

2es



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACION DE LA FERTILIDAD DE OVEJAS
INDUCIDAS A OVULAR EN ANESTRO ESTACIONAL
INSEMINADAS INTRAUTERINAMENTE O
POR MONTA NATURAL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

JOSE RAMON MIER FERREIRA

**ASESORES: MVZ. MPA. JUAN ALBERTO BALCAZAR SANCHEZ
MVZ. ANTONIO ORTIZ HERNANDEZ
MVZ. MPA. VICENTE OCTAVIO MEJIA VILLANUEVA
MVZ. ROSA BERTA ANGULO MEJORADA**



México, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EVALUACION DE LA FERTILIDAD DE OVEJAS
INDUCIDAS A OVULAR EN ANESTRO ESTACIONAL
INSEMINADAS INTRAUTERINAMENTE O POR MONTA NATURAL**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la

Universidad Nacional Autónoma de México

Para la obtención del título de

Médico Veterinario Zootecnista

Por

JOSE RAMON MIER FERREIRA

**ASESORES: MVZ. MPA. JUAN ALBERTO BALCAZAR SANCHEZ
MVZ. ANTONIO ORTIZ HERNANDEZ
MVZ. MPA. VICENTE OCTAVIO MEJIA VILLANUEVA
MVZ. ROSA BERTA ANGULO MEJORADA**

México, D. F.
1995

DEDICATORIA

A MI ESPOSA:

MARU: Por haberme apoyado durante mi formación como Médico Veterinario e impulsarme a seguir adelante.
Por tu amor y comprensión tanto en los buenos como en los malos momentos por los que hemos pasado juntos.
Por compartir tu vida conmigo. Espero que disfrutes este logro tanto como yo.

A MI HIJO:

JOSE-RRR (PEPINO): Por la felicidad de tenerte aquí. Por que eres el sol que ilumina mi vida con TU sonrisa.
Por ser la estrella brillante que alegra mi vida, por ser mi orgullo.

A MI PADRE:

JOSE RAMON: (q.e.p.d.) Aunque la vida no permitió que estemos juntos en este momento, este homenaje es para tí donde quiera que estés.

A MI MADRE:

VINDI: Que con tu ejemplo y amor has forjado mi personalidad. Tu fortaleza me ha ayudado a superar todos los obstáculos.
Gracias por haber sacrificado una buena parte de tu vida para que yo pudiera ser lo que soy y por permitir que yo escogiera mi camino.

DEDICATORIA

A MI ESPOSA:

MARU: Por haberme apoyado durante mi formación como Médico Veterinario e impulsarme a seguir adelante.
Por tu amor y comprensión tanto en los buenos como en los malos momentos por los que hemos pasado juntos.
Por compartir tu vida conmigo. Espero que disfrutes este logro tanto como yo.

A MI HIJO:

JOSE-ERRA (PEPINO): Por la felicidad de tenerte aquí. Por que eres el sol que ilumina mi vida con TU sonrisa.
Por ser la estrella brillante que alegra mi vida, por ser mi orgullo.

A MI PADRE:

JOSE RAMON: (q.e.p.d.) Aunque la vida no permitió que estemos juntos en este momento, este homenaje es para tí donde quiera que estés.

A MI MADRE:

VINDI: Que con tu ejemplo y amor has forjado mi personalidad. Tu fortaleza me ha ayudado a superar todos los obstaculos.
Gracias por haber sacrificado una buena parte de tu vida para que yo pudiera ser lo que soy y por permitir que yo escogiera mi camino.

A MI HERMANA:

MARY CARMEN: Por aquellos momentos que pasamos tan felices y por tu gran ayuda en todo momento.

A MI HERMANO:

PEDRO: Esperando que este trabajo sea un estímulo más para que logres tus metas.

A MIS SUEGROS:

GONZALO Y JULIETA: Por el cariño y la amistad que me han brindado en todos los momentos importantes de mi carrera.

A PATY, IVONNE y JAQUELINE: Porque su amistad, confianza y cariño significan mucho para mi.

A LA FAMILIA ESPINOSA--DE LA TORRE: Por el apoyo, cariño y solidaridad que siempre me han demostrado.

A LA FAMILIA ESPINOSA--CALVO: Por su amistad y cariño, por sus consejos y sus palabras de aliento.

**A LA FAMILIA BARRO--PEREZ Y
A LA FAMILIA ZENDEJAS--RUIZ:** Por sus
consejos y su amistad de toda
la vida, porque quizá sin
saberlo me alentaron a seguir
adelante en esta carrera.

A MIS AMIGOS:

**EMILIO, ISMAEL, TINO, RAYMUNDO,
NETO, QUIQUE:** Por su entrañable
amistad, por el tiempo y los
buenos momentos que alguna vez
compartimos juntos.

A CAIFANA, MEMO Y SATO: Porque gracias a su
nobleza permiten que comprenda
mejor a la gente que me rodea.

A DIOS: Porque gracias a la Fé que tengo
en él he podido llegar donde estoy.

AGRADECIMIENTOS

A BETO Y OCTAVIO: Porque sin sus consejos y ayuda desinteresada no hubiera podido dar este gran salto.

AL DR. LUIS ZARCO: Por toda la ayuda y el apoyo incondicional que siempre me ha brindado durante mi formación profesional y por su invaluable amistad.

AL DR. JAVIER VALENCIA: Por sus atinados consejos, por su amistad y enseñanzas.

A MIS ASESORES: MVZ. MPA. Juan Alberto Balcázar Sánchez, MVZ. Antonio Ortiz Hernández, MVZ. MPA. Vicente Octavio Mejía Villanueva y MVZ. Rosa Berta Angulo Mejorada, por la amistad, apoyo que me brindaron, así como los consejos que me dieron para la realización de este trabajo.

A MI JURADO: Porque todas las aportaciones que hicieron fueron de gran utilidad para la publicación de este trabajo.

A VERO, CARO, CHEPO, ISRA, BETO Y OCTAVIO: Por su gran amistad y compañerismo. Por estar siempre dispuestos a ayudarme con mi trabajo de tesis.

A TODOS LOS MIEMBROS DEL DEPARTAMENTO DE REPRODUCCION.: Dr. Luis Zarco, Dr. Javier Valencia, Octavio, Beto, Carolina, Chepo, Verónica Caballero, Israel, Dr. Antonio Porras, Adriana, Joel, Dra. Rosa Páramo, Carlos Esquivel, Dr. Salvador Romo, Mariana Bernal, Susana Rojas, Clara Murcia, Miriam Boeta, Juan Zárate, Max, Julio, Pancho Quintero, Javier y Araminta. Ya que de todos ustedes aprendí algo útil para mi formación profesional y para mi vida personal.

A TODO EL EQUIPO DE TRABAJO DEL CEIEPO: Por todo el tiempo que dedicaron y las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

A LA FMVZ: Por haberme dado la oportunidad de ser un profesionista.

A LABORATORIOS INTERVET DE MEXICO: Por haber apoyado este trabajo de investigación mediante la donación de las esponjas intravaginales con acetato de fluorogestona (Chronogest) y la gonadotropina corionica equina (eCG = PMSG) (Folligon).

A LAS OVEJAS: Porque sin su ayuda y cooperación no se hubiera podido realizar este trabajo.

CONTENIDO

Página

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCION.....	2
II. REVISION DE LITERATURA.....	5
2.1 Anestro.....	5
2.2 Fotoperiodo.....	7
2.3 Inducción del Estro.....	8
2.4 Inseminación Artificial.....	11
2.4.1 Colección del semen.....	11
2.4.2 Evaluación del semen.....	12
2.4.2.1 Color del semen.....	12
2.4.2.2 Volumen del semen.....	12
2.4.2.3 Motilidad del semen.....	13
2.4.2.4 Concentración de los espermatozoides.....	13
2.4.2.5 Morfología de los espermatozoides.....	14
2.4.3 Dilución del semen.....	14
2.4.4 Congelación del semen.....	15
2.4.5 Métodos de inseminación artificial.....	15
III. MATERIAL Y METODOS.....	18
3.1 Localización.....	18
3.2 Animales Experimentales.....	18
3.3 Colección y Almacenamiento del Semen.....	19
3.4 Tratamiento y Manejo de las Ovejas.....	20
3.4.1 Inseminación artificial.....	20
3.4.2 Monta natural.....	22
3.5 Obtención y Manejo de Muestras Sanguíneas.....	22
3.6 Análisis Estadístico.....	23
IV. RESULTADOS.....	24
4.1 Porcentaje de Inducción de Estros.....	24
4.2 Porcentaje de Fertilidad.....	25
4.3 Tiempo de Respuesta a la Inducción de Estros.....	26
V. DISCUSION.....	27
5.1 Respuesta a la Inducción de Estros.....	27
5.2 Porcentaje de Fertilidad.....	27
5.3 Tono Uterino.....	29
VI. CONCLUSIONES.....	31
VII LITERATURA CITADA.....	32

RESUMEN

Mier Ferreira José Ramón. **"Evaluación de la fertilidad de ovejas inducidas a ovular en anestro estacional inseminadas intrauterinamente con semen congelado o por monta natural"**. (Bajo la dirección de los: MVZ. MPA. Juan Alberto Balcázar Sánchez, MVZ. Antonio Ortiz Hernández, MVZ. MPA. Vicente Octavio Mejía Villanueva y MVZ. Rosa Berta Angulo Mejorada).

El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la fertilidad de ovejas inducidas a ovular en anestro estacional inseminadas intrauterinamente con semen congelado o por monta natural. El experimento se realizó en el mes de Junio cuando las ovejas se encontraban en la época de anestro estacional. Se utilizaron 28 ovejas de la raza Suffolk y 20 de la raza Rambouillet. Todas las ovejas se indujeron a ovular con un tratamiento de esponjas vaginales con 40 mg de acetato de fluorogestona por 12 días, al término de los cuales se les aplicó por inyección intramuscular 200 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG). La detección de celos se realizó dos veces por día a partir de las 24 horas posteriores al retiro de las esponjas. El 85.4 % (41/48) de las ovejas presentaron estro en los 3 días siguientes de haberse retirado el tratamiento. Se formaron dos grupos (n=24 c/u), las ovejas del grupo I que presentaron celo (20/24) fueron inseminadas intrauterinamente por laparoscopia con semen congelado en pellets (100×10^6 de espermatozoides) a las 24 horas de iniciado el estro, mientras que a las del grupo II (21/24) se les dió monta natural, también a las 24 horas de iniciado el celo. La fertilidad de las ovejas inseminadas intrauterinamente fue del 35 % (7/20), mientras que la del grupo de monta dirigida fue del 19 % (4/21). El utilizar un tratamiento combinado de esponjas vaginales impregnadas con 40 mg de acetato de fluorogestona (FGA) además de la aplicación de 200 U.I. de gonadotropina coriónica equina (eCG) en el último día del tratamiento es efectivo para la inducción del estro en ovejas durante la época de anestro estacional. En este trabajo no existió diferencia estadística ($P > 0.05$) entre el número de ovejas gestadas por inseminación artificial intrauterina por laparoscopia con semen congelado y las servidas por monta natural, lo que demuestra que es posible obtener porcentajes similares de fertilidad al realizar la inseminación artificial intrauterina por laparoscopia con semen congelado que los obtenidos por monta natural, en ovejas inducidas a ovular en anestro estacional.

