



**Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo**

**Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales**

Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas

Tesis:

**Efecto del Acetato de Melengestrol (MGA) en la Dinámica  
Folicular, Estro y Fertilidad en Borregas**

Para obtener el grado de:

**Doctor en Ciencias Biológicas**

Presenta:

**Jesús Antonio Rojo Martínez**

Tutor:

**Dr. Guillermo Salas Razo**

Asesores:

**Dr. Alejandro Bravo Patiño**

**Dr. Aureliano Juárez Caratachea**

**Dr. José Luis Espinoza Villavicencio**

**Dr. Rogelio Garcidueñas Piña**



Morelia, Michoacán

Febrero de 2018



**Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo**

**Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales**

Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas

Tesis:

**Efecto del Acetato de Melengestrol (MGA) en la Dinámica  
Folicular, Estro y Fertilidad en Borregas**

Para obtener el grado de:

**Doctor en Ciencias Biológicas**

Presenta:

**Jesús Antonio Rojo Martínez**

Tutor:

**Dr. Guillermo Salas Razo**

Asesores:

**Dr. Alejandro Bravo Patiño**

**Dr. Aureliano Juárez Caratachea**

**Dr. José Luis Espinoza Villavicencio**

**Dr. Rogelio Garcidueñas Piña**



Morelia, Michoacán

Febrero de 2018

## **Dedicatorias**

### **A mi familia**

En este espacio puedo expresar libremente lo que siento, sin revisiones, sin observaciones de expertos, sin sugerencias en el estilo de escritura e incluso sin la necesidad de las aprobaciones para su impresión; y no por ello, deja de ser el apartado más importante de este documento, porque es ahora cuando yo quiero expresarles mi gratitud por el amor y confianza que me han brindado y decirles que siempre han sido la inspiración de todo lo que he logrado.

A mis padres Jesús Rojo Chávez y Florencia Martínez Lucario por su apoyo y confianza, gracias por ayudarme a cumplir mis objetivos como persona y como profesionista. A mis hermanas María del Carmen y Concepción Imelda por todas las palabras que hicieron que me inspirara y recordarme lo importante que era terminar esta etapa. A mi esposa Sara Cardona Orozco por darme el tiempo para realizarme profesionalmente, por todo el amor, cariño, amistad y apoyo brindado. Por ultimo quiero agradecer a mi hija Jimena Rojo Cardona que, aunque está muy pequeñita represento la mayor inspiración para lograr este objetivo al darme y hacerme sentir ese amor puro y sincero que sin duda es lo más valioso que tengo. Espero retribuirles con creces, ese tiempo y atención que les debo, los amo y espero que, como yo, ustedes piensen que no hay meta que como familia no se pueda lograr.

Gracias

## **Agradecimientos**

### **A mis asesores:**

Dr. Alejandro Bravo Patiño  
Dr. Aureliano Juárez Caratachea  
Dr. Guillermo Salas Razo  
Dr. José Luis Espinoza Villavicencio  
Dr. Rogelio Garcidueñas Piña

Gracias por la amistad brinda, por ser un amigo, por su tiempo y enseñanza que recibí de cada uno de ustedes, por mostrarme que para poder lograr algo en esta vida de estudio y preparación, se logra mediante esfuerzo, dedicación y mucho trabajo. Gracias por todos los conocimientos que me aportaron e hicieron cumplir una meta y conseguir lo que he anhelado durante mi formación de Doctor en Ciencias Biológicas. Con admiración y respeto gracias.

### **A las instituciones:**

#### **A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo**

Por haberme brindado una educación y formación profesional de excelencia académica.

#### **Al instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales**

Por el apoyo recibido, el interés mostrado y la disponibilidad para la realización de mis estudios de Doctorado en Ciencias Biológicas.

#### **Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**

Por la beca que se me brindo para la realización de mis estudios de Doctorado en Ciencias Biológica.

A todos:  
Mi gratitud

## Índice

I. Introducción.....	1
II. Ciclo estral de la borrega .....	4
2.1. Fases del ciclo estral.....	4
2.1.1. Fase folicular .....	4
2.1.2. Fase lútea .....	6
2.2. Anestro.....	7
III. Dinámica folicular.....	7
IV. Hormonas reproductivas y su función en el desarrollo folicular .....	10
4.1. Hormonas gonadotropicas.....	10
4.2. Hormonas esteroideas .....	13
V. Ecografía.....	16
VI. Acetato de melengestrol (MGA) .....	18
VII. Hipótesis .....	27
VIII. Objetivo general .....	27
IX. Objetivos particulares.....	27
X. Material y métodos .....	28
10.1. Experimento 1 .....	28
10.1.1. Localización.....	28
10.1.2. Animales y diseño experimental.....	28
10.2. Experimento 2 .....	30
10.2.1. Localización.....	30
10.2.2. Animales y diseño experimental.....	30
XI. Resultados.....	32

11.1. Experimento 1 .....	32
11.2. Experimento 2 .....	39
XII. Discusión .....	41
XIII. Conclusiones.....	52
XIV. Literatura citada .....	53
XV. Anexos.....	71

## Índice de figuras

	Pag.
<b>Figura 1</b> Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.11 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular $\leq$ a 4 mm.....	32
<b>Figura 2</b> Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.11 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular $>$ a 4 mm.....	33
<b>Figura 3</b> Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular $\leq$ a 4 mm y que presentaron 3 ondas foliculares.....	34
<b>Figura 4</b> Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular $>$ a 4 mm y que presentaron 3 ondas foliculares.....	35
<b>Figura 5</b> Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg) de borregas que presentaron 2 ondas foliculares....	35
<b>Figura 6</b> Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.5 mg) de borregas que presentaron 3 ondas foliculares.....	37
<b>Figura 7</b> Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.5 mg) de borregas que presentaron 2 ondas foliculares.....	37
<b>Figura 8</b> Distribución de ovulación pos-tratamiento oral con MGA a dosis de 0.11, 0.22 y 0.5 mg.....	38

<b>Figura 9</b>	Distribución de la detección de estros pos-tratamiento oral con MGA (0.11 mg/17 días).....	39
<b>Figura 10</b>	Distribución de la detección de estros pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg/17 días).....	39
<b>Figura 11</b>	Distribución de la detección de estros pos-tratamiento oral con MGA (0.5 mg/17 días).....	40
<b>Figura 12</b>	Porcentajes de fertilidad pos-tratamiento oral con MGA.....	40

## Siglas y Acrónimos

<b>MGA</b>	Acetato de Melengestrol
<b>FGA</b>	Acetato de Fluorogestona
<b>MAP</b>	Acetato de Medroxiprogesterona
<b>LH</b>	Hormona Luteinizante
<b>E<sub>2</sub></b>	Estradiol
<b>P<sub>4</sub></b>	Progesterona
<b>FSH</b>	Hormona Folículo Estimulante
<b>GnRH</b>	Hormona Liberadora de Gonadotropinas
<b>CL</b>	Cuerpo Lúteo
<b>PGF<sub>2α</sub></b>	Prostaglandina 2 <sub>α</sub>
<b>3βHSD</b>	3β hidroxisteroide desidrogenasa
<b>P450</b>	Desmolasa
<b>P450arom</b>	Aromatasa
<b>RIA</b>	Radioinmunoensayo
<b>PMSG</b>	Gonadotropina sérica de yegua gestante

## i.- Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del acetato de melengestrol (MGA) en la dinámica folicular, estro y fertilidad en borregas. Se realizaron dos experimentos. **Experimento 1:** se utilizaron 33 borregas no gestantes y con actividad ovárica; con una condición corporal de  $3.07 \pm 0.3$  puntos (escala de 1 a 5),  $40.3 \pm 4.9$  kg de peso,  $4.6 \pm 1.7$  años de edad y  $4.5 \pm 2.4$  partos. Las borregas fueron distribuidas en tres grupos mediante un diseño estratificado; al grupo 1 se le administro una dosis de 0.11 mg de MGA/borrega/día, al grupo 2 una dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día y el grupo 3 una dosis de 0.5 mg de MGA/borrega/día. En los tres grupos el tratamiento se administró por un periodo de 17 días. Durante el tratamiento y pos-tratamiento hasta la ovulación o atresia del folículo dominante en todas las borregas se realizó un seguimiento de la dinámica folicular por ecografía transrectal. Los folículos se midieron colocando los calibradores electrónicos en el límite ubicado entre la pared folicular y el estroma ovárico. En el grupo 1 todas las borregas desarrollaron folículos persistentes en los dos ovarios. El diámetro de los folículos persistentes fue de  $5.8 \pm 0.6$  mm. En el grupo 2 el 75% de las borregas presentaron 3 ondas foliculares y el 25% restante presento 2 ondas. En las borregas que manifestaron tres ondas el surgimiento de la segunda onda fue a los  $5.8 \pm 1.0$  y de la tercera fue a los  $12.5 \pm 1.7$  días. En las borregas que presentaron dos ondas el surgimiento de la segunda onda fue a los  $7.6 \pm 1.8$  días. Los folículos dominantes observados tuvieron un rango de 5.2 a 5.7 mm de diámetro. En el grupo 3 el 81.81% de las borregas presentaron 3 ondas foliculares y el 18.18% restante presento dos ondas. En las borregas que presentaron tres ondas se observó que el surgimiento de la segunda onda fue a los  $8.7 \pm 1.4$  y de la tercera a los  $15.6 \pm 2.8$  días. En las que

