014) mencionan que un tratamiento con esponjas vaginales impregnadas con progesterona o dispositivo interno de liberación controlada (CIDR, DICO) por un periodo de corto plazo de 5 a 6 días. Una vez que finaliza el tratamiento, es recomendable la aplicación de eCG o efecto macho, para obtener una respuesta estral mayor al 90% y una fertilidad de 70% (*Vilarriño, et al., 2013*)

La sensibilidad al tratamiento varía de acuerdo con la etapa del ciclo estral, por lo cual, una doble aplicación del fármaco con intervalo de 11 días es el protocolo usado con más frecuencia en ovejas (*Wildeus, 2000; Arroyo-Ledezma et al., 2013*)

En ovejas los tratamientos cortos de sincronización con PGF2 $\alpha$  o sus análogos son efectivos (*Rubianes, et al., 2003*). Por lo tanto, una aplicación doble de PGF2 $\alpha$  con intervalo de 8 días sincroniza el estro en ovejas de pelo y, si se simula el modo de secreción pulsátil de la PGF2 $\alpha$ , podría mejorar la respuesta fisiológica. (*Arroyo Ledezma, et al., 2015*)

Los tratamientos a corto plazo obtienen resultados similares a los de largo plazo, tanto en la inducción del estro y la fertilidad, pero con la diferencia de una mayor tasa de preñez. ( *Abecia, et al., 2012*)

#### Efecto macho

La bioestimulación es el término acuñado para describir el efecto estimulante de un macho en el estro y la ovulación mediante la estimulación genital, las feromonas de cebado u otras señales externas menos definidas definición por Chenoweth en 1983 (*Rekwot, et al., 2001*)

Desempeña funciones importantes en la reproducción, como acelerar la madurez sexual, inducir la ovulación, reducir el anestro postparto y también el coito o el apareamiento en muchas especies de mamíferos, incluidos insectos, roedores, animales salvajes, poblaciones silvestres, cerdos, ovejas, cabras y ganado (*Burns & Spitzer, 1992*)

La inducción de la ovulación después de la asociación de unas ovejas anovulatoria con machos conocido como el "efecto macho" - fue descrita por primera vez por Underwood et al. (1944) ( *Cohen Tannoudji & Signoret, 1987*)

En los mamíferos domésticos, las feromonas de cebado (*priming pheromones*) del macho influyen en la inducción de la pubertad, la terminación del anoestro estacional y el acortamiento del anoestro postparto. Cada uno de estos efectos implica la terminación del estado de anestro en la hembra por señales químicas del macho. (*Izart, 1983*)

La introducción de carneros estimula un aumento de la pulsátil secreción de LH en minutos y, en algunas razas, este es suficiente para inducir un aumento de LH pre-ovulatorio, Ovulación y, posteriormente, estro y concepción. (*Hawken, et al., 2007*)

Después de un período de completa segregación (olor, vista, sonido y tacto), Induce ovulaciones sincrónicas en los siguientes días.El contacto con los machos causa un aumento inmediato en el número y la amplitud de los pulsos de LH, que induce la aparición de una oleada preovulatoria de LH para iniciar la ovulación (*Chimeau, 1987*)

Las primeras ovulaciones inducidas son silenciosas (es decir, no asociadas con el comportamiento del celo) en el 40% de las reacciones, y son seguidas por una fase lútea corta, de 5 días de duración, en el 75% de las reacciones. Posteriormente, se restablecen los ciclos ováricos. (*Chimeau, 1987*)

No en vano, este efecto de los estímulos masculinos en la secreción de LH no se limitan a fuentes exógenas. de progesterona y ovejas cíclicas en todas las etapas del ciclo estral responde a los carneros con un aumento de la secreción pulsátil de LH. (*Hawken, et al., 2007*)