I.- INTRODUCCION

La oveja desde el punto de vista reproductivo está considerada como poliéstrica estacional, con una estación de anestro con duración de 4 a 7 meses, dependiendo principalmente del fotoperíodo, así como de la raza, estado nutricional, clima y localización geográfica (72, 80, 113).

El anestro es un estado de completa inactividad sexual donde no hay manifestaciones de estro. El anestro en la borrega generalmente no es patológico, sino que ocurre durante ciertos estados fisiológicos, como son la etapa prepuberal, la gestación, la lactación y la estación no reproductiva (81, 95). Sin embargo, la actividad sexual puede ser inducida aún fuera de la estación reproductiva (42). Para ello las técnicas hormonales se presentan como métodos casi indispensables para aumentar la eficiencia reproductiva, ofreciendo grandes ventajas como son la inducción del estro y la ovulación. La inducción del estro permite inseminar a las ovejas artificialmente o darles monta natural, obteniendo con ello un mayor número de corderos por oveja al año. La inducción permite también reducir al menos en un mes o dos los días abiertos (20, 29, 51, 52, 72, 76, 95, 111).

Para reducir el período de anestro estacional se ha utilizado el tratamiento de progestágenos solos o combinados con gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG), actualmente conocida como gonadotropina coriónica equina (eCG) (3, 28, 30, 112).

Es sabido que la aplicación de eCG estimula por sí sola a los folículos ováricos y con ello incrementa la producción de estradiol e induce la aparición del pico preovulatorio de LH en las ovejas anéstricas (42).

Aunque el uso de eCG sola durante el anestro generalmente resulta en la presencia de estro y ovulación, el cuerpo lúteo que se forma después de la ovulación tiene una función deficiente por lo que no es capaz de soportar una gestación (77, 79).

Por esta razón, los tratamientos con eCG deben ser combinados con progestágenos sintéticos o con progesterona natural para la presentación de un adecuado comportamiento estral y de una función lútea normal (42, 99).

Sin embargo, la respuesta ovulatoria, así como el intervalo desde la finalización del tratamiento con progestágenos hasta el inicio del estro son variables y están influenciados por la raza y edad de las ovejas, así como por la cantidad y tipo del progestágeno administrado (120).

Con anterioridad se ha demostrado que cuando se utiliza cualquier tipo de progestágeno por más de 10 días, la fertilidad en el primer estro se ve reducida (53, 75, 116). Esto se ha asociado en parte, al reducido número de espermatozoides que llegan al oviducto como consecuencia de la disminución en el número de contracciones uterinas hacia el oviducto y al incremento en el número de movimientos hacia el cérvix, lo que provoca fallas en el transporte espermático (73, 108), y probablemente tiene un efecto detrimental sobre el desarrollo embrionario originando mortalidad embrionaria tardía (45).

Para obtener buenos niveles de fertilidad comparables a los obtenidos en aquellos sistemas donde el macho tiene acceso irrestricto a las hembras en estro, se han desarrollado técnicas como la inseminación artificial, la cual deberá efectuarse bajo estrictas condiciones de tiempo, sitio de colocación del semen, calidad y cantidad de éste (22, 47).

A pesar de que la inseminación artificial se ha utilizado desde 1907, en ovinos ha tenido su mayor auge en los últimos 25 años (36), realizándose principalmente por vía transcervical o intrauterina (46, 48).

La inseminación artificial intrauterina ha dado resultados favorables con el uso de semen congelado, ya que evita la barrera cervical, y las tasas de concepción son comparables con las de un servicio natural u otras formas de inseminación con semen fresco (47, 105).

En las primeras inseminaciones intrauterinas que se realizaron en ovejas se exponía el útero por medio de laparotomía media ventral, depositando el semen directamente en los

cuernos uterinos y oviducto, logrando una alta fertilidad pero también alta mortalidad embrionaria atribuida a traumatismos uterinos ocurridos durante la intervención quirúrgica (94).

Posteriormente se desarrolló una técnica para depositar el semen intrauterinamente visualizando el útero por medio de un laparoscopio. De esta manera se evita realizar una intervención quirúrgica tan traumática, eliminando el estrés que se presenta por una cirugía mayor. Esto soluciona también el problema de baja fertilidad que se obtiene al realizar la inseminación transcervicalmente con semen congelado (89).

Trabajos recientes han confirmado que la inseminación laparoscópica intrauterina con semen congelado es tan efectiva como la inseminación con semen fresco (30, 41, 48, 50) o como la monta dirigida al primer estro postsincronización, esto tanto en ovejas que presentan celo de manera natural como en aquellas con celo inducido (6, 46, 104). Por lo que el objetivo del presente trabajo es el de evaluar la fertilidad de ovejas inducidas a ovular en anestro estacional inseminadas intrauterinamente con semen congelado o por monta natural.

II.- REVISION DE LITERATURA

2.1.- Anestro

Las ovejas tienen una estación de actividad reproductiva corta, lo que limita su productividad. La actividad reproductiva está influenciada por la cantidad de horas luz (fotoperíodo), ya que la capacidad ovulatoria se inicia solamente cuando la cantidad de horas luz disminuye, lo cual ocurre durante el otoño y el invierno (57, 58).

En la oveja, la actividad cíclica del ovario está regulada por las gonadotropinas hipofisarias (hormonas folículo estimulante o FSH y luteinizante o LH) y éstas a su vez están reguladas por mecanismos de retroalimentación hormonal en los que intervienen los ovarios y el eje hipotálamo-hipofisario (83). En ovinos, como en otras especies, el hipotálamo es el órgano que limita la actividad reproductiva en el período que antecede al primer estro (57).

Durante este período, la hipófisis limita la secreción de gonadotropinas (FSH y LH) lo que a nivel ovárico se transforma en un limitado desarrollo folicular, además estos folículos producen pequeñas cantidades de estradiol, estableciéndose así un patrón de retroalimentación negativa, la cual ocasiona que el hipotálamo inhiba la secreción del factor liberador de las gonadotropinas (GnRH) (55, 82). De esta manera, los mecanismos de retroalimentación positiva del estradiol sobre la liberación preovulatoria de LH no funcionan durante esta etapa (54).

Poco antes del primer estro aumenta la liberación de gonadotropinas (FSH y LH) debido a un aumento tanto en la amplitud como en la frecuencia de los pulsos de secreción de estas hormonas (66), lo que estimula el desarrollo folicular en el ovario, y en consecuencia causa un incremento en la producción y liberación de hormonas esteroides, incluido el estradiol, las que a su vez inducen el pico preovulatorio de LH (90, 136).

Al iniciarse el estro, el centro de control tónico de LH en el hipotálamo se vuelve refractario a la acción de la retroalimentación negativa de los estrógenos, lo que ocasiona un aumento en la liberación de los pulsos de LH (12, 26, 55).

Algunos autores, mencionan que este aumento en la frecuencia de secreción de LH provoca a su vez un aumento en la liberación de estradiol a partir de los folículos ováricos. Cuando los niveles séricos de estrógenos alcanzan niveles relativamente altos, el área preóptica del hipotálamo es estimulada y responde con una gran liberación de GnRH, que resulta en el pico preovulatorio de LH (retroalimentación positiva), lo que induce la primera ovulación después del anestro (55, 90).

Para que en la oveja ocurra la primera ovulación, es necesario que el folículo ovárico se desarrolle a tal grado que produzca una cantidad de estradiol suficientemente alta que desencadene el pico preovulatorio de LH (56, 57, 119).

Para que maduren los folículos preovulatorios deben estar expuestos a progesterona proveniente del cuerpo lúteo de un ciclo previo, permitiendo también que después de ovular el cuerpo lúteo formado sea normal (59).

Cabe mencionar que tanto en corderas como en ovejas adultas, los centros responsables de la expresión de la conducta estral solamente son sensibles a los estrógenos después de una previa sensibilización con progesterona, es por esta razón que la primera ovulación casi nunca es acompañada por signos de estro (98).

Los estrógenos son los responsables del comportamiento estral, otros efectos que tienen son la estimulación en la producción del moco cervical, eritema de la vulva, tono uterino y el crecimiento abundante del epitelio estratificado en la vagina. Estos cambios son indicativos de que las ovejas se encuentran en estro (142).

2.2.- Fotoperíodo

Es conocido que los ovinos responden de manera inversa a la duración de las horas luz, es decir, su actividad reproductiva se incrementa como respuesta al acortamiento de horas luz (37, 38), ya que su estación reproductiva comienza a finales del verano y principios del otoño cuando los días son más cortos.

Se ha demostrado que la variación estacional en la retroalimentación negativa del estradiol es controlada por el fotoperíodo (92). Estas observaciones llevan a la hipótesis de que los cambios en el fotoperíodo controlan el ciclo reproductivo anual de la borrega modulando las acciones inhibitorias del estradiol sobre la secreción tónica de LH (64).

Trabajos recientes han corroborado que el estradiol modifica las células que producen el GnRH (63) e inhibe la frecuencia de los pulsos de GnRH en sangre portal (11) durante el anestro.

En ausencia de progesterona, la secreción pulsátil de LH se eleva y estimula el aumento del estradiol, el cual dispara una oleada de LH y ocurre la primer ovulación de la estación reproductiva (64).

Los estímulos luminosos son captados por los fotorreceptores del animal, los cuales estimulan al eje pineal-hipotálamo-hipófisis-gonadas. La glándula pineal a través de la secreción de melatonina juega un papel importante en este proceso de activación (49, 122).

La información del fotoperíodo es percibida por la retina y transmitida a la glándula pineal en donde es transformada en una señal hormonal. La melatonina, mediante la activación y desactivación de la inhibición del estradiol y las neuronas sensitivas a las catecolaminas, sincronizan el ritmo circanual endógeno por lo que el estradiol suprime la frecuencia del pulso de GnRh y LH en primavera y verano, pero no lo suprimen en otoño ni en invierno (64).

La secreción de melatonina tiene un ritmo circadiano (125) la cual se encuentra influenciada de dos maneras por el fotoperíodo: I) El ritmo es sincronizado por el ciclo luz-obscuridad (4, 13, 85, 125), y II) La liberación de melatonina es inhibida directamente por la

luz (43, 125, 126). La secreción de melatonina se incrementa después de iniciado el período de oscuridad y sus niveles permanecen elevados hasta el comienzo de la fase de luz (64).

2.3.- Inducción del Estro

Un recurso para superar la limitante de la productividad en los ovinos es inducir artificialmente la actividad ovárica durante la época de anestro estacional (120).

La inducción de la actividad ovárica consiste en activar la función hipofisiaria que durante la época de anestro se encuentra disminuida en lo que a actividad sexual se refiere (24).

La posibilidad de inducir el estro y la ovulación ofrece la oportunidad de aumentar la eficiencia productiva al reducir los períodos de inactividad reproductiva y posibilitar la ocurrencia de tres partos cada dos años o dos partos por año (17, 120).

Existen varios métodos, naturales y artificiales, para inducir el estro en la oveja fuera de la época reproductiva normal. Las manipulaciones no hormonales del estro incluyen la regulación del fotoperíodo y el efecto macho (34, 70, 86), mientras que el control hormonal puede ser conseguido de dos maneras diferentes: por medio de gonadotropinas solas o por medio de gonadotropinas combinadas con progesterona o progestágenos.