presentaron dos ondas el surgimiento de la segunda onda fue a los  $12.2 \pm 2.0$  días. Los folículos dominantes observados tuvieron un rango de 5.5 a 6.1 mm de diámetro. En los tres grupos ninguna borrega ovulo durante el tratamiento y el 100% óvulo pos-tratamiento. **Experimento 2:** se utilizaron 34 borregas no gestantes y con actividad ovárica; con una condición corporal de  $3.1 \pm 0.4$  puntos (escala de 1 a 5),  $56.7 \pm 7.1$  kg de peso y  $3.4 \pm 1.0$  años de edad. Las borregas fueron distribuidas al azar en tres grupos: al grupo 1 se administró una dosis de 0.11 mg de MGA/borrega/día, al grupo 2 una dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día y al grupo 3 una dosis de 0.5 mg de MGA/borrega/día, en los tres grupos el tratamiento se administró por un periodo de 17 días. Suspendido el tratamiento se introdujo el semental y se detectaron estros durante 10 días. Se realizaron diagnósticos de gestación por ecografía rectal 45 días después de la última monta. El porcentaje de manifestación del estro fue de 75, 90 y 83.3% para el grupo 1, 2 y 3 respectivamente. El porcentaje de fertilidad fue de 44.44, 88.88 y 100% para el grupo 1, 2 y 3 respectivamente. Se concluye que la administración de 0.11 mg de MGA durante 17 días causa el desarrollo de folículos persistentes, inhibe la ovulación e induce y sincroniza el estro, pero disminuye la fertilidad. La administración de 0.22 y 0.5 mg de MGA durante 17 días, permiten una dinámica folicular normal en 2 y 3 ondas, son eficientes en inhibir la ovulación e inducen y sincronizan el estro con un porcentaje de fertilidad del 88.88% y 100% respectivamente.

**Palabras clave:** tratamientos prolongados, desarrollo folicular, ondas foliculares, diámetro folicular, persistencia folicular.

## ii.- Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of melengestrol acetate (MGA) on follicular dynamics, estrus and fertility in ewes. Two experiments were performed. Experiment 1: 33 non-pregnant ewes with ovarian activity were used; with a body condition of  $3.07 \pm 0.3$  points (scale 1-5),  $40.3 \pm 4.9$  kg of weight,  $4.6 \pm 1.7$  years of age and  $4.5 \pm 2.4$  birth. Ewes were divided into three groups in a design stratified. Group 1 was administered a dose of 0.11 mg de MGA/ewe/day, group 2 a dose of 0.22 mg de MGA/ewe/day and group 3 a dose of 0.5 mg de MGA/ewe/day. In all three groups the treatment was administered for a period of 17 days. During treatment and post-treatment until ovulation or atresia of the dominant follicle in all the ewes follicular dynamics were followed by transrectal ultrasound. Follicles were measured by placing electronic calibrators in the boundary between the follicular wall and the ovarian stroma. In group 1 all ewes developed persistent follicles in both ovaries. The diameter of the persistent follicles was  $5.8 \pm 0.6$  mm. In group 2, 75% of the sheep presented 3 follicular waves and the remaining 25% presented 2 waves. In the ewes that manifested three waves the emergence of the second wave was to the  $5.8 \pm 1.0$  and of the third was the  $12.5 \pm 1.7$  days. In the ewes that presented two waves the emergence of the second wave was at  $7.6 \pm 1.8$  days. The dominant follicles observed had a range of 5.2 a 5.7 mm of diameter. In group 3 81.81% of the ewes presented 3 follicular waves and the remaining 18.18% presented two waves. In the ewes that presented three waves, it was observed that the emergence of the second wave was at  $8.7 \pm 1.4$  and from the third to the  $15.6 \pm 2.8$  days. In those that presented two waves the emergence of the second wave was to the  $12.2 \pm 2.0$  days.

The dominant follicles observed had a range of 5.5 a 6.1 mm of diameter. In the three groups no sheep ovule during treatment and 100% of the ovule post-treatment sheep. Experiment 2: 34 non-pregnant ewes with ovarian activity were used; with a body condition of  $3.1 \pm 0.4$  points (scale 1-5),  $56.7 \pm 7.1$  kg of weight and  $3.4 \pm 1.0$  years of age. The ewes were randomly distributed into three groups: Group 1 was administered a dose of 0.11 mg de MGA/ewe/day, group 2 a dose of 0.22 mg de MGA/ewe/day and group 3 a dose of 0.5 mg de MGA/ewe/day. In all three groups the treatment was administered for a period of 17 days. Suspended treatment was introduced the stallion and estrus were detected for 10 days. Gestation diagnoses were performed by ultrasonography rectally 45 days after the last ride. The percentage of manifestation of estrus was 75, 90 y 83.3% for the group 1, 2 y 3 respectively. The percentage of fertility was 44.44, 88.88 y 100% for the group 1, 2 y 3 respectively. It is concluded that the administration of 0.11 mg of MGA for 17 days causes the development of persistent follicles, inhibits ovulation and induces and synchronizes estrus, but decreases fertility. The administration of 0.22 and 0.5 mg of MGA for 17 days, it allows normal follicular dynamics in 2 and 3 waves, are efficient in inhibiting ovulation and induce and synchronize estrus with a fertility percentage of 88% and 100% respectively.

**Keywords:** prolonged treatments, follicular development, follicular waves, follicular diameter, follicular persistence.

## I. Introducción

Los progestágenos son un grupo de hormonas esteroides mediante los cuales se puede manipular la actividad ovárica y se caracterizan por ser liposolubles, termoestables y no se inactivan por vía digestiva (Hageleit *et al.*, 2000). Estas propiedades permiten administrarlos por vía oral, a través de la mucosa vaginal o por implantes subcutáneos de liberación controlada. Dentro de este grupo se encuentran la progesterona (progestágeno natural) y los progestágenos sintéticos: acetato de melengestrol (MGA por sus siglas en inglés), acetato de fluorogestona (FGA) y acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Alvares y Ducoing, 2017).

El MGA es un esteroide progestacional sintético de administración oral aproximadamente 30 veces más activo que la progesterona natural, es utilizado como promotor del crecimiento (Schiffer, 2004; Shen, 2013), por su capacidad de inhibir la conducta estral en rumiantes, se ha utilizado como inductor y sincronizador de estros (Marroy *et al.*, 2010; Rojo *et al.*, 2017). Es un producto de bajo costo, fácil administración (se puede mezclar en el alimento) y no causa abortos (Salas *et al.*, 2015).

En borregas el MGA ha sido utilizado únicamente con fines reproductivos, ya sea para inducir o sincronizar el estro (Salas *et al.*, 2011). Inicialmente la dosis utilizada fue la misma que en bovinos (0.5 mg/animal/día) durante periodos de 9 a 12 días con porcentajes de fertilidad bajos, por lo que se han utilizado una variedad de dosis que van desde 0.11 a 0.5 mg/borrega/día, obteniendo porcentajes de fertilidad variables (25 a 85%) (Windorski *et al.*, 2008); esto se asocia a la duración del tratamiento y a las dosis utilizadas del progestágeno (Galina y Valencia, 2014) ya

que suelen ser menos eficaces que la progesterona endógena (de un cuerpo lúteo) en la supresión de secreción de la hormona luteinizante (LH) (Colazo *et al.*, 2007; García *et al.*, 2009).

Viñoles *et al.* (2001) en ovinos reportan que los niveles periféricos de progesterona endógena o exógena regulan los patrones de crecimiento folicular por medio de la retroalimentación negativa hacia la secreción pulsátil de LH. Estudios en bovinos mencionan que cuando se administran dosis altas de progestágenos sintéticos, la supresión de LH puede ser tan intensa que disminuye su concentración y presenta un efecto negativo en el reclutamiento y desarrollo folicular; cuando se administran dosis bajas, se genera un incremento en la frecuencia de pulsos de LH que aumentan su concentración y desencadena el desarrollo de folículos persistentes (Rhodes *et al.*, 2002; Kojima *et al.*, 2003; Ruiz *et al.*, 2005).

En estudios previos (Salas *et al.*, 2013) al evaluar el efecto de una dosis intermedia de 0.22 mg de MGA durante un tratamiento prolongado (17 días), en la persistencia o no persistencia de folículos ováricos en 20 borregas de la raza Dorper y encaste de Dorper con Pelibuey, observaron que ninguna borrega presentó el desarrollo de folículos persistentes.