## Materiales y Métodos

### Localización, animales y manejo

El experimento se realizó durante el mes de marzo, en un hato de ovinos de la raza Dorper de manejo intensivo, ubicado en el municipio de Matamoros, Coahuila (25° 31' N, 103° 13' O), el cual se encuentra a 1110 msnm y registra una temperatura media anual de 23.8° C con una precipitación pluvial de 230 mm. La duración del día es de 13 h, 41 min en el solsticio de verano y de 10 h, 9 min en el solsticio de invierno. Las ovejas fueron alimentadas con un concentrado comercial el cual contenía 14.5% de proteína cruda y 2.78 Mcal de energía metabolizable, la cual satisfacía sus necesidades de energía y proteína diarias y tuvieron acceso libre a agua limpia y a una mezcla de macro y micro minerales y fueron alojadas en corrales abiertos, bien ventilados y sujetos a las variaciones naturales del fotoperiodo. Los animales fueron desparasitados regularmente y mantenidos bajo buenas condiciones de higiene. Todos los métodos y el manejo de los animales experimentales utilizados en este estudio fueron en conformidad con las directrices aprobadas para uso ético, atención y bienestar de los animales en la investigación a nivel internacional (FASS, 2010) y nacional (NAM, 2002).

### Grupos experimentales y tratamientos

Se utilizaron 20 ovejas Dorper, múltiparas, anovulatorias, de fenotipo multirracial, con edades de 24 a 60 meses, una condición corporal de 2.5 en la escala de 0-5 (0= muy delgadas y 5= muy gordas), con un peso promedio de 43.7±1.4 Kg, divididas en 2 grupos eCG10 y eCG20 (n=10 c/u) homogéneos en cuanto a peso y condición corporal.

El 23 de marzo (día -6), a las ovejas de los dos grupos experimentales se les insertó intravaginalmente esponjas conteniendo P4 (Progesvit, Brovel, Mexico, DF), con un contenido de 10 mg las de los grupos eCG10 y 20 mg las de los grupos eCG20. Al sexto día (día 0), se les retiró a todas las ovejas el implante intravaginal y se les administró y en ese momento, las ovejas de los grupos eCG10 y eCG20 recibieron 300 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG). El tratamiento y diseño del experimento se muestra en la figura 1.

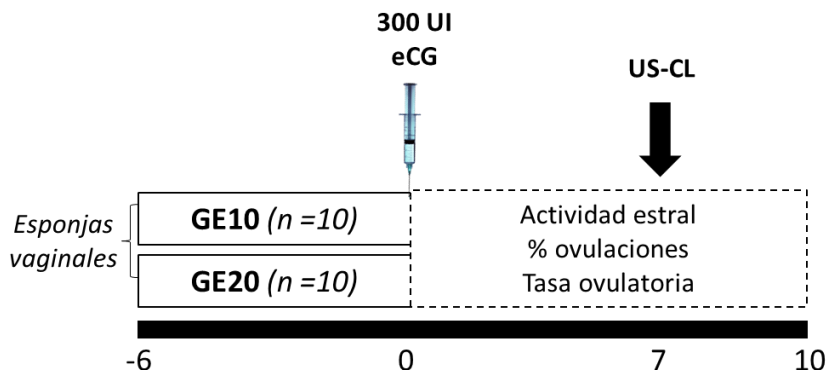


Figura 1.- Esquema del diseño experimental del protocolo de inducción de la ovulación con esponjas vaginales.

Esquema del diseño experimental de esponjas vaginales con diferentes dosis de progesterona natural más eCG donde GE10, se les suministró 10 mg; GE20, se les suministró 20 mg de Progesterona (Progesvit, Brovel, Mexico, DF). Todas las hembras de los grupos fueron tratadas con 300 UI (Folligon, Intervet, México, D.F., México), al momento del retiro de la esponja (día 0). US-CL= se realizó ultrasonido para determinar la presencia de cuerpos lúteos al día 7 después del pico de estros.

### **Confirmación del anestro**

Para descartar a las ovejas con cuerpo lúteo, se realizó ultrasonografía transrectal 17 y 10 días antes de aplicar las esponjas vaginales. El ultrasonido se realizó por un mismo operador, para lo cual se utilizó un equipo Aloka 500 con un transductor lineal de 7.5 MHz (Corometrics Medical Systems, Inc., Wallingfords, CT, USA). Durante el ultrasonido las ovejas se colocaron en posición de pie. Las heces fueron removidas cuando fue necesario por estimulación digital, después se introdujeron 20 mL de gel de carboximetilcelulosa como medio de acoplamiento para el transductor. Una vez que los cuernos uterinos fueron localizados, el transductor se giró a 90° en el sentido de las manecillas del reloj o a 180° en contra, hasta que ambos ovarios fueron localizados.