El método que ha demostrado mayor efectividad consiste en la simulación de la fase lútea del ciclo estral utilizando progesterona natural o progestágenos sintéticos (10, 16, 29, 60, 120).

En la borrega se han utilizado gran variedad de progestágenos, entre los cuales se mencionan los implantes de norgestomet, acetato de medroxiprogesterona (MAP), acetato de clornadinona (CAP), acetato de melengestrol (MGA) y el más utilizado actualmente, el acetato de fluorogestona (FGA) (1, 10, 25, 32, 33, 60, 71, 74, 84, 95, 115, 119, 120, 130).

La aplicación de la progesterona o de los progestágenos se ha hecho por vía oral, intramuscular, implantes de silicón o mediante esponjas que se colocan por vía intravaginal,

siendo este último el más eficaz al asegurar una absorción regular en el curso del tratamiento (31, 120, 130, 137), además de reducirse el manejo de los animales.

Existe además ahora un dispositivo intravaginal (CIDR) que consta de un elastómero médico que contiene 9 % de progesterona amoldada sobre un núcleo de nylon (47, 106, 132). La única ventaja que representa sobre la esponja es que se elimina la descarga vaginal y el olor desagradable al momento de retirarlo (106). Así mismo, existen en el mercado implantes subcutáneos de 6 mg de norgestomet, los cuales se pueden colocar en la base de la oreja o de la cola (44).

Los progestágenos sintéticos utilizados en esponjas vaginales son el acetato de fluorogestona (FGA), las cuales vienen en presentación de 30 y 40 mg y la acetil medroxiprogesterona (MAP) que viene en presentación de 60 mg. También existen en el mercado progestágenos orales como son el acetato de clormadinona (CAP) y el acetato de melengestrol (MGA) (120).

La manera en que un progestágeno actúa para inducir la ovulación es por un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo, lo que impide la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (60, 120). Este efecto provoca que en la hipófisis no se liberen gonadotropinas (LH y FSH), por lo que no se desarrollan folículos preovulatorios ni se presentan estros ni ovulaciones (120). Al suspenderse el tratamiento disminuyen los niveles sanguíneos del progestágeno, por lo que el hipotálamo se desinhibe liberando GnRH, ocasionando que a nivel hipofisiario se liberen las gonadotropinas y a nivel ovárico se desarrollen folículos y se produzca la primer ovulación (27, 60, 119). En la mayoría de las hembras el estro sincronizado se presenta en promedio a las 48 horas después de finalizado el tratamiento (80).

El acetato de fluorogestona es un progestágeno que se ha utilizado comúnmente para la inducción de estros en borregas. La utilización de este esteroide ha podido adaptarse a los inconvenientes fisiológicos de las hembras y a los diferentes sistemas de producción (17).

Existen algunos trabajos en los cuales se han utilizado esponjas intravaginales impregnadas con FGA durante 14 días, aplicando el tratamiento durante los meses de abril, julio y octubre, obteniéndose casi el 100 % de borregas en calor (118).

Una desventaja de los progestágenos es que su utilización por más de 10 días resulta en una baja de la fertilidad del estro inducido, debido a que el ambiente uterino difiere de lo normal y el transporte y la supervivencia de los espermatozoides esta alterado (30, 60, 62, 120).

Además, las tasas de concepción generalmente son más bajas en las ovejas tratadas durante el anestro estacional, que durante la época reproductiva (88, 96).

Se ha observado que el porcentaje de concepción es mayor al aplicar gonadotropina coriónica equina (eCG) al momento de retirar el tratamiento con el progestágeno (30, 120).

Aunque la inducción se puede conseguir sin la eCG, la inyección de esta hormona en la oveja bajo condiciones de inactividad reproductiva (prepúberes, lactantes y en anestro estacional) estimula el desarrollo de los folículos ováricos y con ello se incrementa la producción de estradiol e induce la aparición del pico preovulatorio de LH (42, 77, 78), por lo que su uso favorece una mayor presentación de calores y hace más probable que se presente la ovulación, requisito indispensable para que las borregas queden gestantes (30, 60, 120).

La dosis de eCG será aquella que estimulando el celo y la ovulación no produzca superovulación (8), esta dosis requerida está relacionada con la época del año en la que se administra el tratamiento, la raza de la oveja y la tasa de ovulación.

Un método muy utilizado para inducir la ovulación en ovejas anéstricas, es el de administrar un progestágeno por 9 a 16 días, seguido de la administración de eCG de 0 a 36 horas después de retirado el progestágeno (84, 96), de tal manera que las ovejas puedan comenzar a exhibir el estro a las 24-36 horas después de retirar el progestágeno. Todas las ovejas pueden presentar estro durante las primeras 60 horas postratamiento (88).

Durante el anestro estacional, un segundo ciclo puede ser inducido por inyección intramuscular de eCG 16 días después de que se retiraron los progestágenos. Esta inyección no afecta la preñez en la oveja (88).

Existe un experimento donde un grupo de borregas fue tratado con 30 mg de FGA durante 14 días y al final del tratamiento se les aplicó una dosis de 400 U.I. de eCG, obteniéndose como resultado un porcentaje del 73.3 % de borregas que entraron en calor (141).

En otro trabajo realizó con ovejas en época no reproductiva, se utilizaron esponjas intravaginales impregnadas con FGA para la inducción del celo y al momento de retirar el tratamiento se les aplicó eCG logrando una fertilidad del 51 %, afirmando con esto que los resultados obtenidos son comercialmente aceptables durante la época de anestro estacional (133).

2.4.- Inseminación Artificial

La inseminación artificial (IA) en ovinos es una alternativa para utilizar al máximo el potencial genético de los machos, además de tener otras ventajas como el optimizar el uso de sementales y controlar enfermedades contagiosas en los rebaños (35, 68, 123).

Una de las variables que poco se considera cuando se pretende realizar un programa de inseminación artificial, y que es de suma importancia, es el semental o los sementales que se van a utilizar para este propósito. Antes de iniciar un programa de inseminación artificial es necesario que los machos sean sometidos a una serie de pruebas como son: estado de salud, condición corporal y libido. (138).

2.4.1.- Colección del semen

En ovinos los métodos de colección de semen más utilizados, son la vagina artificial y el electroeyaculador.

De estos dos la vagina artificial es el más adecuado para obtener semen, ya que la calidad del eyaculado es mejor. La vagina artificial está considerada como un método rápido y limpio, además un macho puede colectarse varias veces al día, siendo el eyaculado obtenido de menor volumen pero de mayor concentración espermática (48).

2.4.2.- Evaluación del semen

Esta prueba se hace con el fin de predecir la fertilidad del macho (21). Por eso, una vez que es colectado el semen por cualquier método, antes de utilizarlo en un programa de inseminación artificial, se debe determinar cuidadosamente la cantidad como la calidad del eyaculado, ya que ambos aspectos varían individualmente en cada eyaculado, esto depende de algunos factores tales como la edad, época reproductiva y raza. La cantidad de espermatozoides por eyaculado a su vez depende del volumen y concentración del semen (48, 122).

2.4.2.1.- Color del semen

El color es el primer aspecto que se valora y debe hacerse directamente en el mismo recipiente de colección inmediatamente después de la obtención. El color normal del semen del carnero es blanco lechoso o crema pálido pudiendo variar de un eyaculado a otro, aún siendo este del mismo semental (48).

El evaluar la coloración del semen permite identificar condiciones patológicas en caso de observarse la presencia de pus o sangre en el eyaculado (48).

2.4.2.2.- Volumen del semen

El volumen promedio que se obtiene con vagina artificial es de 1 ml, pero hay rangos de entre 0.7 a 2 ml (85), lo cual puede verse afectado por la edad, época reproductiva, condición del animal, frecuencia de colección y habilidad del operador (48).

2.4.2.3.- Motilidad del semen

Dentro de la evaluación de la motilidad del semen se considera la motilidad en masa y la motilidad progresiva (individual). El movimiento en masa u onda de movimiento se evalúa en una pequeña muestra de semen sin diluir y es característica cuando se observa el semen al microscopio, aunque puede también observarse a simple vista en la copa de colección. La estimación de la motilidad de los espermatozoides se hace sobre la base del vigor o potencia de la onda según si está o no presente dicho movimiento y se valora de 0 a 5 puntos normalmente, correspondiendo el valor de 0 al semen muerto y el 5 al semen de muy buena calidad (90% de los espermatozoides activos) (48, 122). Las muestras con muy buena o buena clasificación (5 y 4) se pueden utilizar para programas de inseminación artificial (48).

Para evaluar la motilidad progresiva del semen ovino es necesario diluirlo con la finalidad de observar a las células espermáticas de manera individualizada. La motilidad progresiva se califica generalmente en porcentaje (0 a 100), correspondiendo los valores más altos a las células que presenten el mayor movimiento progresivo o de avance (48).

2.4.2.4.- Concentración de los espermatozoides

La concentración de espermatozoides es el término que se aplica al número de espermatozoides por unidad de volumen (ml) y de ella depende directamente el grado de dilución (48, 121). La concentración normal del semen de carnero que es de buena calidad es aquel que contiene un promedio de 3.5 a 6 mil millones de espermatozoides por mililitro.

El método del hemocitómetro es el más lento pero más seguro. Se utiliza para cuantificar el número de espermatozoides en una muestra de tamaño definido para luego calcular el total del eyaculado, para ello se utiliza principalmente formalina con el fin de inmovilizar a los espermatozoides para su conteo (48, 121, 122).

2.4.2.5.- Morfología de los espermatozoides

El examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad detallada, aconsejable de realizarla en un programa de inseminación artificial a manera de control. Así, cada eyaculado contiene una proporción de espermatozoides anormales, pero si esta proporción es alta (mayor a 20%), resulta en una disminución de la fertilidad en ese eyaculado. Aquellas muestras de semen con más de 15% de anomalías totales no deberán utilizarse para la inseminación artificial (48, 121).

2.4.3.- Dilución del semen

La dilución del semen se debe realizar por razones de tipo técnico y biológico.

I.- Las razones de tipo técnico para diluir el semen se refieren a que en una monta natural el carnero deposita miles de millones de espermatozoides en la vagina de la oveja, sin embargo de ese gran número sólo unos 100-140 millones atraviesan el cérvix, es por eso que al utilizar la inseminación artificial tanto el volumen de inseminación como el número de espermatozoides que contiene se reducen (48, 121).

II.- Las razones de tipo biológico de la dilución se refieren a aquellas en las que un diluyente que sea apropiado le proporcione a los espermatozoides nutrientes, amortiguadores a los cambios de ph, un ambiente isotónico y que además proteja a los espermatozoides del choque térmico al momento de enfriar y/o congelar el semen (48, 121).

Los glúcidos o azúcares son componentes importantes en la composición de un diluyente ya que pueden actuar como fuente de energía para el espermatozoide durante el almacenamiento como es el caso de la glucosa y de la fructosa (103).

Componentes como la yema de huevo han sido incluidos en la elaboración de diluyentes sintéticos con el fin de proporcionar protección a los espermatozoides contra el choque térmico por frío (103, 143).