Sin embargo, en borregas no existen estudios que describan que es lo que sucede en la dinámica folicular durante y después de la administración de tratamientos prolongados con progestágenos sintéticos a diferentes dosis. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de tres dosis (0.11, 0.22 y 0.5 mg) de acetato de melengestrol (MGA) en la dinámica folicular durante y después del tratamiento

hasta la ovulación, así como la inducción y sincronización del estro y, fertilidad en borregas. La importancia de evaluar su efecto radica en que puede estar incidiendo en la variabilidad que existe en la fertilidad y representar una alternativa que permita comprender los mecanismos ováricos cuando se administra dicho progestágeno a diferentes dosis para el control reproductivo, además de ayudar a diseñar estrategias para mejorar la fertilidad en los sistemas de producción ovina.

## Revisión de literatura

### II. Ciclo estral de la borrega

El ciclo estral se define como un intervalo entre dos estros y se caracteriza por cambios fisiológicos que van desde la foliculogénesis, la ovulación, la formación de cuerpos lúteos y la posible fecundación de gametos, hasta cambios en el comportamiento en la hembra, los cuales son regulados por procesos endocrinos (Bartlewski *et al.*, 2011). En la borrega el ciclo estral tiene una duración promedio de 16 a 17 días, presentando una variación debido a las diferencias entre razas, etapa de la época reproductiva (anestro) y efectos ambientales (Nieto, 2009).

#### 2.1. Fases del ciclo estral

El ciclo estral consta de dos etapas, dependiendo de las estructuras ováricas predominantes: la fase folicular y la fase lútea. La fase folicular inicia con la regresión del cuerpo lúteo (CL) y finaliza con la ovulación. Durante esta fase ocurre la maduración folicular, por lo que el esteroide gonadal predominante es el estradiol (E<sub>2</sub>). La fase lútea se refiere a la etapa del ciclo en la cual se forma y tiene su mayor funcionalidad el CL, por lo tanto, la hormona dominante es la progesterona (P<sub>4</sub>) (Rosell, 2004).

##### 2.1.1. Fase folicular

###### Proestro

Este período, cuya duración es de 2 a 3 días, comienza con la regresión del CL del ciclo anterior y finaliza con la manifestación del estro. Al producirse la destrucción

del CL se produce una caída en los niveles de  $P_4$  y posteriormente una pérdida de tejido luteal, siendo la prostaglandina  $2\alpha$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) de origen uterino el principal luteolítico. Como consecuencia de la caída de los niveles de  $P_4$ , disminuye el efecto de retroalimentación negativa que dicha hormona tenía a nivel hipotalámico y comienzan a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas gonadotrópicas (Hormona folículo estimulante (FSH) y hormona Luteinizante (LH)), se estimula el crecimiento folicular con el desarrollo de uno o más folículos dominantes y el aumento en los niveles de  $E_2$ . Cuando los estrógenos alcanzan cierto nivel, se estimula la receptividad al macho y comienza el período de estro (Hafez y Hafez, 2002).

### **Estro**

Es el periodo de receptividad sexual de la hembra, tiene una duración de 24 a 36 hrs en la borrega. Durante esta fase, los estrógenos en altas concentraciones alcanzan el umbral de estimulación del centro cíclico hipotalámico, estimulando a las neuronas hipotalámicas a producir el pico de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y en consecuencia el pico preovulatorio de LH que será responsable de la ovulación. Con respecto a la FSH, disminuye su secreción, consecuencia del efecto de retroalimentación negativa estrogénico y de la inhibina. La borrega normalmente ovula hacia el final del estro, unas 24 a 27 hrs después del inicio de este (Galina y Valencia, 2014).

### 2.1.2. Fase lútea

#### **Metaestro**

Dura alrededor de 2 días, esta etapa inicia cuando ha terminado la receptividad sexual y concluye en el momento en que hay un CL bien establecido. Corresponde al periodo de transición entre la predominancia estrogénica y el incremento en las concentraciones de  $P_4$ . El  $E_2$  y la inhibina disminuyen súbitamente después de la ovulación, permitiéndose el incremento en las concentraciones de FSH que causan el reclutamiento de la primera onda folicular (Ortega, 2006).

#### **Diestro**

Comienza en el día 5 del ciclo y termina con la regresión del CL sobre el día 16 o 17, se considera la etapa más larga del ciclo estral y se caracteriza por la plena funcionalidad del CL, abarcando desde que esta estructura es funcional hasta la destrucción del mismo. Durante esta fase, la  $P_4$  alcanza sus máximas concentraciones y ejerce un efecto negativo en la liberación de LH, debido a que inhibe la formación de receptores hipofisarios a GnRH, así como la secreción de GnRH. Adicionalmente, se observan repetidos incrementos en la secreción de FSH con el consecuente aumento en el desarrollo folicular y las concentraciones plasmáticas de  $E_2$  e inhibina. Sin embargo, estos folículos no pueden concluir su maduración y sufren regresión (Galina y Valencia, 2014).

## 2.2. Anestro

Es el periodo de inactividad del ovario y de todo el aparato reproductor de la hembra. La conducta de la borrega es caracterizada por el rechazo de intervalos de cubrición y tiende a huir de los machos, sin embargo, durante el anestro las concentraciones de P<sub>4</sub> en plasma permanecen basales (Arroyo, 2011).

El conocimiento del ciclo estral es la base para implementar protocolos hormonales que induzcan y sincronicen el estro de manera eficiente, además de que permite realizar una evaluación del “status” reproductivo y productivo del sistema en general, y mejorar los indicadores productivos que inciden directamente en la rentabilidad de un sistema de producción.

## III. Dinámica folicular

El ovario es el órgano esencial de la reproducción en la hembra y realiza tanto funciones exocrinas (liberación de óvulos) como endocrinas (esteroidogénesis). La funcionalidad del ovario puede medirse a través de sus dinámicos cambios estructurales y fisiológicos dentro de los que se encuentran estructuras tales como folículos y cuerpos lúteos (Hafez y Hafez, 2002).

La dinámica folicular es el proceso de crecimiento que experimenta el folículo desde el momento que deja la población de reserva, constituida por folículos primordiales, hasta su ovulación o atresia (Espinoza *et al.*, 2007). El crecimiento y el desarrollo de los folículos ováricos requieren una serie de eventos coordinados que inducen

cambios morfológicos y funcionales dentro del folículo, lo que lleva a la diferenciación celular y el desarrollo de los ovocitos (Bonnet *et al.*, 2008).

Los ovocitos presentes en el ovario adulto se originan de un número definitivo de células germinales primordiales derivadas en el endodermo del saco vitelino (Picton, 2001), estas células proliferan y migran hacia las crestas genitales ubicadas en los mesonefros del embrión donde se diferencian en ovogonias y continúan proliferando formando grupos, los cuales son rodeados por células provenientes del mesonefros formando los cordones sexuales primitivos (Lattanzi, 2010). En los mamíferos, la hembra cuenta con una reserva de ovocitos que han interrumpido su crecimiento en los folículos primordiales, única fuente de ovocitos para ser ovulados durante su vida reproductiva. Los folículos primordiales se forman durante la vida fetal en ovinos a los 70 días y en bovinos a los 130 días (Fortune, 2002).

Un folículo primordial, está compuesto de un ovocito cuyo crecimiento se ha detenido (poco antes del nacimiento) en la fase de diploteno de la profase I de la meiosis y está rodeado por una sola capa plana de células escamosas de la pregranulosa. Cuando los folículos salen de la reserva, pasan de ser folículos primordiales a folículos primarios en transición y las células escamosas de la pregranulosa que los rodean se transforman en células cuboidales granulosa que empiezan a proliferar (Nilsson y Skinner, 2001).

Conforme los folículos continúan su desarrollo a través de estructuras primarias, secundarias y pre-antrales adquieren capas sucesivas de células granulosa, aumenta el tamaño del ovocito y se rodean de las células de la teca. Cuando la

reserva disponible de folículos primordiales se acaba, la función reproductiva culmina (Espinoza *et al.*, 2007).

El desarrollo de un folículo primordial hasta una estructura primaria de transición, al parecer está regulado por varios factores de crecimiento que actúan localmente dentro del ovario (Nilsson y Skinner, 2002). La regulación endocrina de la foliculogénesis envuelve a las gonadotropinas, además de hormonas y factores de crecimiento producidos localmente (Fortune *et al.*, 2004).

Existe evidencia (Hafez y Hafez, 2000; Galina y Valencia, 2014) de que la foliculogénesis es independiente de la hormona folículo estimulante hasta la etapa en que se forma el antro folicular, y se ha confirmado que la fase inicial de la foliculogénesis es estimulada por otros factores, mientras que el folículo antral requiere de gonadotropinas (Eppig, 2001).

El desarrollo folicular en hembras de diferentes especies se lleva a cabo en ondas y su número durante el ciclo estral es variable. En borregas se han observado de dos a tres ondas foliculares (Salas *et al.*, 2013). Independientemente de la especie y del número de ondas, cada una tiene tres fases: 1) reclutamiento, se refiere a la formación de una población de folículos antrales de donde uno o varios, dependiendo de la especie (monotoca o politoca), es seleccionado para la ovulación (Webb *et al.*, 2003), 2) selección, en la que un grupo de folículos es escogido para escapar del proceso de atresia y continuar creciendo (Ginther *et al.*, 2001), 3) dominancia, en la que uno o más folículos dependiendo de la especie, se desarrolla de forma más rápida que el resto, suprimiendo el crecimiento de los subordinados

e impidiendo el reclutamiento de un nuevo grupo de estructuras foliculares (Beg y Ginther, 2006).