### **Elaboración de esponjas**

Para la elaboración de las esponjas se utilizó una esponja de poliestireno de 2.5 cm de espesor. con un diámetro de 2.5 cm a las que se les sujetó a un hilo de 20 cm en forma de cruz para facilitar el retiró de la esponja. Antes de insertar la esponja se impregnaron con 20 (0.4 mL) o 10 (0.2 mL) mg de progesterona natural (Progesvit, Brovel, México D. F., México).

### **VARIABLES A EVALUAR**

#### **Actividad estral**

Para identificar el inicio de la respuesta estral, desde el primer día del empadre (día 0) se detectó el estro dos veces al día (7:00 y 19:00 h) durante 10 min, cada 12 h y por 15 días consecutivos (Walkden-Brown et al., 1993), considerando como hembra en celo aquella que permaneció inmóvil a la monta del macho. El inicio del celo fue considerado como el tiempo transcurrido entre la aplicación de la eCG (d 0) y la primera monta.

#### **Porcentaje de ovulación, número de cuerpos lúteos**

El porcentaje de ovulación fue determinada a través de la presencia de cuerpos lúteos según lo descrito por Simoes et al. (2005), los cuales fueron evaluados 10

días después de la aplicación de la eCG. La ultrasonografía fue realizada por el mismo operador, utilizando un ultrasonido (Aloka SSD 500, Tokio, Japón) por vía transrectal conectada a una sonda lineal 7.5-MHz; el número de cuerpos lúteos fue determinado mediante ultrasonografía 7 días después del día 0.

#### Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, con parcelas divididas. Se utilizó una chi-cuadrada para determinar los efectos de los tratamientos sobre las variables: Actividad estral, porcentaje de ovulaciones. Mientras que la tasa ovulatoria se realizó mediante una t-student. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa estadístico SYSTAT 12.0, y se consideró una diferencia de  $P < 0.05$  como significativa.

## Resultados

### Respuesta y conducta reproductiva de las hembras

En la tabla 1 se muestran los datos reproductivos de las ovejas anovulatorias tratadas con esponjas impregnadas con 10 o 20 mg de progesterona durante 6 días (10 y 20 mg). Ninguna hembra de los dos grupos (GR10 y GE20) presentó actividad estral ( $P>0.05$ ). Así mismo, el porcentaje de ovulaciones para el GE20 fue de un 60% (6/10), mientras el GE10 fue de 50% (5/10) sin afectar el porcentaje de ovulaciones entre estos grupos ( $P>0.05$ ). Por otra parte, no existió un efecto sobre la tasa ovulatoria en el GE10 y GE20 ( $1.40\pm 0.18$  y  $1.67\pm 0.16$ , respectivamente;  $P>0.05$ ).

Tabla 1.- Comportamiento reproductivo de ovejas anovulatorias tratadas con esponjas vaginales con diferentes dosis de eCG, bajo condiciones de fotoperiodo natural durante los meses de marzo.

**Tabla 1.** Comportamiento reproductivo de ovejas anovulatorias tratadas con esponjas vaginales con diferentes dosis de eCG, bajo condiciones de fotoperiodo natural durante los meses de marzo.

	<b>Actividad estral (%)</b>	<b>Ovulaciones (%)</b>	<b>Tasa ovulatoria (n)</b>
<b>GE10</b>	-	50 <sup>a</sup> (5/10)	1.40±0.18 <sup>a</sup>
<b>GE20</b>	-	60 <sup>a</sup> (6/10)	1.67±0.16 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>= valores en columnas con diferente literal difieren estadísticamente ( $p<0.05$ )