2.4.4.- Congelación del semen

Una conservación adecuada del semen permite hacer un uso generalizado de los sementales y la preservación de material genético para su uso futuro. Es por eso que la finalidad que se busca al congelar el semen, es detener o disminuir la motilidad y reacciones metabólicas prolongando así la capacidad de fertilización de los espermatozoides. En lo que se refiere al método de congelación consiste en disminuir la temperatura del semen hasta -196°C mediante la utilización de nitrógeno líquido. La congelación de semen puede hacerse en forma de ampollitas, pellets o pajillas (48, 91, 101, 102, 109, 110, 114, 128, 135).

2.4.5.- Métodos de inseminación artificial

El método tradicional de inseminación artificial (IA) en la borrega es el cervical, en éste se utiliza semen fresco diluido, el cual se deposita en la os externa del cérvix, utilizando una pipeta plástica que se introduce a través de un espéculo vaginal (35, 46, 48, 103, 104, 105, 107). Probablemente este método es la forma más económica y eficiente de utilizar el semen. Sin embargo, la utilización de semen fresco diluido para la IA tiene muchas limitaciones, por lo que desde el punto de vista de mejoramiento genético es mejor utilizar semen congelado aunque los resultados obtenidos en ocasiones no justifican el gasto (47).

Otro método que se ha utilizado es la técnica vaginal, en esta un gran volumen de semen fresco, no diluido se deposita en la vagina utilizando una pipeta plástica, sin intento alguno de localizar el canal cervical. A este tipo de inseminación también se le conoce con el nombre de inseminación "a ciegas" o "disparo en la obscuridad", este es el método más sencillo y rápido, pero requiere de una mayor dosis de semen y los resultados obtenidos son poco predecibles. (47, 48, 103, 105). Generalmente se realiza cuando el tiempo y el dinero son factores limitantes.

Los métodos que utilizan semen recién colectado tienen uso limitado en los carneros que se localizan en un sitio remoto o que no están disponibles al momento del programa de IA. El uso de semen congelado es la única técnica que permite que un semental en particular cubra a un número de hembras en un área geográfica extensa y en corto tiempo (69).

Se ha demostrado que el cérvix constituye una barrera inicial en el ascenso de los espermatozoides y relativamente pocos logran alcanzar el sitio de fertilización (93, 102, 104). Por lo que la fertilidad se ve reducida, siendo esta aún más baja cuando se insemina con semen congelado.

El problema de baja fertilidad al inseminar con semen congelado puede ser superado al depositar el semen directamente en el útero (6, 93, 96, 102, 104). Sin embargo, en la borrega no es factible penetrar el cérvix y depositar el semen en el útero como se realiza en la vaca o en la mayoría de las cabras (35, 40). La estructura anatómica del canal cervical de la borrega dificulta el paso de los instrumentos de IA que se han desarrollado para su uso en otros rumiantes domésticos, ya que contiene una serie de anillos en forma de embudo, y el paso transcervical se encuentra limitado por el segundo y tercer anillo, los cuales son excéntricos al resto del canal (67).

La información existente parece indicar que para obtener niveles de fertilidad aceptables mediante la IA, es necesario colocar el semen en el interior del canal cervical (intracervical), o de preferencia en la cavidad uterina (intrauterina). Este requisito resulta indispensable en la IA con semen congelado (127, 140).

Se han realizado varios métodos de inseminación para superar el problema del paso del semen por el cérvix al utilizar semen congelado. Así, las primeras inseminaciones intrauterinas en ovejas fueron realizadas por Salamon y Lighfoot en 1967 (127) al exponer el útero por medio de laparotomía media ventral y depositar el semen directamente en los cuernos u oviductos (127), ellos lograron un alto porcentaje de fertilidad, pero encontraron alta mortalidad embrionaria y lo atribuyeron a la cirugía (93, 94).

El método de inseminación intrauterina usando un laparoscopio para visualizar el útero fue descrito en 1982 (87) y la técnica fue aplicada oportunamente para solucionar el problema de baja fertilidad que se obtiene al realizar la inseminación cervical con semen congelado (89). A partir de ésto, se ha desarrollado más la técnica confirmando su valor para la inseminación con semen congelado de borregas destinadas para la producción de corderos (7, 89).

Trabajos recientes han confirmado que el uso de esta técnica con semen congelado es tan efectiva como la IA con semen fresco (87, 102, 103, 104, 123), o como la monta natural al primer estro post-sincronización. Más aún, las dosis de semen congelado requeridas son mucho menores que al inseminar con semen fresco por vía cervical (0.1 ml con 40×10^6 espermatozoides por laparoscopia contra 0.2 ml con 200×10^6 espermatozoides por vía cervical) (103, 123).

Para obtener buenos resultados con la técnica de inseminación artificial, esta debe de realizarse lo más cerca posible a la ovulación, pero no coincidiendo con el tiempo medio de la ovulación (107, 129). La duración promedio del estro en las borregas es de 30 horas (24 h-42 h), y la ovulación generalmente ocurre de 25-30 horas después de su presentación. Por lo tanto, en hembras de estro corto la ovulación puede ocurrir al final del estro, pero ocurrirá antes en hembras de estro largo (48).

La eficiencia del transporte espermático en el aparato genital femenino depende del momento del estro en que se insemina a las hembras. La inseminación durante el estro temprano o tardío generalmente resulta en una baja fertilidad, y se ha observado que la mayor fertilidad se obtiene al inseminar a la mitad del estro (46).

Maxwell en 1984 (103), demostró que al inseminar con semen congelado por laparoscopia el tiempo óptimo para la inseminación es de 60-66 horas después de retirar el progestágeno.

III.- MATERIAL Y METODOS

3.1.- Localización

Este trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El centro está ubicado en el km. 53.1 de la carretera federal México-Cuernavaca en el pueblo de Tres Marías, municipio de Huitzilac, Edo. de Morelos, a 2810 metros sobre el nivel del mar, a 19° 03' de latitud norte y 99° 14' de longitud oeste.

El clima de la zona es de tipo Cb (m²) (w) Ig, que corresponde según la clasificación de Koeppen al templado semifrío con un verano fresco y largo, con lluvias en verano y una precipitación pluvial de 1724 mm y temperatura de 12-18°C (61).

3.2.- Animales Experimentales

Se utilizó un total de 48 borregas en anestro, 28 de la raza Suffolk y 20 de la raza Rambouillet. De estas ovejas, 9 de la raza Suffolk se encontraban entre 81 y 98 días postparto y 13 de la raza Rambouillet entre 88 y 126 días postparto. El resto (19 Suffolk y 7 Rambouillet) no quedaron gestantes en la época reproductiva anterior.

Este estudio se realizó durante el mes de junio, cuando las borregas estaban en anestro estacional (120), los animales del experimento se encontraban en un sistema semi-intensivo. Para comprobar el estado de anestro se observaron los calores con la ayuda de machos celadores durante 20 días antes del inicio del experimento (120).

Las borregas fueron inducidas a ciclar utilizando esponjas intravaginales impregnadas con 40 mg de acetato de fluorogestona* (FGA), dichas esponjas son cilindros de poliuretano impregnados con el progestágeno, se colocan intravaginalmente mediante un sencillo aplicador,

* Chrono-gest. Intervet. México, D.F.

que consiste de un cilindro hueco de plástico duro, en el que se introduce la esponja y un émbolo. El aplicador es desinfectado después de cada uso con una solución de cloruro de benzalconio al 10 %.

Las esponjas se dejaron durante 12 días, al término de los cuales se retiraron, aplicándose en ese momento 200 U.I. de eCG* por inyección intramuscular.

La observación de los animales para detectar estros se realizó dos veces al día (7:00 A.M. y 17:00 P.M.) comenzando 24 horas después de la aplicación de la eCG. Se utilizaron machos celadores provistos de mandil.

Para el presente experimento se consideró como día cero del ciclo estral el día en que las ovejas fueron detectadas en calor por primera vez.

El grupo I estuvo integrado por 14 ovejas Suffolk y 10 ovejas Rambouillet las cuales se inseminaron directamente en el lumen uterino utilizando la técnica de laparoscopia.

El grupo II constó de 14 ovejas Suffolk y 10 ovejas Rambouillet a las cuales se les dió monta natural.

Las montas y las inseminaciones se realizaron 24 horas después de la detección del estro postratamiento.

3.3.- Colección y Almacenamiento del Semen

Se utilizó un carnero de la raza Suffolk, del cual, previa evaluación, se obtuvieron dos eyaculados por medio de vagina artificial.

El semen fue congelado por el método de pellets descrito por Lighfoot y Salamon (94) modificado por Brito *et al.* (19) al inactivar la yema de huevo a 56° C por un tiempo de 30 minutos; de tal manera que cada pellet tuviera un volumen de 0.1 ml y una concentración espermática de 100×10^6 .

La descongelación se llevó a cabo en un vial estéril con 0.15 ml de solución salina

* Folligon. Intervet. México, D.F.

fisiológica a 37 °C. Posteriormente se introdujo el semen en una pajilla de 0.25 ml, para su aplicación.

3.4.- Tratamiento y Manejo de las Ovejas

3.4.1.- Inseminación artificial

Las ovejas del grupo I de inseminación artificial intrauterina fueron dietadas 24 horas antes de ser inseminadas.

Para la inseminación intrauterina las ovejas fueron puestas bajo anestesia general. La anestesia fue inducida utilizando hidrocloreuro de xilacina al 2% (0.01 g/Kg de peso vivo) y ketamina base (2 mg/Kg de peso vivo). Fueron colocadas en decúbito dorsal con la cabeza hacia abajo en una cama para laparoscopia en un ángulo de 45° con respecto a la horizontal. Se rasuró y desinfectó con cloruro de benzalconio un área de aproximadamente 20 cm² anterior a la ubre. La piel se incidió a 3 cm a cada lado de la línea media, aproximadamente 10 cm adelante de la ubre para permitir la entrada de los trócares con cánula.

Se utilizó un laparoscopio operatorio de 30 cm de longitud y 10 mm de diámetro (117, 131). Este se introdujo a la cavidad abdominal a través de un trocar con cánula.

Se utilizó una fuente de luz fría que transmite la luz a través de una fibra óptica flexible de 100 cm de largo por 4 mm de diámetro (7, 117, 131).

Posteriormente se introdujo un manipulador para laparoscopia a través de otro trocar. Después de insuflar el abdomen con aire, se visualizó el útero.

Se realizó una tercera incisión en la línea media, 12 a 15 cm adelante de la ubre por donde se introdujo a través de una cánula la pipeta de inseminación.

Antes de realizar la inseminación intrauterina se observó la vascularización y coloración del útero por medio del laparoscopio, aunque estas apreciaciones son subjetivas, se clasificó al útero en tres tipos:

A) Amarillento.- Cuando la capa más externa del útero estaba poco vascularizada, por lo que presentaba este color. B) Rosado.- Cuando la vascularización de la capa externa era moderada y el color aparente observado era rosa claro. C) Rojizo.- Se observó una gran cantidad de vasos sanguíneos lo cual le daba al útero una coloración rojo intenso. Así mismo, el tono uterino se evaluó mediante la manipulación y la punción del útero con la pipeta de inseminación artificial intrauterina y se clasificó en: I) Con Tono.- El útero se apreció redondeado, turgente y liso, al presionarlo con el manipulador recuperaba rápidamente su forma original y al picarlo con la aguja de la pipeta de inseminación artificial intrauterina, ésta penetraba sin ninguna resistencia la pared uterina. II) Sin Tono.- El útero se observó flácido, en algunos casos con petequias y al presionarlo con el manipulador, permaneció con la marca de hundimiento en el lugar donde se le aplicó la presión; al momento de realizar la inseminación artificial, la aguja de la pipeta no pudo penetrar adecuadamente al lumen del cuerno uterino, ya que la pared uterina se arrugaba y se desplazaba hacia uno u otro lado.