El proceso gradual de desarrollo y diferenciación de un folículo, desde una estructura primordial hasta el folículo pre-ovulatorio, toma aproximadamente 6 meses en rumiantes, como el bovino y el ovino (Fortune, 2002).

El conocimiento de la dinámica folicular permite la implementación de protocolos hormonales para la inducción y sincronización del estro correctos, que no afecten el desarrollo folicular y permita en un desarrollo de folículos sanos con ovulaciones sincronizadas, mejorando así el desempeño reproductivo de la hembra.

#### **IV. Hormonas reproductivas y su función en el desarrollo folicular**

##### **4.1. Hormonas gonadotropicas**

La fase folicular es un período corto del ciclo estral que comprende el proestro y el estro, delimitados por el inicio de la regresión del cuerpo lúteo (CL) hasta la ovulación (Peter *et al.*, 2009). Esta fase se caracteriza por la liberación de gonadotropinas, así como por el cambio en el predominio hormonal, al disminuir la progesterona ( $P_4$ ) y aumentar el estradiol ( $E_2$ ) (Roelofs *et al.*, 2010). Las gonadotropinas pertenecen a una familia de hormonas diméricas glicoproteicas, entre las que se encuentran la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), secretadas por el lóbulo anterior de la hipófisis (Bernard *et al.*, 2010; Kaiser, 2011).

La función de FSH es promover el crecimiento y la maduración folicular, ya que promueve la proliferación de las células de la granulosa (Fortune, 2003; Webb *et al.*, 2004; Salvetti *et al.*, 2010), por su parte, la LH actúa conjuntamente con FSH para inducir la secreción de estrógeno del folículo ovulatorio y es la responsable de la ruptura de la pared folicular y de la ovulación, además, de que participa en la maduración del ovocito (Hafez y Hafez, 2002). En ausencia de una estimulación gonadotrópica adecuada, los folículos no continúan su desarrollo más allá de la etapa antral temprana. En bovinos y ovinos, el crecimiento de los folículos hasta 2 y 3 mm de diámetro, no parece requerir soporte gonadotrópico agudo (Hunter *et al.*, 2004), por lo que se consideran relativamente independientes de las gonadotropinas hasta esta etapa (Bartlewski *et al.*, 2000).

El pico de FSH está asociado con el día del surgimiento de la onda folicular, cuando dicha concentración incrementa de 1.5 a 2 veces la concentración basal (Adams *et al.*, 2008). En borregas se han reportado picos de FSH entre 3 y 4 ng/mL (Toosi *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta que en rumiantes se presentan múltiples ondas foliculares, de 2 a 3 ondas en borregas (Salas *et al.*, 2013), se observa que las concentraciones basales de FSH que preceden a los picos relacionados con la onda ovulatoria, son más altas que en las anovulatorias en ovinos (Seekallu *et al.*, 2010). Dos días después del surgimiento de la onda folicular, decrece la concentración de FSH y comienza la desviación folicular, conocida comúnmente como la etapa de dominancia (Espinoza *et al.*, 2007; Peter *et al.*, 2009). Cuando el folículo dominante adquiere un diámetro de  $> 4$  mm en borregas (Hunter *et al.*, 2004), expresa

receptores de LH en las células de la granulosa y de la teca, además, inicia la producción de inhibina y estradiol ( $E_2$ ) entre otros factores intrafolículos (Ginther *et al.*, 1996; Beg y Ginther, 2006); es en este momento, cuando se transfiere la dependencia gonadotrópica del folículo de la FSH a la LH (Webb y Armstrong, 1998).

El patrón de secreción de la LH tiene tres características que se evidencian durante el ciclo estral. Dichas características son concentración, amplitud y frecuencia, las cuales varían durante el ciclo (Forde *et al.*, 2011), ya que son altamente dependientes de las concentraciones circulantes de  $P_4$  y  $E_2$  (Duggavathi *et al.*, 2005). Altas concentraciones de  $P_4$  producidas por un CL funcional suprimen la frecuencia de los pulsos de LH (Uribe *et al.*, 2011), mientras que la presencia de altas concentraciones de  $E_2$  induce la liberación de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) desde el hipotálamo, lo que resulta en un pico de LH (Forde *et al.*, 2011), de amplitud y frecuencia suficiente para estimular la maduración final del folículo dominante y la posterior ovulación. El fenómeno de la ovulación es altamente variable y se presenta, aproximadamente, después del pico de LH, a las 14 horas en borregas (Bartlewski *et al.*, 2011).

La frecuencia de los pulsos de LH disminuye ante una alta concentración plasmática de  $P_4$  durante la fase folicular, ya sea endógena (Robinson *et al.*, 2006; Uribe *et al.*, 2010) o exógena (Uribe *et al.*, 2008) es decir, cuando se administran dosis altas de progestágenos sintéticos. Un pulso insuficiente de LH no estimula la ovulación, ni el cambio en la dinámica celular intrafolicular, lo que puede provocar la formación de

folículo persistente (Hatler *et al.*, 2008). Por su parte, el E<sub>2</sub> también puede alterar la amplitud de la presentación del pulso de LH (Uribe *et al.*, 2010), que a su vez interfiere con la apropiada maduración y ovulación del folículo (Veiga *et al.*, 2006; Bishop y Stormshak, 2008).

#### 4.2. Hormonas esteroideas

El E<sub>2</sub> y la P<sub>4</sub> son hormonas esteroideas derivadas de un precursor común, el colesterol; el cual, en los folículos mayores, es catalizado y convertido a pregnenolona por la enzima P450 (P450<sub>scc</sub>) o desmolasa, localizada en el interior de la membrana mitocondrial celular (Payne y Hales, 2004). La pregnenolona posee dos residuos hidrofílicos, haciéndola más móvil a través de la célula que el colesterol. Lo anterior permite que la pregnenolona se difunda fuera de la mitocondria hacia el retículo endoplasmático, donde es convertida a P<sub>4</sub> por la enzima 3β hidroxisteroide deshidrogenasa (3βHSD) (Díaz *et al.*, 2002). La unión de la LH con sus receptores en las células de la teca conduce a la conversión de la P<sub>4</sub> a andrógenos, a través de una serie de reacciones catalíticas (Svechnikov y Söder, 2008). Después, los andrógenos se difunden a las células de la granulosa y son convertidos a estrona y E<sub>2</sub> por la acción de la enzima aromatasa (P450<sub>arom</sub>) (Payne y Hales, 2004; Young y McNeilly, 2010).

El E<sub>2</sub> es el estrógeno biológicamente activo producido por el ovario con pequeñas cantidades de estrona, en cuanto a la P<sub>4</sub>, es el progestágeno natural más prevalente secretada por el CL, la placenta y la glándula suprarrenal. La P<sub>4</sub> es estimulada por

la LH y es transportada en la sangre por una globulina de enlace, al igual que los estrógenos (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2014).

El aumento en la concentración periférica del E<sub>2</sub> es la característica principal del estro, la parte final de la fase folicular (Peter *et al.*, 2009). El E<sub>2</sub> tiene una acción local en los folículos ováricos, al favorecer el crecimiento de las células de la granulosa (Fortune, 2003) y al influir sobre la actividad enzimática de la 3β-HSD (Guo *et al.*, 2001). Así mismo, el E<sub>2</sub> favorece la expresión de receptores para P<sub>4</sub> a nivel del útero y el istmo uterino (Valle *et al.*, 2007). Además, ejerce un sistema de retroalimentación positivo sobre el eje hipotálamo-hipofisiario, influyendo sobre la secreción de gonadotropinas (FSH y LH), siendo responsable de la expresión del comportamiento estral, fundamental para la reproducción (Roelofs *et al.*, 2010; Forde *et al.*, 2011; Fatet *et al.*, 2011). Aunque la mayor cantidad circulante de E<sub>2</sub> se presenta durante el estro, se puede observar, en borregas que existen leves incrementos periódicos durante la fase lútea, unidos a los cambios en la población folicular (Uribe *et al.*, 2010; Uribe *et al.*, 2011; Letelier *et al.*, 2011).

En estudios recientes (Kubo *et al.*, 2015) mencionan que el E<sub>2</sub> presente en líquido folicular y plasma sanguíneo participa en el desarrollo y maduración del ovocito, así como, en la expansión de las células del *cumulus*. Por su parte Waturu *et al.* (2014) reportan que concentraciones elevadas de E<sub>2</sub> en el desarrollo folicular temprano retrasa el crecimiento de los folículos, suprime la proliferación de células de la granulosa y formación del antro, además, retrasa o inhibe la maduración meiótica del ovocito; durante el desarrollo folicular final (folículo pre-ovulatorio) acelera la

maduración nuclear y citoplasmática del ovocito al incrementar la secreción pulsátil de LH (Kim *et al.*, 2011).