## DISCUSIÓN

La falta de respuesta estral en las hembras expuestas a los diferentes tratamientos, se puede atribuir a que la totalidad de las hembras presento celos silenciosos. (Menchaca, et al., 2004) . El primer estro de la temporada a menudo se describe como silencioso, por lo que las ovejas no muestran signos de comportamiento sexual, aunque la ovulación ocurre normalmente. (*Sargison, et al., 2018; Boscós, et al., 2002*). La expresión del estro, requiere un equilibrio apropiado entre el estradiol, la progesterona y quizás también los andrógenos. (*Karsch, et al., 1980*), lo cual probablemente influya en la falta de aparición de estro, por efecto del desequilibrio de alguno de estos componentes, ya que sin una cantidad apropiada de progesterona no existe una sensibilización a la glándula pituitaria evitando con esto una buena exposición al estradiol, solo una buena elevación serica de progesterona antes de presentarse el estradiol es cuando existe estro (*Karsch, et al., 1984*), con ese desequilibrio no presenta actividad estral, mas sin embargo si presenta una ovulación. (*Bartlewski, et al., 2011*) esto también se menciona en los artículos de Hashem et. al. (2011) y Blache et. al. (1994) que reportan que en ovinos reportaron un incremento en la presencia de estros silenciosos cuando la concentración de P4 disminuyó. Concentraciones elevadas de P4 favorecen la activación de receptores de estradiol en el hipotálamo medio basal, lo que incrementa la sensibilidad a estradiol para la aparición del estro y ovulación.

Gastelum-Delgado et. Al (2015). La presencia de anestros cortos en ovejas Pelibuey durante enero a junio también puede ser responsable del menor número de estros (totales, normales y largos) y ovulaciones observado en la época de invierno y primavera.

*Ordoñez. et al.* (2016) nos muestra en su artículo donde utilizo ovinos de la raza dorper en el norte de México, (n = 14; 41.5 ± 3.0 kg de peso corporal, 2.0 ± 0.2 BCS), que reciben una esponja intravaginal Chronogest® durante 6 días y se retira 24 h antes de la aplicación de eCG (d 0). Los tres grupos recibieron una dosis única de 300 UI eCG im en d 0. El porcentaje de ovulación y la tasa de gestación (P <0.05) se observaron en el grupo (93% y 79%, respectivamente), lo cual comparado con nuestro experimento fue mas efectivo.

## **Conclusiones**

En conclusión, el experimento, nos mostró que es mejor realizar las esponjas para disminuir costos utilizando 20mg de progesterona combinado con eCG, lo inconveniente es poder sensibilizar el hipotálamo llegando a niveles elevados de P4 para poder tener la presencia de celos.

## Referencias

- Abecia, J., Forcada, F. & González-Bulnes, A., 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, pp. 173-179.
- Arendt, J., 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of Reproduction*, pp. 13-22.
- Bartlewski, P. M., Baby, T. E. & Giffin, J. L., 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*, p. 259–268.
- Bister, J.-L. y otros, 1999. Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology*, pp. 315-328.
- Cohen Tannoudji, J. & Signoret, J., 1987. Effect of Short Exposure to the Ram on later Reactivity of Anoestrous Ewes to the Maid Effect. *Animal Reproduction Science*, pp. 263-268.
- Dawe, S. T., Roberts, . E. A. & Killeen , . I. D., 1969. MAP impregnated intravaginal sponges for the induction of. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, pp. 385-388.
- Duggavathi, R. y otros, 2004. Patterns of Antral Follicular Wave Dynamics and Accompanying Endocrine Changes in Cyclic and Seasonally Anestrous Ewes Treated with Exogenous Ovine Follicle Stimulating Hormone During the Inter-Wave Interval. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, p. 821–827.
- Hasani, N., Ebrahimi, M., Ghasemi-Panahi, B. & HosseinKhani, A., 2018. Evaluating reproductive performance of three estrus synchronization protocols in Ghezel ewes. *Theriogenology*, p. 3;13.
- Hawken, P. y otros, 2007. The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH. *Theriogenology*, pp. 56-66.
- Letelier, C. y otros, 2009. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology*, pp. 676-682.
- Malpaux, B., Wayne, N. L. & Karsch, F. J., 1988. Termination of the Breeding Season in the Suffolk Ewe: Involvement of an Endogenous Rhythm of Reproduction. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, pp. 254-263.
- Robinson, J. J., Fraser, . C. & Mchattie, . I., 1975. THE USE OF PROGESTAGENS AND PHOTOPERIODISM IN IMPROVING THE REPRODUCTIVE RATE OF THE EWE. *Annales de Biologie animale*, pp. 345-352.
- Roy, F. y otros, 1999. Humoral Immune Response to Equine Chorionic Gonadotropin in Ewes: Association with Major Histocompatibility Complex and Interference with Subsequent Fertility. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, p. 209–218.
- Acritopoulou, S., Haresign, W., Foster, J. P. & Lamming, G. E., 1977. Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injection of an analogue of prostaglandin F-2alpha. *J. Reprod. Fert.*, pp. 337-340.