Una vez descongelado el semen, se evaluó la motilidad progresiva, cuando ésta fue de 50 % o mayor el semen se introdujo en una pajilla de 0.25 ml.

Para la inseminación se utilizaron pipetas desechables para inseminación artificial intrauterina, en las cuales se introdujo la pajilla de 0.25 ml conteniendo el semen descongelado y este fue impulsado con una pistola de inseminación intrauterina (48).

Los pasos para la inseminación intrauterina por laparoscopia fueron similares a los descritos por Evans y Maxwell en 1990 (48). Las pipetas fueron introducidas bajo visualización laparoscópica hasta penetrar el cuerno uterino, depositando la mitad de la dosis dentro de cada cuerno.

Para comprobar que la aguja se encontraba dentro del lumen uterino se corroboró su libre movimiento y se observó por medio del laparoscopio el desplazamiento del estilote dentro de la pajilla expulsando así el semen. También se verificó que no se formara una protuberancia en el punto de entrada o sobre la pared uterina, lo que indicaría que el semen no se depositó en la luz del útero. Este procedimiento se repitió en el otro cuerno uterino.

Cada cuerno uterino recibió media pajilla, lo que equivale a 0.125 ml de semen con 50×10^6 de espermatozoides, dando un total de 0.25 ml con 100×10^6 de espermatozoides por borrega.

Posteriormente se procedió a suturar las incisiones realizadas utilizando suturas absorbibles (catgut) en la pared abdominal y no absorbibles (nylon) en piel (97).

3.4.2.- Monta natural

Las borregas del grupo II recibieron monta natural una sola vez a las 24 horas después de detectado el celo.

3.5.- Obtención y Manejo de Muestras Sanguíneas

En el día 19 posterior a la inseminación o monta se les tomó una muestra de sangre para determinar los niveles plasmáticos de progesterona.

Se realizó la toma de muestras sanguíneas de todas las borregas en tubos heparinizados y al vacío, mediante punción yugular. Las muestras se llevaron al laboratorio donde se centrifugaron a 3,500 rpm durante 15 minutos para separar el plasma. El plasma obtenido se congeló inmediatamente a -20°C y permaneció así hasta que fue procesado para la determinación de progesterona, mediante el método de radioinmunoanálisis en fase sólida validado para ovinos (120, 134).

Se consideró una hembra como gestante cuando las concentraciones de progesterona fueron mayores o iguales a 1 ng/ml y no gestante con concentraciones menores a 1 ng/ml (50).

En el día 30 posterior a la inseminación artificial o a la monta natural, se realizó un primer diagnóstico de gestación mediante ultrasonografía de tiempo real, confirmando dicho diagnóstico al día 45 de gestación con una segunda ultrasonografía, observando la presencia de la vesícula embrionaria, de placentomas o del producto (18). Se utilizó un equipo de ultrasonido de tiempo real, Tokyo Keiki LS-1000 con transductor de arreglo lineal de 5 MHz.

3.6.- Análisis Estadístico

Se comparó el porcentaje de ovejas de cada uno de los grupos que respondieron a la inducción de la ovulación mediante una prueba de homogeneidad (χ^2 -cuadrada). De la misma manera se comparó el porcentaje de fertilidad entre los 2 grupos (139).

Para calcular los porcentajes de fertilidad se consideró el diagnóstico de gestación mediante ultrasonografía realizado al día 30 posterior a la monta o inseminación y confirmado el día 45 de la gestación.

IV.- RESULTADOS

4.1.- Porcentaje de Inducción de Estros

De las 48 ovejas que se indujeron, el 85.4 % (41/48) respondieron al tratamiento. Del grupo de inseminación intrauterina el 83.3 % (20/24) presentaron calor, mientras que del grupo de monta natural el 87.5 % (21/24) entraron en celo. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en el porcentaje de ovejas que respondieron favorablemente a la inducción entre grupos (cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de ovejas que respondieron a la inducción del estro con progestágenos.

TIPO DE SERVICIO	INDUCIDAS %	NO INDUCIDAS %
MONTA (n=24)	87.5a	12.5
IAI (n=24)	83.3a	16.7
TOTAL (n=48)	85.4	14.6

a, Valores de columna que comparten la misma literal no son diferentes estadísticamente ($P > 0.05$).
IAI.- Inseminación artificial intrauterina.

4.2.- Porcentaje de Fertilidad

El porcentaje de fertilidad considerando las ovejas que quedaron gestantes mediante el diagnóstico de gestación por ultrasonido de imagen a los 45 días en los dos grupos fue del 26.8. La fertilidad de las ovejas inseminadas intrauterinamente fue del 35 % (7/20), mientras que en el grupo de monta natural fue del 19 % (4/21), por lo que no se encontraron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) (cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de fertilidad de las ovejas que presentaron estro inseminadas intrauterinamente o por monta natural.

TIPO DE SERVICIO	GESTANTES	NO GESTANTES
MONTA %	19a	81
IAI %	35a	65
TOTAL %	26.8	73.2

a. Valores de columna con la misma literal no son diferentes estadísticamente ($P > 0.05$).
IAI.- Inseminación artificial intrauterina.

4.3.- Tiempo de Respuesta a la Inducción de Estros

Del total de ovejas inducidas a ciclar (n=48), el 14.6 % no respondieron al tratamiento (7/48).

De las ovejas que respondieron favorablemente a la inducción (41/48) el 39 % (16/41) presentaron estro conductual a las 36 horas de retirada la esponja y aplicada la eCG, el 41.5 % (17/41) presentaron estro a las 48 horas, el 14.6 % (6/41) entraron en celo a las 60 horas, mientras que el 4.9 % (2/41) restante presentaron calor hasta las 72 horas de retirada la esponja (cuadro 3).

Entre las 36 y 60 horas después de retirado el tratamiento, se detectó en celo a la mayoría de las ovejas 95.1 % (39/41).

Cuadro 3. Número y porcentaje de ovejas que presentaron signos de estro después del tratamiento.

HORAS POSTRATAMIENTO	OVEJAS NUMERO	EN CELO PORCENTAJE
12	0	0
24	0	0
36	16	39.0
48	17	41.5
60	6	14.6
72	2	4.9
TOTAL	41	100

V.- DISCUSION

5.1.- Respuesta a la Inducción de Estros

Los animales utilizados en ambos grupos experimentales se encontraban en época de anestro estacional (junio), ya que al menos 20 días antes de comenzar el experimento se detectaron calores diariamente y ninguna de las 48 ovejas mostraron signos ni conducta de estro. Durante el tratamiento con FGA tampoco se presentaron calores en ninguno de los dos grupos.

Las borregas no presentaron signos de estro dentro de las primeras 24 horas después de haber retirado las esponjas y aplicado la eCG, es hasta las 36 horas cuando se observa que el 39 % (16/41) de los animales presentaron signos de estro, a las 48 horas el 41.5 % (17/41), a las 60 horas el 14.6 % (6/41) y a las 72 horas el 4.9 % (2/41). Entre las 36 y las 60 horas posttratamiento se detectó al 95.1 % (39/41) de las ovejas en celo, lo que confirma que el tratamiento utilizado para la inducción de estros en borregas en anestro estacional fue eficiente. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores (9, 14, 39, 124), quienes mencionan que la mayoría de sus animales entraron en estro durante los tres primeros días post-tratamiento.

5.2.- Porcentaje de Fertilidad

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los porcentajes de fertilidad son bajos cuando se comparan con la mayoría de los resultados que han alcanzado otros autores, en donde la fertilidad de las ovejas inducidas a ciclar es de alrededor de un 70 % (2, 5, 14, 39, 65, 124). Sin embargo, en algunos otros trabajos también han obtenido porcentajes de fertilidad cercanos al 35 % (9, 15).

La baja fertilidad obtenida al inseminar intrauterinamente por laparoscopia no se puede atribuir a la técnica por sí misma, ya que en el grupo de monta natural la fertilidad también fue

baja, por lo que se piensa que ésto se podría atribuir a que se utilizaron progestágenos sintéticos por más de 10 días, lo que se traduciría en una disminución de la fertilidad al primer estro postratamiento (52, 75, 116, 120) o al efecto detrimental de los progestágenos sobre el transporte de gametos, así como la mortalidad embrionaria temprana asociada, tanto para las borregas inseminadas intrauterinamente como para las servidas con monta natural (45).

Maxwell en 1984 (103), demostró que al inseminar con semen congelado por laparoscopia el tiempo óptimo para la inseminación es de 60 a 66 horas después de retirar el progestágeno.

En este trabajo se encontró variabilidad en la presentación de los calores en las ovejas inducidas en ambos grupos, desde 36 a 72 horas a partir del retiro del progestágeno. Sin embargo, el criterio considerado para realizar la inseminación intrauterina no fue el retiro del progestágeno sino el momento en que las ovejas fueron detectadas en estro por primera vez, dejando pasar por lo menos 24 horas en las ovejas que se inseminaron intrauterinamente, ya que la ovulación en la borrega normalmente ocurre de 24 a 30 h después del inicio del estro (48, 60).

Otro motivo por lo que conviene inseminar lo más cercano al momento de la ovulación se debe a que los espermatozoides que se depositan en etapas muy tempranas (24-36 h) de retirar el tratamiento con progestágenos sintéticos se exponen a un mayor envejecimiento en el aparato genital de la borrega que los espermatozoides depositados cerca del tiempo de ovulación (48-60 horas después de retirado el tratamiento) (104). Sin embargo, en otros trabajos se ha sugerido que el inseminar intrauterinamente cerca de la ovulación (54-60 horas de retirado el progestágeno), pudiera resultar también en una disminución en la tasa de fertilización (6), ya que la manipulación de los ovarios para observar la respuesta ovárica pudiera interferir con la captura del ovocito*.

* Flores-Foxworth, G. 1995, comunicación personal.

Otro factor que se considera de suma importancia es la concentración de espermatozoides móviles en el inseminado (102), ya que aún no se ha determinado la concentración mínima de espermatozoides que se requiere para la inseminación artificial intrauterina por laparoscopia en aquellas ovejas inducidas a ovular durante la época de anestro estacional (6).

Anel et al (5), utilizaron una dosis de 40×10^6 de espermatozoides por cuerno uterino obteniendo buena fertilidad (74.7 %) en ovejas en anestro inducidas a ovular.

Evans y Maxwell (48) recomiendan que se utilicen 10×10^6 de espermatozoides por cuerno uterino como mínimo de seguridad para inseminación intrauterina por laparoscopia durante la época reproductiva en estros sincronizados. Recientemente, en ovejas ciclando que fueron superovuladas e inseminadas intrauterinamente por laparoscopia utilizando 40×10^6 de espermatozoides por cuerno uterino (congelados en pellets), se recuperaron un número de embriones similar al de las ovejas servidas con monta natural (23). Por lo que para el presente trabajo se utilizó una concentración de 50×10^6 espermatozoides por cuerno uterino.