Después de la ovulación, se da inicio a la fase lútea, el periodo más largo, ya que comprende aproximadamente el 80% del ciclo estral, en borregas tiene una duración promedio de 12 a 14 días (Peter *et al.*, 2009). En esta fase disminuye la concentración de E<sub>2</sub>, lo que resulta en la liberación de la acción luteotrófica de la LH (Guo *et al.*, 2001), permitiendo que su pico luteinize las células de la teca y de la granulosa e inicie la formación del CL (Sangha *et al.*, 2002). Lo anterior es un proceso complejo, que involucra la remodelación del tejido estromal, vascular, la transformación celular y bioquímica (Mann, 2009), favoreciendo la adquisición de las enzimas P450<sub>scc</sub> y 3β-HSD por parte de las células granulosas luteinizadas (Díaz *et al.*, 2002; Arashiro *et al.*, 2010), lo que altera la esteroidogénesis al incrementar la biosíntesis de P<sub>4</sub>. El aumento inicial de la concentración plasmática de P<sub>4</sub> depende de la cantidad de tejido esteroideogénico y su capacidad de biosíntesis (Mann, 2009), lo que está relacionado con el tamaño del CL (Rekawiecki *et al.*, 2010).

Dicho tamaño se incrementa a lo largo del desarrollo luteal, mediante el aumento de la vascularización, la hipertrofia de las células de la granulosa luteinizadas y la hiperplasia de los fibroblastos del tejido conectivo (Arashiro *et al.*, 2010). La tasa de crecimiento del CL es mayor en la etapa temprana de la fase lútea, donde el diámetro máximo se alcanza en borregas y cabras, de 6 a 9 días después de la ovulación (Ishwar, 1995; Mann, 2009;). posteriormente, la concentración de P<sub>4</sub>

presenta una fase estática, donde se mantiene constante hasta la regresión del CL (Henaó *et al.*, 2003).

La P<sub>4</sub> tiene como blanco, principalmente, el eje hipotálamo-hipofisario y el tracto reproductivo (Mann, 2009), donde actúa después de unirse a su receptor intracelular específico (PR) (Jenkin y Young, 2004). En los tejidos ováricos se han reportado PR, donde la P<sub>4</sub> contribuye con la angiogénesis folicular esencial para el desarrollo del folículo preovulatorio (Morris y Diskin, 2008).

La importancia de conocer la función de las hormonas reproductivas en el desarrollo folicular, está en la necesidad de realizar tratamientos hormonales eficientes, que aseguren las concentraciones necesarias de hormonas reproductivas, para el desarrollo de folículos sanos, producto de una ovulación sincronizada y de promedios aceptables de fertilidad, que se traduzcan en un óptimo desempeño reproductivo.

## **V. Ecografía**

La ecografía es una técnica que permite la visualización de los órganos internos. Su aplicación a partir de la década de los 80's ha sido uno de los pasos más importantes para el estudio y comprensión de los eventos normales que ocurren durante el ciclo estral y la gestación, a tal punto que es considerado por muchos investigadores como el avance más importante en la biología reproductiva desde la utilización del radioinmunoensayo (RIA) para medir valores hormonales circulantes en el animal (Perea, 2005; Bartlewski *et al.*, 2011 ).

Todos los ecógrafos son de tiempo real, están compuestos por el transductor y una consola. El transductor está integrado por una gran cantidad de pequeños cristales que vibran al ser estimulados por la corriente eléctrica proveniente de la consola, resultando en la emisión de ondas de sonido que viajan a través de los tejidos en diferentes ángulos, de acuerdo a la orientación dada al transductor. De esta manera, los tejidos tienen la capacidad de reflejar o propagar las ondas de sonido y el eco resultante será recibido por los cristales que transformarán las vibraciones en corriente eléctrica, la cual irá a la consola para ser transformada en imágenes. La intensidad y frecuencia de las ondas son directamente proporcionales a la distancia y la consistencia de los tejidos. El color de las imágenes se traducirá en distintos tonos de gris, desde el blanco al negro. Los líquidos (folículo, amnios) se ven en la pantalla de color negro debido a que no reflejan ondas y se llaman anaecogénicos. Los tejidos densos como los huesos reflejan las ondas, que se ven de color blanco y se les llama hiperecogénicos. Las otras estructuras tienen diferentes tonos de gris dependiendo de su densidad (Caccia y Bo, 2000).

Según su disposición se encuentran transductores lineales o sectoriales. Si bien se aconseja el uso de transductores lineales para monitorear la reproducción. La resolución de la imagen y la profundidad de escaneo dependen de la frecuencia de los transductores. A mayor frecuencia, mayor definición, pero menor penetración. En la práctica diaria, para la exploración de los órganos genitales y diagnóstico de gestación se utilizan transductores con frecuencias de 3.5 o 5 MHz, para una evaluación más minuciosa de la actividad ovárica o para la punción y aspiración

folicular pueden utilizarse frecuencias mayores como 7.0 ó 10 MHz (Quintela *et al.*, 2006).

La mayor ventaja de la ultrasonografía es la posibilidad de realizar un seguimiento dinámico y periódico en el mismo animal. Esto ha permitido llegar a descubrimientos de gran importancia para la reproducción animal, como determinar que los folículos del ovario se desarrollan en ordenados procesos llamados ondas de desarrollo folicular. Este descubrimiento ha permitido una mayor comprensión de los eventos que normalmente ocurren durante el ciclo estral y ha llevado a poder aumentar el potencial reproductivo en programas de sincronización de estros e inseminación artificial y en esquemas de mayor tecnología como la superovulación, la transferencia de embriones y la aspiración de folículos para fertilización *in vitro* (Ganchou, 2005; Ballenda, 2009).

## **VI. Acetato de melengestrol (MGA)**

El acetato de Melengestrol (MGA) es un esteroide progestacional sintético de administración oral, utilizado como promotor del crecimiento (Shen, 2013), por su capacidad de inhibir la conducta estral en rumiantes, se utiliza como inductor y sincronizador de estros (Perry *et al.*, 2005).

EL MGA actúa a nivel hipotálamo; inhibe el pico de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y el pico de la hormona luteinizante (LH) de acuerdo a la dosis administrada, ya que dosis altas inhiben la producción total de LH, mientras dosis bajas aumenta su frecuencia pulsátil (Kojima *et al.*, 2003). Es importante

mencionar que a dosis de 0.22 mg en ovinos no suprime la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) (Bleach *et al.*, 2004; Salas *et al.*, 2013) y las ondas foliculares siguen emergiendo. Por lo que, al suspender el tratamiento se elimina el bloqueo del pico de GnRH, lo que desencadena el proceso hormonal característico del ciclo estral (Imwalle *et al.*, 2002).

Los tratamientos con MGA para la inducción y sincronización de estros administrados por periodos menores a la vida media de un cuerpo lúteo (CL) (borregas de 12-14 días) son denominados genéricamente tratamientos cortos (Farfán *et al.*, 2009) y por periodos mayores a la vida media del CL son denominados tratamientos prolongados (Ungerfeld y Rubianes 2002). Las dosis utilizadas en ovinos y cabras de este progestágeno van de 0.11 a 0.5 mg/animal/día durante periodos de 7 a 17 días, observándose mejores resultados en la inducción y sincronización del estro cuando se administra a dosis de 0.22 mg/animal/día por periodos prolongados (Rojo y Salas, 2015).

Existe una diversidad de estudios, en los cuales el MGA se ha utilizado para el control reproductivo en pequeños rumiantes, ya sea durante tratamientos cortos o prolongados y con diferentes dosis. Giménez *et al.* (2005) al determinar la eficiencia del MGA en la inducción y sincronización de estros en 78 borregas, divididas en dos grupos; MGA y Control. Al grupo MGA se le administro 0.25 mg de MGA/borrega/día durante 9 días, observaron que el porcentaje de borregas que presentaron estro fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) para MGA (80%) en comparación con las

borregas del grupo control (45%). Estos autores concluyen que el MGA es eficaz para la inducción y sincronización de estros.

Salas *et al.* (2011) al evaluar el efecto del MGA sobre la presentación de estros y tasa de gestación en 20 borregas de pelo, divididas en dos grupos, a un grupo se le administró 0.44 mg de MGA/borrega/día vía oral durante 17 días y el otro grupo se utilizó como testigo. Observaron que el 100% de las borregas tratadas con MGA y el 50% del grupo testigo presentaron estro. En el grupo experimental hubo una tasa de gestación de 70% y en el grupo testigo de 50%. Concluyen que la administración de 0.44 mg de MGA durante 17 días inhibe el estro y una vez retirado el tratamiento se manifiesta el estro sincronizado, obteniendo una tasa de gestación aceptable por monta natural.

Por su parte, Emsen *et al.* (2011) al evaluar el efecto del MGA en la presentación de estros y tasa de gestación en 415 borregas, las cuales fueron asignadas aleatoriamente a dos grupos. Grupo 1 (n=286) se administró 0.125 mg de MGA/borrega vía oral dos veces al día, durante 9 días. Grupo 2 (n=130) se les administró 0.125 mg de MGA/borrega vía oral, dos veces al día durante 12 días. Observaron que el porcentaje de estros en el grupo 1 fue de 62% y para el grupo 2 de 89%. La tasa de gestación fue de 41% para el grupo 1 y de 44% para el grupo 2. Por lo que, concluyen que la administración de MGA a corto y largo plazo (9-12 días) afecta la tasa de gestación.