- Adib, A. y otros, 2014. Progesterone improves the maturation of male-induced preovulatory follicles in anoestrous ewes. *Reproduction*, pp. 403-416.
- Arroyo Ledezma, J., Hernandez Lopez, J., Avila Serrano, N. Y. & Camacho Escobar, M. A., 2015. RESPUESTA ESTRAL Y PERFIL HORMONAL EN OVEJAS DE PELO SINCRONIZADAS CON PROTOCOLOS CORTOS A BASE DE PROSTAGLANDINAS. *AGROCIENCIA*, pp. 475-482.
- Baril, G. y otros, 1996. Synchronization of estrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*, pp. 1553-1559.
- Baril, G., Remy, B., Vallet, J. & Beckers, J., 1992. Effect of Repeated Use of Progestagen-PMSG Treatment for Estrus Control in Dairy Goats out of Breeding Season. *Reproduction in Domestic Animals*, pp. 161-168.
- Barrell, G. K., Moenter, S. M., Karaty, A. & Karsh, F. J., 1992. Seasonal Changes of Gonadotropin-Releasing Hormone Secretion in the Ewe. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, pp. 1130-1135.
- Barrell, G. K. y otros, 2000. Importance of Photoperiodic Signal Quality to Entrainment of the Circannual Reproductive Rhythm of the Ewe. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, p. 769-774.
- Bentancor Bertalmio, E. & González Castrillejo, V., 2015. Comparación Reproductiva De Diferentes Protocolos De IAFT. *Universidad De La República Facultad De Veterinaria*, p. 18.
- Berlinguer, F. y otros, 2007. Effects of progestagens on follicular growth and oocyte developmental competence in FSH-treated ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, p. 303-314.
- Bittman, E. L. & Karsh, F. J., 1984. Nightly Duration of Pineal Melatonin Secretion Determines the Reproductive Response to Inhibitory Day Length in the Ewe. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, pp. 585-593.
- Blache, D., Batailler, M. & Fabre-Nys, C., 1994. Oestrogen Receptors in the Preoptico-Hypothalamic Continuum: Immunohistochemical Study of the Distribution and Cell Density During Induced Oestrous Cycle in Ovariectomized Ewe. *Journal of Neuroendocrinology*, 6(3), pp. 329-339.
- Boscos, C. y otros, 2002. Use a progestagen-gonadotrophin treatments in estrus sincronization of sheep. *Theriogenology*, pp. 1261-1272.
- Burns, P. D. & Spitzer, J., 1992. Influence of Biostimulation on Reproduction in Postpartum Beef Cows. *Journal of Animal Science*, pp. 358-362.
- Chimeau, P., 1987. Possibilities for Using Bucks to Stimulate Ovarian and oestrus Cycles in Anovulatory Goats- Review. *Elsevier Science Publishers B. V*, pp. 135-147.
- Corteel, J., Leboeuf, B. & Baril, G., 1988. Artificial Breeding of Adult Goats and Kids Induced with Hormones to Ovulate Outside the Breeding Season. *Small Ruminant Research*, pp. 19-35.
- Cortés-López, N. G. y otros, 2013. EFECTO DEL ACETATO DE FLUOROGESTONA EN LA MICROBIOTA VAGINAL DE BORREGAS PELIBUEY EN LA CUENCA DEL PAPALOAPAN. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, pp. 309 - 314.