Se requiere de un mayor número de estudios para poder determinar los factores que afectan la fertilidad al utilizar programas de inseminación artificial y poder mejorar los resultados, como sería el conocer el tiempo óptimo para realizar la inseminación intrauterina, el diluyente ideal para el semen de carnero y el número adecuado de espermatozoides por dosis (69).

5.3.- Tono Uterino

Todas las ovejas del grupo de inseminación artificial intrauterina, antes de ser inseminadas fueron evaluadas en cuanto a la coloración, vascularización y tono uterino que tenían en ese momento.

La mayor parte de las ovejas 7/12 (58.3 %) del grupo I (inseminación artificial) que quedaron gestantes, presentaron al momento de la inseminación un buen tono uterino acompañado de una adecuada vascularización, lo que le daba al útero un color rojizo.

No existe ningún trabajo previo en borregas en anestro estacional o en época reproductiva donde se hayan evaluado la vascularización, la coloración y el tono uterino antes de hacer la inseminación intrauterina por laparoscopia y su relación con variables como el número de días de administración de los progestágenos.

Estos factores pueden ser de gran utilidad e importancia, ya que por ejemplo, en vacas antes de hacer la inseminación artificial se evalúa por medio de palpación rectal el tono uterino y la cantidad de moco cervical para saber si deben ser inseminadas o no, así como el momento óptimo para hacerlo (100).

VI.- CONCLUSIONES

El utilizar un tratamiento combinado de esponjas vaginales impregnadas con 40 mg de acetato de fluorogestona (FGA) además de la aplicación de 200 U.I. de gonadotropina coriónica equina (eCG) en el último día del tratamiento es efectivo para la inducción del estro en ovejas durante la época de anestro estacional.

No existió diferencia estadística entre el número de ovejas gestadas por inseminación artificial intrauterina por laparoscopia con semen congelado a las 24 horas de la detección del estro y las servidas por monta natural, lo que demuestra que es posible obtener porcentajes similares de fertilidad al realizar la inseminación artificial intrauterina por laparoscopia con semen congelado en ovejas inducidas a ovular en anestro estacional.

La baja fertilidad obtenida en ambos grupos probablemente se haya debido a la aplicación de progestágenos sintéticos por un período de 12 días.

VII.- LITERATURA CITADA

- 1.- Ainsworth, L. and Wolynetz, M.S.: Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestogens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. J. Anim. Sci., **54**: 1120-1127. (1982).
- 2.- Al-Kamali, A.A.; Crosby, T.F.; Boland, M.P.; Kelleher, D.L. and Gordon, I.: Effects of progestagen type and PMSG source on lambing outcome in ewes following artificial insemination. Irish Vet. J., **43**: 99-103. (1990).
- 3.- Allen, D.M. and Lamming, G.E.: The induction of breeding activity in lactating ewes during anoestrus. J. Reprod. Fert., **1**: 213-222. (1960).
- 4.- Almeida, O.F.X. and Lincoln, G.A.: Photoperiodic regulation of reproductive activity in the ram: Evidence for the involvement of circadian rhythms in melatonin and prolactin secretion. Biol. Reprod., **27**: 1062-1075. (1982).
- 5.- Anel, L.; Boixo, J.C.; Anel, E.; Carbajo, M.; Domínguez, J.C.; Olmedo, J.A. and Melcón, C.: Fertility of Churra ewes following intrauterine insemination by laparoscopy with frozen-thawed semen. Proceedings 12th. International Congress on Animal Reproduction. The Netherlands. 1992. 1384-1386.
- 6.- Armstrong, D.T. and Evans, G.: Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. J. Reprod. Fert., **71**: 89-94. (1984).
- 7.- Aragunde, M.; Perdigón, F.; Carbo, A.; Bonifacio, L. y Maceira, P.: Revisión de técnicas de laparoscopia especialmente aplicada a reproducción animal. Memorias del XIV Jornadas Uruguayas de Buiatría., Paysandú, R.O.U. 1986.
- 8.- Arthur, G.H.; Noakes, D.E. y Pearson, H.: Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6a. Ed. 12-34. Interamericana, McGraw-Hill. España. 1989.
- 9.- Bachoo, B.A. and Wani, G.M.: Induction of oestrus in Corriedale ewes during anoestrus. Ind. J. Anim. Sci., **61**: 407-408. (1991).
- 10.- Balcazar, J.A.: Efecto de la suplementación alimenticia sobre la eficiencia reproductiva de corderas pelibuey inducidas a la pubertad con acetato de melengestrol. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1992.
- 11.- Barrel, G.K.; Moenter, S.M.; Caraty, A. and Karsch, F.J.: Seasonal changes of gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe. Biol. Reprod., **46**: 1130-1135. (1992).
- 12.- Bindon, B.M. and Turner, H.N.: Plasma LH of the prepuberal lamb: A possible indicator of fecundity. Irish J. Agric. Res., **17**: 85-88. (1978).
- 13.- Bittman, E.L.; Dempsey, R.J. and Karsch, F.J.: Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. Endocrinology, **113**: 2776-2283. (1983).
- 14.- Boland, M.P.; Crosby, T.F. and Gordon, I.: Effect of mating management and PMSG dose on lambing outcome in ewes bred in late anoestrus. J. Agric. Sci., **97**: 445-447. (1981).
- 15.- Boland, M.P.; Crosby, T.F. and Gordon, I.: Induction of pregnancy in lactating anoestrus ewes. J. Agric. Sci., **97**: 465-467. (1981).

- 16.- Boland, M.P.; Crosby, T.F. and O'Callaghan, D.: Artificial control of the breeding season in ewes. Irish Vet. J., 43: 2-6. (1990).
- 17.- Boulitrop, P.: Sincronización de calores en ovinos y caprinos mediante el método de esponjas vaginales (método chronogest). Memorias V Congreso Nacional Azteca. México. 1988. 16-23.
- 18.- Bretzlaff, K.; Edwards, J.; Forrest, D. and Nuti, L.: Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. Veterinary Medicine. January., 12-24. (1993).
- 19.- Brito, I.; Balcazar, J.A.; Valencia, J.; Mejia, O. y Angulo, R.: Evaluación de dos diluyentes para la congelación de semen de carnero en pellets. Memorias XIX Congreso Nacional de Buiatría. Torreón, Coahuila. México. 1995.
- 20.- Britt, J.H.: Inducción y sincronización de la ovulación. En: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Ed. Hafes, E.S.E. 547-557. 5a. Ed. Interamericana, McGraw-Hill. México, D.F. 1989.
- 21.- Bustamante, G.: Evaluación del semental. Memorias del Curso de Actualización: Aspectos de Reproducción Ovina. México, D.F. 116-122. 1981.
- 22.- Cameron, A.W.N.; Fairnie, I.J. and Keog, E.J.: Semen quality, quantity and flock fertility. In: Reproduction in Sheep. Ed. Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. 79-85. Cambridge University Press. Cambridge. 1984.
- 23.- Corbón, J.L.; Valencia, J.; Balcazár, A.; Zarco, L.; Luyando, C.; Saharrea, A.; Mejía, O. y Gutierrez, J. Recuperación de embriones en ovejas superovuladas inseminadas intrauterinamente o por monta natural. Memorias de la XX Reunión Anual de la AIBIR. Zihuatanejo, Guerrero, México. 1995. 132-143.
- 24.- Cervantes, J.; Ducoing, A.; Flores, G. y Zarco, L.: Utilización del FGA y del MGA para la inducción de la pubertad en cabras primíparas y para la inducción de estros durante la estación de anestro en cabras adultas. Memorias V Congreso Nacional Azteca. México. 1988. 36-46.
- 25.- Cervantes, M.J.: Utilización del acetato de melengestrol y acetato de fluorogestona para la inducción de estros en cabras prepúberes y cabras adultas durante la estación de anestro. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1991.
- 26.- Chu, T.T.; Edey, T.N. and Findlay, J.K.: Pituitary response of prepuberal lambs to estradiol-17B. Aust. J. Biol. Sci., 32: 463-467. (1979).
- 27.- Clarke, I.J.: Neuroendocrine control of the ovine oestrus cycle. In: Reproduction in Sheep. Ed. Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. 1-6. Cambridge University Press. Cambridge. 1984.
- 28.- Cognie, Y.; Hernández-Barreto, M. and Saumande, J.: Low fertility in nursing ewes during the non breeding season. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 15: 329-343. (1975).
- 29.- Cognie, Y. and Mauleon, P.: Control of reproduction in the ewe. In: Sheep Production. Ed. Haresing, W. 381-392. Butterworths. London. 1983.

- 30.- Colas, G.: The use of progestagen SC 9880 as an aid for artificial insemination in ewes. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., **15**: 317-327. (1975).
- 31.- Crempien, Ch.; Rojas, C. y Avendaño, J.: Efecto del tratamiento con Progestágeno sintético sobre la sincronización de estros, concentración de partos y eficiencia reproductiva de ovinos. Agricultura Técnica, **44**: 347-351. (1984).
- 32.- Crosby, T.F.; Boland, M.P. and Gordon, I.: Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. Anim. Reprod. Sci., **24**: 109-118. (1991).
- 33.- Cuevas, E.A.; Rodríguez, H.V.; Gutiérrez, V.R.; Soto-Camargo, R. y Martínez, R.R.D.: Sincronización del estro en ovejas pelibuey con implantes nuevos y reciclados de Norgestomet. Rev. Vet. Méx., **24**: 327-330. (1993).
- 34.- Dacheux, J.L.; Pisselet, C.; Blanc, M.R. Hochereau-de-Reviere, M.T. and Courrot, M.: Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. J. Reprod. Fert., **61**: 363-371. (1981).
- 35.- Davis, I.F.; Kerton, D.J.; McPhee, S.R.; White, M.B.; Banfield, J.C. and Cahill, L.P.: Uterine artificial insemination in ewes. In: Reproduction in Sheep. Ed. Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. 304-305. Cambridge University Press, Cambridge. 1984.
- 36.- Davis, I.F.; Kerton, D.J.; McPhee, S.R.; White, M.B.; Banfield, J.C. and Cahill, L.P.: Uterine artificial insemination in ewes. In: Reproduction in Sheep. Ed. Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. 306-309. Cambridge University Press, Cambridge. 1984.
- 37.- D'Occhio, M.J.; Schanbacher, B.D. and Kinder, J.E.: Relationship between serum testosterone concentration and patterns of luteinizing hormone secretion in male sheep. Endocrinology, **110**: 1547-1554. (1982).
- 38.- D'Occhio, M.J.; Schanbacher, B.D. and Kinder, J.E.: Profiles of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone and prolactin in rams of diverse breeds: Effects of contrasting short (8L:16D) and long (16L:8D) photoperiods. Biol. Reprod., **30**: 1039-1054. (1984).
- 39.- Dominguez, J.C.; Miró, J. and Carbajo, M.: Inducción y sincronización de celos durante el anestro estacionario en la oveja Ripollesa mejorada, mediante esponjas vaginales (FGA) y PMSG inyectable. An. Fac. Vet. León, **34**: 77-88. (1988).
- 40.- Don, R.B.: The cervix of the ewe-its importance in artificial insemination of sheep. Aust. Vet. J., **31**: 101-103. (1955).
- 41.- Doney, J.M.; Gunn, R.G. and Horak, F.: Reproduction. In: Sheep and Goat Production. Ed. Coop, I.E. 57-59, 64-74. Eisevier Scientific Publishing Company. Amsterdam. 1982.
- 42.- Dutt, R.H.: Induction of estrus and ovulation in anestrus ewes by use of progesterone and pregnant mare serum. J. Anim. Sci., **12**: 515-523. (1953).
- 43.- Earl, C.R.; D'Occhio, M.J.; Kennaway, D.J. and Seamark, R.F.: Serum melatonin profiles and endocrine responses of ewes exposed to a pulse of light late in the dark phase. Endocrinology, **117**: 226-230. (1985).