Castonguay *et al.* (2002) al evaluar el tiempo de respuesta del pico de LH y la tasa de fertilidad en 24 borregas, a las cuales administraron una dosis de 0.25

mg/borrega/día por 12 días. Durante el tratamiento no hicieron ninguna observación, pero encontraron que el intervalo medio entre la última dosis de MGA y el pico de LH fue de  $60.0 \pm 12.6$  h y la tasa de fertilidad fue de 45%. Estos mismos autores, al utilizar una dosis de 0.4 mg/borrega/día, observaron que el intervalo medio entre la última dosis de MGA y el pico de LH fue de  $64.0 \pm 13.6$  h y la tasa de fertilidad fue de 45%. Concluyendo que la administración de MGA por un periodo prolongado afecta el porcentaje de fertilidad.

Quispe *et al.* (1995) determinaron la dosis óptima de un tratamiento corto de MGA, para la inducción y sincronización de estros en 37 borregas. Utilizaron una dosis de 0.11 mg y una dosis de 0.22 mg de MGA durante 9 días. El porcentaje de estros para las borregas a las que se les administro 0.11 mg fue de 67% y para las de borregas de 0.22 mg fue de 90%. Estos autores reportan que la administración de 0.22 mg de MGA durante 9 días constituye un método sumamente eficiente, práctico y de bajo costo para la sincronización de estros.

En otro estudio, pero en cabras (Carrillo *et al.*, 1995), al administrar una dosis de 0.11 mg/cabra/día mezclado en el alimento, durante 10 días, observaron que el porcentaje de hembras que manifestaron estro fue de 75%. Resultados similares encontraron Jackson *et al.* (2001), al utilizar 25 cabras, a las que se les administro 0.25 mg/cabra/día, durante 10 días. Observaron que el 84% de las cabras manifestaron estro. En ambos estudios reportan que el MGA es eficiente en la inducción y sincronización de estros.

Valenzuela *et al.* (2004) al evaluar el efecto del MGA sobre la inducción de estros y porcentaje fertilidad en 50 cabras, a las cuales administraron una dosis de 0.5 mg/animal/día, durante 10 días; obtuvieron una respuesta de 73.5% de estro, con una tasa de fertilidad de 55.1%; Jackson *et al.* (2006) al estudiar el efecto del MGA y el retiro temporal del cabrito (4 semanas después del parto) sobre la inducción y sincronización de estros. Utilizaron 35 cabras, divididas en dos grupos: Grupo 1 (n=22) se les administro 0.25 mg de MGA/cabra/día durante 10 días y el Grupo 2 (n=13) los cabritos se separaron de sus madres durante 2 días. Las cabras con MGA se aparearon aproximadamente 2.1 días antes que el grupo control. El porcentaje de cabras que se aparearon fue del 84% frente a 100%, la tasa de gestación fue de 58% contra 90% y la tasa de partos fue 58% contra 90% para el Grupo 1 (MGA) frente al Grupo 2 respectivamente ( $p < 0.005$ ). Estos autores reportan que el uso del MGA es eficaz en la inducción y sincronización del estro sin embargo, se necesitan más estudios para superar la disminución de la fertilidad registrada tras el uso de dicho progestágeno.

Alvares *et al.* (1998) al realizar un estudio en 30 cabras para determinar el efecto del MGA mas una inyección de 300 UI de gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG) al finalizar el tratamiento, sobre la inducción y sincronización de estros, administraron una dosis de 0.22 mg/cabra/día, durante un periodo de 9 días; observaron que el 100% de las cabras manifestaron estro con su subsecuente ovulación, estos autores sostienen que la administración de MGA en combinación con PMSG, es eficaz en la inducción y sincronización de estros.

Martínez *et al.* (2007) al comparar la relación entre el estro, el pico de LH y la ovulación en 12 cabras sincronizadas con una dosis de 0.22 mg de MGA/cabra/día durante 12 días, el último día del tratamiento se les aplicó una dosis de 75 mg de prostaglandina 2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) observaron que el 100% de las cabras mostraron estro 86.7 $\pm$ 3.9 hrs después de suspendido el tratamiento y el intervalo entre el pico de LH y la ovulación fue de 26.2 $\pm$ 1.1 hrs; concluyen que la administración de MGA representa una seria limitación en programas de sincronización de estros en donde el apareamiento se realiza sobre una fase de tiempo fijo.

Por su parte, Salas *et al.*, (2014) al determinar el efecto de un tratamiento prolongado con MGA sobre la sincronización de la actividad ovárica y tasa de gestación en 10 cabras púberes de la raza Saanen, a las que se les administró una dosis de 0.22 mg de MGA/cabra/día, durante 46 días, observaron que el porcentaje de cabras que manifestaron estro fue del 100%, presentando una tasa de gestación del 90%. Estos autores sostienen que el uso del MGA a dosis de 0.22 mg/animal/día en cabras púberes durante un tratamiento prolongado, sincroniza la actividad ovárica, agrupando estros en un periodo de 5 días y se obtiene un elevado porcentaje de fertilidad por monta natural.

El MGA, también ha sido utilizado para inducir la actividad ovárica en animales pre-púberes, en un estudio Ebru *et al.* (2005) al utilizar 28 corderas pre-púberes Awassi, divididas en dos grupos (MGA; n=14) y (Control; n=14), el tratamiento para el grupo MGA, consistió en la administración de 0.125 mg/cordera dos veces al día, durante un periodo de 12 días. Se realizaron exámenes laparoscópicos los días 7 y 8

después de suspendido el tratamiento. La inducción de la actividad ovárica fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) para el grupo MGA (56%) en comparación con el grupo Control (11%); concluyendo que el MGA acelera el crecimiento folicular a fase pre-ovulatoria, presentándose la pubertad a los 9 meses de edad en corderas Awassi.

Además, el MGA ha sido utilizado para evaluar su efecto principal, que es inhibir la ovulación, Salas *et al.* (2014) en 20 borregas administraron una dosis intermedia de 0.22 mg de MGA/borrega/día, durante 17 días; en el periodo de dosificación la actividad ovárica fue evaluada por ecografía, observando que la administración de la dosis intermedia tuvo un efecto supresor de la ovulación en el 100% de las borregas, presentando una dinámica folicular expresada en 2 y 3 ondas foliculares. En los diferentes estudios mencionados anteriormente se observa que cuando el MGA es administrado por periodos prolongados se obtiene una mayor respuesta a la inducción y sincronización del estro. Esto se debe, a que en borregas con actividad ovarica, la administración de MGA debe tener una longitud suficiente para permitir que ocurra la lisis del CL en forma natural, independientemente en la etapa del ciclo estral en la que este se lleve a cabo, ya que si el animal se encuentra en fase folicular al iniciar el tratamiento (*proestro, estro*), el progestágeno bloquea la ovulación, por lo que no se forma el CL. Si se encuentra en etapa de *metaestro*, la formación del CL se altera, acortando su vida media. Si la etapa del ciclo al inicio del tratamiento coincide con el *diestro*, el CL sufre luteólisis al momento que correspondería naturalmente, sin resultar afectado por el tratamiento y finalmente si

el animal se encuentra en anestro se induce el desarrollo folicular (Galina y Valencia, 2014).

Sin embargo, el resultado en la fertilidad es variable (25 a 85%) (Windorski *et al.*, 2008); esto se asocia a las dosis utilizadas del progestágeno, ya que suelen ser menos eficaces que la progesterona ( $P_4$ ) endógena (de un CL) en la supresión de secreción de LH (Colazo *et al.*, 2007; García *et al.*, 2009).

Vinoles *et al.* (2001) en ovinos reportan que los niveles periféricos de  $P_4$ , ya sea endógena o exógena regulan los patrones de crecimiento folicular por medio de la retroalimentación negativa hacia la secreción pulsátil de LH. Estudios en bovinos reportan que cuando se administran dosis altas de progestágenos sintéticos, la supresión de LH puede ser tan intensa que disminuye su concentración y presenta un efecto negativo en el reclutamiento y desarrollo folicular; cuando se administran dosis bajas, se genera un incremento en la frecuencia de pulsos de LH que aumentan su concentración y desencadena el desarrollo de folículos persistentes (Rhodes *et al.*, 2002; Kojima *et al.*, 2003).

Sin embargo, en borregas no existen estudios que describan que es lo que sucede en la dinámica folicular durante y después de la administración de tratamientos prolongados con progestágenos sintéticos a diferentes dosis. La importancia de evaluar su efecto radica en que puede estar incidiendo en la variabilidad que existe en la fertilidad y representar una alternativa que permita comprender los mecanismos ováricos cuando se administra dicho progestágeno a diferentes dosis

para el control reproductivo, además de ayudar a diseñar estrategias para mejorar la fertilidad en los sistemas de producción ovina.