- Drion, P. V. y otros, 2001. Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reproduction Nutrition Development*, pp. 401-412.
- Edmondson, M. A. y otros, 2012. Theriogenology of Sheep. En: *sheep and goat medicine (second edition)*. St. Louis, Missouri, USA: Saunders, pp. 150-230.
- Evans, B. G. & Robinson, T. J., 1980. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus.. *The Journal of Agriculture Science*, pp. 69-88.
- Fails, A. D. & Christianne, M., 2018. *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. hoboken N.J.: John Wiley & Sons, Inc..
- Gastelum-Delgado, M. A. y otros, 2015. Conducta estral circanual en ovejas Pelibuey bajo condiciones aridas del noreste de Mexico. *Revista Mexicana Ciencia Pecuaria*, 6(1), pp. 109-118.
- Gonzales-Bulnes, A. y otros, 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, p. 2523–2534.
- Goodman, R. L., Bittman, E. L., Foster, D. L. & Karsch, F. J., 1982. Alterations in the Control of Luteinizing Hormone Pulse Frequency Underlie the Seasonal Variation in Estradiol Negative Feedback in the Ewe. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, pp. 580-589.
- Gordon, I., 2004. *Reproductive Technologies in Farm Animals*. UK: Cromwell Press, Trowbridge.
- Hashem, N., El-Zarkouny, S., Taha, T. & Abo-Elezz, Z., 2011. Effect of season, month of parturition and lactation on estrus behavior and ovarian activity in Barki x Rahmani crossbred ewes under subtropical conditions. *Theriogenology*, 75(7), p. 1327–1335.
- I'Anson, H. & Legan, S. J., 1988. Changes in LH pulse frequency and serum progesterone concentrations during the transition to breeding season in ewes. *journals of reproduction and fertility*, p. 82.
- Izart, M., 1983. PHEROMONES AND REPRODUCTION IN DOMESTIC ANIMALS. En: *PHEROMONES AND REPRODUCTION IN MAMMALS*. New York: Academic Press, pp. 253-285.
- Jimeno, V., Castro, T. & Rebollar, P. G., 2001. INTERACCIÓN NUTRICIÓN-REPRODUCCIÓN EN OVINO DE LECHE. *Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal*, pp. 4-9.
- Karsch, F. J. y otros, 1984. Neuroendocrin Basis of Seasonal Reproduction. *RECENT PROGRESS IN HORMONE RESEARCH*, pp. 185-232.
- Karsch, F. J., Legan, S. J., Ryan, K. D. & Foster, D. L., 1980. Importance of Estradiol and Progesterone in Regulating LH Secretion and Estrous Behavior During the Sheep Estrous Cycle. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, pp. 404-413.
- Karsch, F. J., Robinson, J. E., Woodfill, C. J. & Brown, M. B., 1989. Circannual Cycles of Luteinizing Hormone and Prolactin Secretion in Ewes during Prolonged Exposure to a Fixed Photoperiod: Evidence for an Endogenous Reproductive Rhythm. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*, pp. 1034-1046.

- Knight, T. y otros, 1989. Mating Romney ewes in November-December using CIDRs and pregnant mare serum gonadotrophin. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, pp. 255-260.
- Legan, S., l'Anson, H. & Neiser, P., 1991. Progesterone ensures full-length luteal phases during the breeding season in ewes. *Journal of endocrinology*, p. 129.
- Legan, S. J., l'anson, H., Fitzgerald, B. P. & Akaydin, M. S., 1985. Importance of Short Luteal Phases in the Endocrine. *The Endocrine Society*, pp. 1530-1537.
- Leyva, V., Buckrell, B. & Walton, J., 1998. REGULATION OF FOLLICULAR ACTIVITY AND OVULATION IN EWES BY EXOGENOUS PROGESTAGEN. *Theriogenology*, pp. 395-416.
- Lopez Sebastian, A. & Inskeep, E., 1991. Response of ewes of Mediterranean sheep breeds to subcutaneous implants of melatonin. *Livestock Production Science*, pp. 177-184.
- Lozano-González, J. . F., Uribe-Velásquez, L. F. & Henry Osorio, J., 2012. Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (Ovaries). *Veterinaria y Zootecnia ISSN*, pp. 134-147.
- Malpoux, B. y otros, 1996. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science*, pp. 109- 117.
- Malpoux, B., Thiéry, J.-C. & Chemineau, P., 1999. Melatonin and the seasonal control of reproduction. *REPRODUCTION NUTRITION DEVELOPMENT*, pp. 355-366.
- Malpoux, B. y otros, 1997. Control of the Circannual Rhythm of Reproduction by Melatonin in the Ewe. *Brain Research Bulletin*, pp. 431-438.
- Manes, J. & Ungerfeld, R., 2015. Sincronización de celos en ovejas y cabras con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos: alteraciones en ambiente vaginal y su relación con la fertilidad. *Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte*, pp. 104-108.
- Martins, G. y otros, 2009. Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progestin-impregnated intravaginal sponges. *Small Ruminant Research*, pp. 182-184.
- McMillen, I., Houghton, D. & Young, I., 1995. Melatonin and the development of circadian and seasonal rhythmicity. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, pp. 137-146.
- Menchaca, A. y otros, 2004. Prostaglandin F2a Treatment Associated with Timed Artificial Insemination in Ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, pp. 352-355.
- Menchaca, A., Miller, V., Salveraglio, V. & Rubianes, E., 2007. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. *Animal Reproduction Science*, p. 76-87.
- Ordóñez, J. Z. y otros, 2016. Induction of sexual activity in dorper ewes: Effect of two intramuscular doses of progesterone vs progesterone vaginal sponges + eCG. *Journal of Animal Science*, pp. 824-824.
- Oussaid, B., Cognie, Y. & Mariana, J., 1993. Ovarian stimulation following repeated injections of LH or LH + FSH in Ile-de-France sheep in early. *Animal Reproduction Science*, pp. 83-98.