- 44.- East, N.E. and Rowe, J.D.: Subcutaneous progestin implants versus intravaginal sponges for dairy goat estrus synchronization during the transitional period. Theriogenology, **32**: 921-927. (1989).
- 45.- Edey, T.N.: Early embryonic death and subsequent cycle length in the ewe. J. Reprod. Fertil., **13**: 431-443. (1967).
- 46.- El-Gaafary, M.N.; Axford, R.F.E. and Chamberlain, A.G.: Artificial insemination. In: New techniques in sheep production. Ed. Favez, I.; Marai, M. and Owen, J.B. 91-101. Butterworths and Co. LTD., London. 1987.
- 47.- Evans, G.: Current topics in artificial insemination of sheep. Aust. J. Biol. Sci., **41**: 103-116. (1988).
- 48.- Evans, G. and Maxwell, W.M.C.: Inseminación Artificial de ovejas y cabras. 4a. Ed. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España. 1990.
- 49.- Fernández, B.J.: Características reproductivas de la oveja. Memorias del Curso de Actualización: Aspectos de Reproducción Ovina. México, D.F. 1-13. 1981.
- 50.- Flores, G.; Amezcua, R.; Zarco, L.; Ducoing, A. and Quispe, Q.: Pregnancy diagnosis by progesterone determination on day 18 post-service in the ewe. Proceedings 12th. International Congress on Animal Reproduction. The Netherlands. 1992. 45-47.
- 51.- Folch, J.: La inseminación artificial ovina en España. Estado actual y perspectivas. V Jornadas de Ganado Ovino. Expoaviga **87**: 7-14. 1984.
- 52.- Folch, J.: Manejo reproductivo de los ovinos de carne y sus bases fisiológicas. Institución Fernando el Católico. Diputación Provincial de Zaragoza. 1984.
- 53.- Foote, W.C. and Waite, A.B.: Some effects of progesterone on behavior and fertility in the ewe. J. Anim. Sci., **20**: 972 (abstr.) (1965).
- 54.- Foster, D.L.; Jaffe, R.B. and Niswender, G.D.: Sequential patterns of circulating luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in female sheep from early postnatal life through the first oestrus cycles. Endocrinology, **97**: 985-994. (1975).
- 55.- Foster, D.L. and Karsch, F.J.: Development of the mechanisms regulating the preovulatory surge of luteinizing hormone in sheep. Endocrinology, **97**: 1205-1209. (1975).
- 56.- Foster, D.L. and Ryan, K.D.: Endocrine mechanisms governing transition in adulthood: A market decrease in inhibitory feedback action of estradiol on tonic secretion of luteinizing hormone in the lamb during puberty. Endocrinology, **105**: 896-904. (1979).
- 57.- Foster, D.L. and Ryan, K.D.: Mechanisms governing onset of ovarian cyclicity at puberty in the lamb. In: Sexual Maturation Organs and Functions. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., **19**: 1369-1380. (1979).
- 58.- Foster, D.L. and Ryan, K.D.: Endocrine mechanisms governing transition into adulthood in female sheep. J. Reprod. Fertil. Suppl., **30**: 75-90. (1981).
- 59.- Foster, D.L.; Karsch, F.J.; Olster, D.H.; Ryan, R.K. and Yellon, S.M.: Determinants of puberty in a seasonal breeder. Recent. Prog. Horm. Res., **42**: 330-384. (1986).

- 60.- Galina, C.; Saltiel, A.; Valencia, J.; Becerril, J.; Bustamante, G.; Calderón, A.; Duchateau, A.; Fernández, S.; Olguín, A.; Páramo, R. y Zarco, L.: Reproducción de los animales domésticos. 1a. Ed. Limusa. México. 1988.
- 61.- García, M.E.: Modificación del sistema de clasificación climática de Köppen. 3a. Ed. Offset Larios, México. 1981.
- 62.- García, L.G.: Inducción y sincronización del estro en bovinos utilizando Acetato de Melengestrol combinado con estrógenos o prostaglandinas bajo condiciones tropicales. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1987.
- 63.- Glass, J.D.; Mastran, T. and Nett, T.M.: Effects of estradiol and progesterone on the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) immunoreactive neuronal system of the anestrus ewe. Brain Res., **381**: 336-344. (1986).
- 64.- Goodman, R.L.: Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: The Physiology of Reproduction. Ed. Knobil, E. and Neill, J.D., 659-709. Raven Press, New York, 1994.
- 65.- Hackett, A.J.: Effect of dose of pregnant mares' serum gonadotrophin on the reproductive performance of ewes synchronized for estrus and housed in total confinement. Can. J. Anim. Sci., **62**: 291-294. (1982).
- 66.- Hafez, E.S.E.: Ciclos reproductivos. En: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Ed. Hafez, E.S.E. 117-141. 5a. Ed. Interamericana, McGraw-Hill. México, D.F. 1989.
- 67.- Halbert, G.W.; Dobson, H.; Walton, J.S. and Buckrell, B.C.: The structure of the cervical canal of the ewe. Theriogenology, **33**: 977-992. (1990).
- 68.- Halbert, G.W.; Dobson, H. and Walton, J.S.: A technique for transcervical intrauterine insemination in ewes. Theriogenology, **33**: 993-1010. (1990).
- 69.- Halbert, G.W.; Dobson, H. and Walton, J.S.: Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. Theriogenology, **33**: 1231-1243. (1990).
- 70.- Hall, D.G.; Fogarty, N.M. and Gilmour, A.R.: Seasonality of ovulation and estrous, and the ram effect in Poll Dorset ewes. Theriogenology, **25**: 455-461. (1986).
- 71.- Hambra, H.A.; McNally, J.W.; Marcek, J.M.; Carlson, K.M. and Wheaton, J.E.: Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drugs release dispensers on fertility in anestrus ewes. Anim. Reprod. Sci., **18**: 219-226. (1989).
- 72.- Haresing, W.; Mc Leod, B.J. and Webster, G.M.: Endocrine control of reproduction in the ewe. In: Sheep Production. Ed. Haresing, W. 353-379. Butterworths. London. 1983.
- 73.- Hawk, H.W. and Echterkamp, S.E.: Uterine contractions in the ewe during progesteragen-regulated oestrus. J. Reprod. Fertil., **34**: 347-349. (1973).
- 74.- Hernández, L.J.J.; Hernández, H.C. y Ruiz, D.R.: Sincronización del estro en borregas mediante la utilización de esponjas vaginales impregnadas de acetato de fluorogestona e implantes subcutáneos usados del progestágeno SC21009. Tec. Pec. Méx., **43**: 9-11. (1982).

- 75.- Hogue, D.E.; Handel, W. and Bratton, R.: Fertility of ewes bred naturally and artificially after estrous cycles synchronization with an oral progesterational agent. J. Anim. Sci., **21**: 625-627. (1962).
- 76.- Hulet, C.V. and Foote, W.C.: Induction of fertile estrus in lactating and dry anoestrus ewes using oral progestagens and repeated PMSG treatment. J. Anim. Sci., **26**: 545-548. (1967).
- 77.- Hulet, C.V. and Stormshak, F.: Some factors affecting response of anoestrus ewes to hormone treatment. J. Anim. Sci., **34**: 1011-1019. (1972).
- 78.- Hunter, G.L.: The use of exogenous hormones to induce oestrus in the post-partum ewe. Anim. Breeding Abstr., **36**: 533-537. (1968).
- 79.- Hunter, G.L.: Increasing the frequency of pregnancy in sheep. II. Artificial control of rebreeding and problems of conception and maintenance of pregnancy during the post-partum period. Anim. Breeding Abstr., **36**: 538-553. (1968).
- 80.- Jainudeen, M.R. and Hafez, E.S.E.: Ovejas y cabras. En: Reproducción e inseminación artificial en animales. Ed. Hafez, E.S.E. 341-350. 5a. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México, D.F. 1989.
- 81.- Jainudeen, M.R. and Hafez, E.S.E.: Insuficiencia reproductora en hembras. En: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Ed. Hafez, E.S.E. 431-457. 5a. Ed. Interamericana, McGraw-Hill. México, D.F. 1989.
- 82.- Karsch, F.J.; Legan, S.J., Ryan, K.D. and Foster, D.L.: Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behaviour during the sheeps estrous cycle. Biol. Reprod., **23**: 404-413. (1980).
- 83.- Karsch, F.J. and Foster, D.L.: Environmental control of ovarian cyclicity: A final common mechanism governing seasonal breeding and sexual maturation. In: Environmental Factors in Mammalian Reproduction. Ed. Gilmore, D.P. and Cook, D. 30-53. McMillan Press. London. 1981.
- 84.- Keisler, D.H.: Manipulación hormonal de la reproducción en ovejas. Memorias del Seminario Internacional Avances Recientes en la Producción Ovina. Montecillo, Edo. de México. 1992. 73-88.
- 85.- Kennaway, D.J.; Dunstan, E.A.; Gilmore, T.A. and Seamark, R.F.: Effects of shortened daylength and melatonin treatment on plasma prolactin and melatonin levels in pinealectomized and shamoperated ewes. Anim. Reprod. Sci., **5**: 287-294. (1982).
- 86.- Kennaway, D.J.; Dunstan, E.A. and Staples, L.D.: Photoperiodic control of the onset of breeding activity and fecundity in ewes. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), **34**: 187-189. (1987).
- 87.- Killeen, I.D. and Caffery, G.J.: Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. Aust. Vet. J., **35**: 59. 1982.
- 88.- Killen, I.D.: Artificial insemination and synchronization of oestrus. Proceedings of Sheep Production and Preventive Medicine. The Post-graduate Commitee in Veterinary Science, **67**: 302-314. University of Sidney, Australia. 1983.

89.- Killeen, I.D.: Use of laparoscopy for artificial insemination of sheep. Memorias del XIV Jornadas Uruguayas de Buiatría., Paysandú, R.O.U. 1986.

90.- Kirkwood, R.M.; Comming, D.C. and Aherne, F.X.: Nutrition and puberty in the female. Proceedings of the Nutrition Society, 46: 177-192. (1987).

91.- Landers, A.J.; Molinia, F.C.; Evans, G. and Maxwell, W.M.C.: Survival of ram spermatozoa frozen in pellets, straws and minitubes. Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., 24: 20 (abstract). (1992).

92.- Legan, S.J. and Karsch, F.J.: Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: Modulation of the negative feedback action of estradiol. Biol. Reprod., 23: 1061-1068. (1980).