## VII. Hipótesis

- La administración de una dosis de 0.11 mg de MGA/borrega/día durante un tratamiento prolongado (17 días) causa el desarrollo de folículos persistentes y disminuye la fertilidad.
- La administración de una dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día durante un tratamiento prolongado (17 días) permite una dinámica folicular normal en ondas, sin afectar la fertilidad.
- La administración de una dosis de 0.5 mg de MGA/borrega/día durante un tratamiento prolongado (17 días) inhibe el desarrollo folicular sin disminuir la fertilidad.

## VIII. Objetivo general

Evaluar el efecto del acetato de melengestrol (MGA) en la dinámica folicular, estro y fertilidad en borregas.

## IX. Objetivos particulares

- Evaluar la dinámica folicular hasta la ovulación de borregas tratadas con MGA a dosis de 0.11, 0.22 y 0.5 mg.
- Determinar el número de ondas foliculares durante el tratamiento con MGA a dosis de 0.11, 0.22 y 0.5.
- Evaluar el porcentaje de inducción y sincronización de estros en borregas tratadas con MGA a dosis de 0.11, 0.22 y 0.5 mg.

- Evaluar el porcentaje de fertilidad en borregas tratadas con MGA a dosis de 0.11, 0.22 y 0.5 mg.

## **X. Material y métodos**

Para cumplir con los objetivos de este trabajo, se realizaron dos experimentos.

### **10.1. Experimento 1**

Efecto del MGA en la dinámica folicular durante el tratamiento y pos-tratamiento hasta la ovulación.

#### **10.1.1. Localización**

El trabajo se realizó en las instalaciones del sector ovino de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, localizado en el municipio de Tarimbaro, Michoacán en el kilómetro 9.5 de la carretera Morelia-Zinapécuaro. Entre los paralelos 19°42'00" de altitud norte y los meridianos 101°11'00" y de longitud oeste 101°30'32" a una altura de 1880 MSNM y a una temperatura de 26°C con una precipitación media anual de 762.1 mm (INAFED, 2017).

#### **10.1.2. Animales y diseño experimental**

El trabajo se realizó del mes de septiembre a diciembre de 2016, se utilizaron 33 borregas de encaste Pelibuey-Katahdin no gestantes y con actividad ovárica, con una condición corporal promedio de  $3.07 \pm 0.3$  puntos (escala de 1 a 5),  $40.3 \pm 4.9$  kg de peso,  $4.6 \pm 1.7$  años de edad y  $4.5 \pm 2.4$  partos.

Antes del inicio del experimento a todas las borregas se les realizó un diagnóstico de gestación vía rectal mediante un Ecógrafo en modo B (Draminski, modelo Animal Profi), provisto de un transductor sectorial de 3.5, 5.0 y 7 MHz, para determinar que las borregas no estuvieran gestantes y presentaran actividad ovárica. Posteriormente las borregas fueron apartadas en dos corrales de 12 m de largo por 12 m de ancho cada uno, se identificaron mediante arete, fueron desparasitadas y vitaminadas.

Las borregas fueron distribuidas en tres grupos mediante un diseño estratificado. Al grupo 1 se le administro una dosis de 0.11 mg de MGA/borrega/día, al grupo 2 una dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día y el grupo 3 una dosis de 0.5 mg de MGA/borrega/día, para los tres grupos el tratamiento se administró por un periodo prolongado (17 días). Todas las borregas recibieron el mismo manejo y fueron alimentadas con silo de maíz, pata de sorgo, sorgo molido, melaza y agua *ad libitum*. Cada kilogramo de MGA®-100 contiene; *Ingrediente activo*: acetato de melengestrol 220 mg; *ingredientes inactivos*: aceite mineral 1%, almidón 3%, harina de soya molida o gluten de maíz 95.98%, por lo que 0.5 gr de MGA®-100 contiene 0.11 mg del ingrediente activo, 1 gr contiene 0.22 mg y 2.27 gr contiene 0.5 mg respectivamente.

Durante el tratamiento y pos-tratamiento hasta la ovulación o atresia del folículo pre-ovulatorio a las borregas de los tres grupos se realizó el seguimiento de los ovarios vía transrectal para observar la dinámica folicular, utilizando el mismo ecógrafo con el transductor sectorial de 7.0 MHz. Las observaciones se realizaron con la borrega

en posición de cuadripedestación (de pie en sus cuatro miembros). Las heces fueron removidas manualmente del recto y posteriormente se introdujo gel hidrosoluble mediante una jeringa de 20 ml, con la finalidad de evitar daños a nivel de la mucosa rectal y mejorar la transmisión y calidad de la imagen ecográfica. Seguidamente la sonda fue colocada dentro del recto con el transductor perpendicularmente orientado hacia la pared abdominal.

Los folículos se identificaron como estructuras anaecogénicas (se observan de color negro en la pantalla del Ecógrafo) y se midieron colocando los calibradores (calipers) electrónicos en el límite ubicado entre la pared folicular y el estroma ovárico.

## **10.2. Experimento 2**

Efecto del MGA en la inducción y sincronización del estro y fertilidad.

### **10.2.1. Localización**

El trabajo se realizó en el Municipio de Alfajayucan, Hidalgo, México, el cual se localiza al occidente del estado, dentro del Valle del Mezquital, en las siguientes coordenadas; 20° 24' latitud norte y 99° 21' longitud oeste, a una altura de 1,880 metros sobre el nivel del mar (INAFED, 2017).

### **10.2.2. Animales y diseño experimental**

Se utilizaron 34 borregas de encaste Suffolk-Hampshire no gestantes y con actividad ovárica; con condición corporal de  $3.1 \pm 0.4$  puntos (escala de 1 a 5),  $56.7 \pm 7.1$  kg de peso y  $3.4 \pm 1.0$  años de edad. Las borregas fueron distribuidas al

azar en tres grupos: al grupo 1 (n=12); se administró una dosis de 0.11 mg de MGA/borrega/día, al grupo 2 (n=10) una dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día y al grupo 3 (n=12) una dosis de 0.5 mg de MGA/borrega/día, en los tres grupos el tratamiento se administró por un periodo prolongado (17días).

Las borregas de cada grupo permanecieron en un corral de 16 m de largo por 6 m de ancho, su alimentación fue a base de alfalfa, rastrojo de maíz y agua *ad libitum*. Antes del inicio del experimento se realizó un diagnóstico de gestación vía rectal mediante un Ecógrafo en modo B (Draminski, modelo Animal Profi), provisto de un transductor sectorial de 3.5, 5 y 7 MHz, para confirmar que las borregas no estuvieran gestantes y presentaran actividad ovárica.

Después de suspendido el tratamiento se introdujo el semental con las borregas, al cual se le realizó la técnica de crayoneo y se detectaron estros durante 10 días. Se realizaron diagnósticos de gestación 45 días después de la última monta, para lo cual se utilizó el mismo Ecógrafo a 3.5 y 5 MHz.

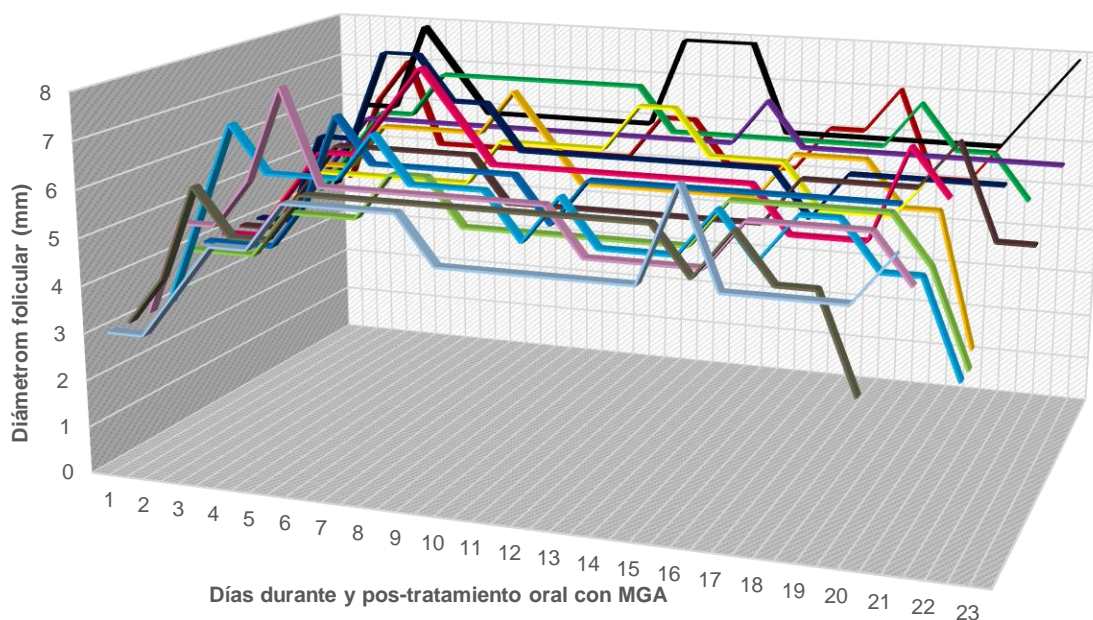
Los resultados de dinámica folicular, inhibición de la ovulación y estros fueron analizados mediante técnicas de estadística descriptiva y son presentados mediante cuadros de frecuencia y gráficos.