- Rekwot, P., Ogwu, D., Oyedipe, E. & Sekoni, V., 2001. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, pp. 157-170.
- Rhodes, L. & Nathanielsz, P. W., 1988. COMPARISON OF A CONTROLLED INTERNAL DRUG RELEASE DEVICE CONTAINING PROGESTERONE WITH INTRAVAGINAL MEDROXYPROGESTERONE SPONGES FOR ESTRUS SYNCHRONIZATION IN EWES. *THERIOGENOLOGY*, pp. 831-836.
- Rosa, H. & Bryant, M., 2003. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research*, p. 155-171.
- Rubianes, E., Menchaca, A. & Carbajal, B., 2003. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 alpha. *Animal Reproduction Science*, p. 47-55.
- Sargison, N., Crilly, J. P. & Andrew, H., 2018. *Practical Lambing and Lamb Care Fourth Edition*. UK: John Wiley & Sons, Inc..
- Smith, J. y otros, 1988. Seasonal changes in oestrus, ovulation and conception of Coopworth ewes treated with CIDRs and PMSG. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, pp. 99-102.
- Suarez, G., Zunino, P., Carol, H. & Ungerfeld, R., 2006. Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, pp. 39-43.
- Ungerfeld, R. & Rubianes, E., 1999. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science*, pp. 349-353.
- Ungerfeld, R. & Rubianes, E., 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, pp. 63-66.
- Viguié, C. y otros, 1997. Characterization of the Short Day-Induced Decrease in Median Eminence Tyrosine Hydroxylase Activity in the Ewe: Temporal Relationship to the Changes in Luteinizing Hormone and Prolactin Secretion and Short Day-Like Effect of Melatonin. *Endocrinology*, pp. 499-506.
- Vilariño, M., Rubianes, E. & Menchaca, A., 2013. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, pp. 206-210.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G. & Rubianes, E., 2001. EFFECT OF LONG-TERM AND SHORT-TERM PROGESTAGEN TREATMENT ON FOLLICULAR DEVELOPMENT AND PREGNANCY RATE IN CYCLIC EWES. *Theriogenology*, pp. 993-1004.
- Viñoles, C., Meikle, A., Forsberg, M. & Rubianes, E., 1999. THE EFFECT OF SUBLUTEAL LEVELS OF EXOGENOUS PROGESTERONE ON FOLLICULAR DYNAMICS AND ENDOCRINE PATTERNS DURING THE EARLY LUTEAL PHASE OF THE EWE. *theriogenology*, pp. 1351-1361.

Wheaton, J. E., Windels, . H. F. & Johnston, L. J., 1992. Accelerated Lambing Using Exogenous Progesterone and the Ram Effec. *journal of animal science*, pp. 2628-2635.

Williams, L. M. & Helliwell, . R. J., 1993 . Melatonin and seasonality in the sheep. *Animal Reproduction Science*, pp. 159-182 .