93.- Lighfoot, R.J. and Salomon, S.: Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I.- Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. J. Reprod. Fert., 22: 385-398. (1970).

94.- Lighfoot, R.J. and Salomon, S.: Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. II.- The effect of method of insemination on fertilization and embryonic mortality. J. Reprod. Fert., 22: 399-408. (1970).

95.- López, A.; Castillo, M.; Pérez, T. and Inskeep, K.J.: Efectos de la duración del tratamiento con un progestágeno (Norgestomet) y la presencia de morruecos en la respuesta a la GnRH en ovejas manchegas en anestro de lactación. Ann.INIA/Ser.Prod. Anim., 11: 83-94. (1980).

96.- McDonald, M.F.: Estrous synchronization and control of the estrous cycle. In: Current Therapy in Theriogenology. Ed. Morrow, D.A. 6a. Ed. 887-891. W. B. Saunders Company. Philadelphia, P.A. 1986.

97.- McKelvey, W.A.C.; Robinson, J.J. and Aitken, R.P.: The evaluation of a laparoscopic insemination technique in ewes. Theriogenology, 24: 519-535. (1985).

98.- McLeod, B.J.; Haresing, W. and Lamming, G.E.: Response of seasonally anoestrus ewes to small-dose multiple injections of GnRH without progesterone pretreatment. J. Reprod. Fert., 65: 223-230. (1982).

99.- McLeod, B.J. and Haresing, W.: Evidence that progesterone may influence subsequent luteal function in the ewe by modulating preovulatory follicle development. J. Reprod. Fert., 71: 381-386. (1984).

100.- Macías, A.M.: Índice de concepción en vacas tratadas con prostaglandina F2 alfa e inseminadas a estro observado, estro detectado por palpación rectal o a tiempo fijo (72 y 96 hs postratamiento). Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot.. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1992.

101.- Mathur, A.K.; Srivastava, R.S.; Joshi, A. and Kalra, D.B.: Pellet freezing of ram semen. Indian J. of Anim. Sci., 59: 1529-1531. (1989).

102.- Maxwell, W.M.C.; Curnock, R.M.; Logue, D.N. and Reed, H.C.B.: Fertility of ewes following artificial insemination with semen frozen in pellets or straws, a preliminary report. Theriogenology, 14: 82-89. (1980).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 103.- Maxwell, W.M.C.: Current problems and future potential of artificial insemination programs. In: Reproduction in Sheep. Ed. Linsay, D.R. and Pearce, D.T. 291-297. Cambridge University Press, Cambridge. 1984.
- 104.- Maxwell, W.M.C.; Butler, L.G. and Wilson, H.R.: Intra-uterine insemination of ewes with frozen semen. J. Agric. Sci. Camb., 102: 233-235. (1984).
- 105.- Maxwell, W.M.C. and Hewitt, L.J.: A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. J. Agric. Sci., 106: 191-193. (1986).
- 106.- Maxwell, W.M.C. and Barnes, D.R.: Induction of oestrus in ewes using a controlled internal drugs release device and PMSG. J. Agric. Sci., 106: 201-203. (1986).
- 107.- Maxwell, W.M.C.; Evans, G.; Rhodes, S.L.; Hillard, M.A. and Bindon, B.M.: Fertility of superovulated ewes after intrauterine or oviductal insemination with low numbers of fresh or frozen-thawed spermatozoa. Reprod. Fert. Dev., 5: 57-63. (1993).
- 108.- Melgar, F. y Sánchez, P.: Empleo de la PGF₂ α en el transporte de espermatozoides en el tracto genital de la oveja. Ann.INIA/Ser.Prod. Anim., 8: 83-89. (1977).
- 109.- Molinia, F.C.; Evans, G. and Maxwell, W.M.C.: Effect of polyols on the post-thawing motility of pellet-frozen ram spermatozoa. Theriogenology, 14: 15-23. (1994).
- 110.- Molinia, F.C.; Evans, G. and Maxwell, W.M.C.: Incorporation of polyols penetrating cryoprotectants in diluents for pellet-freezing ram spermatozoa. Theriogenology, 42: 727-737. (1994).
- 111.- Ortawant, R.: Physiology of reproduction and adaptation to the environment. Memorias de la IV Conferencia Mundial de Producción Animal. Buenos Aires, Argentina. 599-601. 1978.
- 112.- Pelletier, J. and Thimoner, J.: Influence of fluorogestone acetato (FGA) on hypothalamo-hypophysial activity in anoestrus dry and lactating ewes. J. Reprod. Fert., 31: 496-497. (1972).
- 113.- Phillips, D.; Dunstan, E.A.; Walkers, S.K. and Singh, A.W.: A definition of the breeding season of Poll Dorset ewes. Theriogenology, 21: 561-568. (1984).
- 114.- Ponbriand, D.; Howard, J.G.; Schiewe, M.C.; Stuart, L.D. and Wildt, D.E.: Effect of cryoprotective diluent and method of freeze-thawing on survival and acrosomal integrity of ram spermatozoa. Criobiology, 26: 341-354. (1989).
- 115.- Porras, A.A.; Galina, H.C. y Zarco, Q.L.: Inducción y sincronización de estros utilizando progestágenos. Memorias del II Curso Internacional de Reproducción Bovina. México, D.F. Fac. de Med. Vet. y Zoot.. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1990.
- 116.- Quintlivan, T.D. and Robinson, T.J.: Number of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen-treated ewes. J. Reprod. Fert., 19: 73-86. (1969).
- 117.- Quiñones, Z.C.: Laparoscopia: Instrumentación y técnica. Memorias del Curso Teórico Práctico "Laparoscopia en Ginecología". Asociación Mexicana de Ginecología y Obstetricia. 4-8 de Junio. 1984.

- 118.- Quirke, J.F.: Control of reproduction in adult ewes and ewe lambs following treatment with progestagen impregnated sponges and PMSG. Livestock Prod. Sci., **6**: 295-303. (1979).
- 119.- Quirke, J.F.: Regulation of puberty and reproduction in female lambs: A review. Livestock Prod. Sci., **8**: 37-53. (1981).
- 120.- Quispe, T.L.: Estudios sobre el uso del acetato de melengestrol para la sincronización e inducción de estros en ovejas. Tesis de Doctorado. Fac. de Med. Vet. y Zoot.. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
- 121.- Radillo, D.J.J.: Inseminación artificial en ovinos. Estudio recapitulativo de 1981 a 1991. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot.. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1992.
- 122.- Randall, S.O. and Mushtaq, A.M.: Sheep and goat manual. Society For Theriogenology. Missouri, Columbia. 5-33. (1980).
- 123.- Rival, M.D.; Chenoweth, P.J. and McMicking, L.L.: Semen deposition and fertility in ovine artificial breeding programs. In: Reproduction in Sheep. Ed. Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. 301-303. Cambridge University Press. Cambridge. 1984.
- 124.- Rival, M. and Tuckey, K.: The effect of progestagen type and PMSG on the conception rate in synchronized ewes following laparoscopic A. I.. Proceedings 12th. International Congress on Animal Reproduction. The Netherlands. 1992. 1178-1180.
- 125.- Rollag, M.D. and Niswender, G.D.: Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. Endocrinology, **98**: 482-489. (1976).
- 126.- Rollag, M.D.; O'Callaghan, P.L. and Niswender, G.D.: Serum melatonin concentrations during different stages of the annual reproductive cycle in ewes. Biol. Reprod., **18**: 279-285. (1978).
- 127.- Salamon, S. and Lightfoot, R.J.: Fertilization and embryonic loss in sheep after insemination with deep frozen semen. Nature., **216**: 194-195. (1967).
- 128.- Schmehl, M.K.; Vazquez, I.A. and Graham, E.F.: The effect of nonpenetrating cryoprotectante added to test-yolk-glycerol extender on the post-thawing motility of ram spermatozoa. Criobiology, **23**: 512-517. (1986).
- 129.- Scudamore, C.L.; Robinson, J.J. and Aitken, R.P.: The effect of timing of laparoscopic insemination in superovulated ewes, with sedation, on the recovery of embryos, their stage of development and subsequent viability. Theriogenology, **35**: 907-914. (1991).
- 130.- Scudamore, C.L.; Robinson, J.J.; Aitken, R.P. and Robertson, I.S.: The effect of method of oestrous synchronisation on the response of ewes to superovulation with porcine follicle stimulating hormone. Anim. Reprod. Sci., **34**: 127-133. (1993).
- 131.- Seeger, K. and Klatt, P.R.: Laparoscopy in the sheep and goat. In: Animal Laparoscopy. 6th. edition. Harrison, R.M. and De Wildt, Baltimore. 107-120. 1980.
- 132.- Shackell, G.H.: The timing of oestrus, LH surge and ovulation in ewes following synchronization with MAP sponges or CIDR's. Proc. of the New Zealand Soc. of Anim. Prod., **51**: 73-77. (1991).

133.- Sherestra, J.N.B.; Ainsworth, L.; Heaney, D.P. and Smith, A.N.: Application of controlled reproduction to sheep flocks in New Foudland. Canadian J. of Anim. Sci., **62**: 679-687. (1982).

134.- Srikandakumar, A.; Ingraham, R.H.; Ellsworth, M.; Archbald, L.F.; Liao, A. and Godke, R.A.: Comparision of a solid-phase, no-extraction radioimmunoassay for progesterone with and extration assay for monitoring luteal function in the mare, bitch and cow. Theriogenology, **26**: 779-793. (1986).

135.- Tasseron, F.; Amir, D. and Schindler, H.: Acrosome damage of ram spermatozoa during dilution, cooling and freezing. J. Reprod. Fert., **51**: 461-462. (1977).

136.- Thiery, J.C.; Pelletier, J. and Signoret, J.P.: Study on structures and functions of the hypotalamous of the ewes in relation with LH secretion. Psychoneuroendocrinology in Reprod. Biomed. Press., 175-180. (1979).

137.- Thompson, J.G.E.; Simpson, A.C.; James, R.W. and Tervit, H.R.: The application of progesterone-containing CIDR devices to superovulated ewes. Theriogenology, **33**: 1297-1305. (1990).

138.- Trejo, A.A.: II.- El manejo del semental ovino. Ganadero, **2**: 46-59. (1982).

139.- Triola, M.F.: Elementary Statistics. 3th. ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., California, USA, 1986.

140.- Valencia, J.: La inseminación artificial en ovinos. En: Memorias del Curso de Actualización "Bases de la Cría Ovina". Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia/Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Universidad Nacional Autónoma de México. Pachuca, Hidalgo. 25-29. 1987.

141.- Verità, P.; Calombani, B.; Leotta, R.: Sincronizzazione dei calori in ovini di la razza Massese mediante il progestinico di sintesi FGA. Ann. Facoltà di Med. Vet. di Pisa, **33**: 183-188. (1981).

142.- Ward, W.R.: The breeding season and the estrous cycle. In: Current Therapy in Theriogenology. Ed. Morrow, D.A. 846-847. W. B. Saunders Company. Philadelphia, P.A. 1986.

143.- Watson, P.F. and Martin, I.C.A.: A comparison of changes in the acrosomes of deep-frozen ram and bull spermatozoa. J. Reprod. Fert., : 99-101. (1972).