Los resultados de fertilidad fueron analizados mediante una prueba Chi-cuadrado.

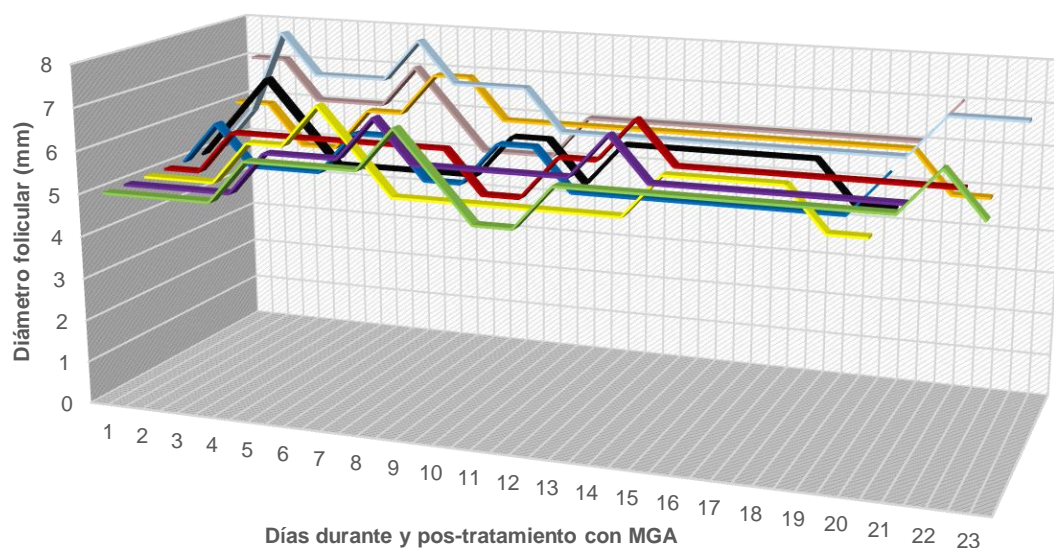
## XI. Resultados

### 11.1. Experimento 1

El 100% de las borregas tratadas con 0.11 mg de MGA/borrega/día durante 17 días desarrollaron folículos dominantes persistentes en los dos ovarios. Ninguna de las borregas ovuló durante el tratamiento. Los folículos que tenían un diámetro  $\leq 4$  mm al inicio del tratamiento continuaron su desarrollo hasta llegar a la etapa de dominancia ( $>$  a 4 mm de diámetro) y persistieron durante y pos-tratamiento hasta la ovulación o su atresia (Figura 1). Los folículos que tenían un diámetro  $> 4$  mm también persistieron durante y después del tratamiento hasta la ovulación o atresia (Figura 2). El diámetro de los folículos persistentes fue de  $5.8 \pm 0.6$  mm.



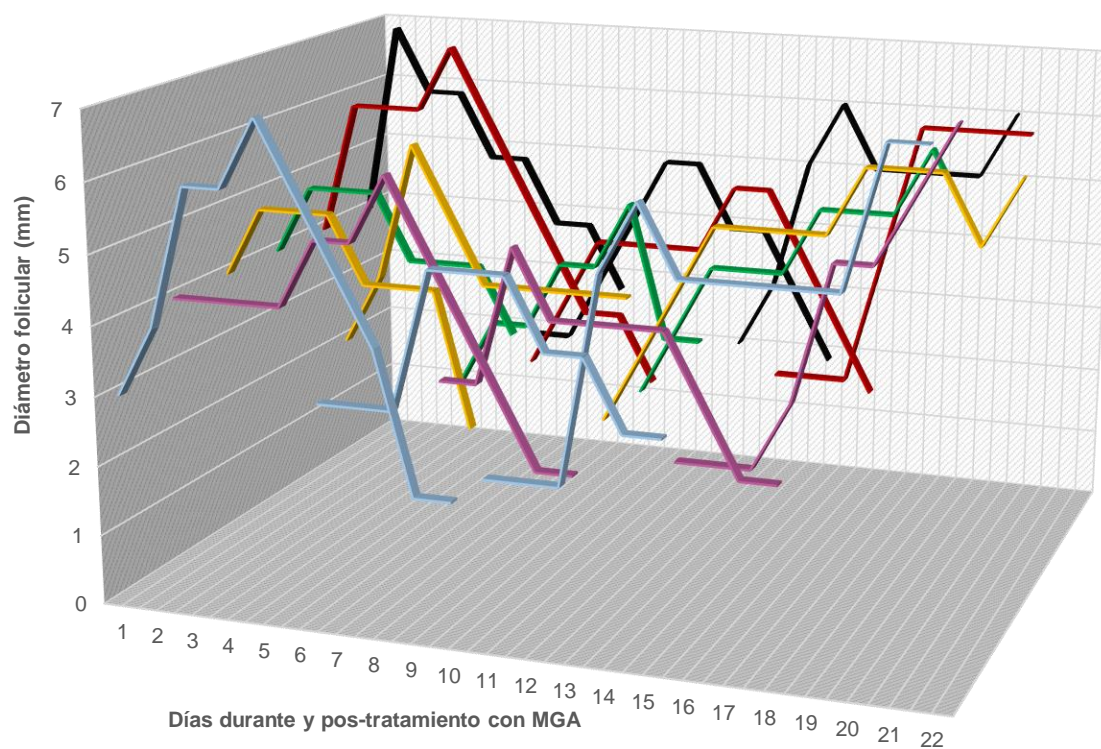
**Figura 1.** Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.11 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular  $\leq 4$  mm.



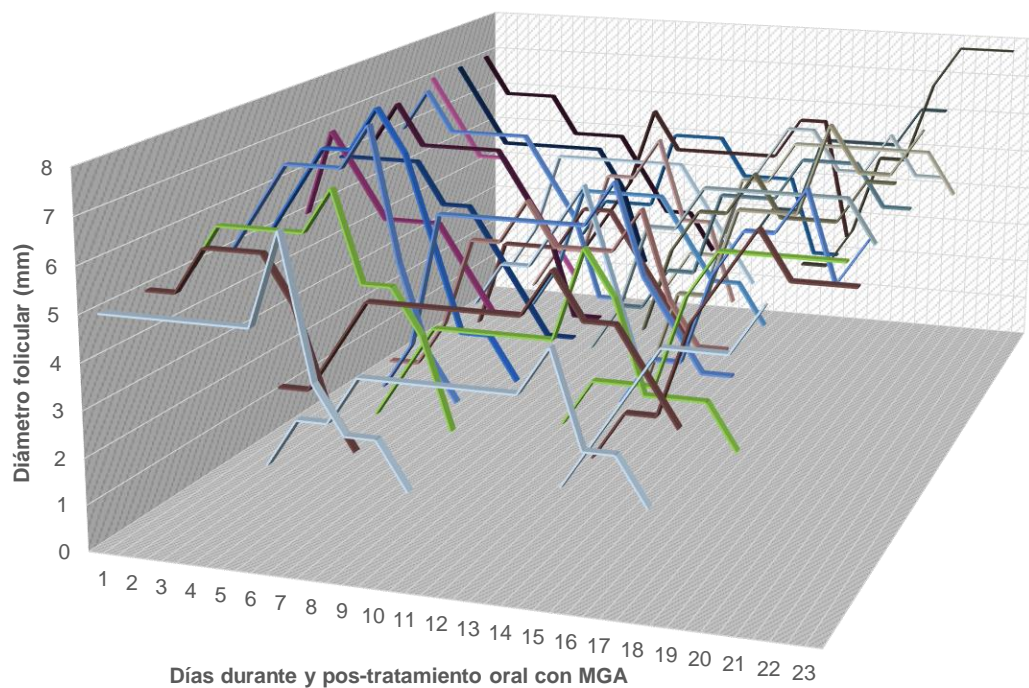
**Figura 2.** Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.11 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular > a 4 mm.

En las borregas que se les administró la dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día durante 17 días, el 75% presentaron 3 ondas foliculares y el 25% restante presentaron solo dos ondas durante y pos-tratamiento hasta la ovulación o atresia del folículo pre-ovulatorio; ninguna de las borregas ovuló durante el tratamiento. En las borregas que manifestaron tres ondas el surgimiento de la segunda onda fue a los  $5.8 \pm 1.0$  y de la tercera fue a los  $12.5 \pm 1.7$  días. En las borregas que presentaron dos ondas el surgimiento de la segunda onda fue a los  $7.6 \pm 1.8$  días. El diámetro del folículo dominante en las borregas que presentaron tres ondas foliculares fue de  $5.7 \pm 0.7$ ,  $5.2 \pm 0.4$  y  $5.7 \pm 0.6$  mm para la primera, segunda y tercera onda respectivamente, y en las borregas que mostraron 2 ondas fue de  $5.5 \pm 0.7$  y  $5.6 \pm 0.6$  mm para la primera y segunda onda respectivamente.

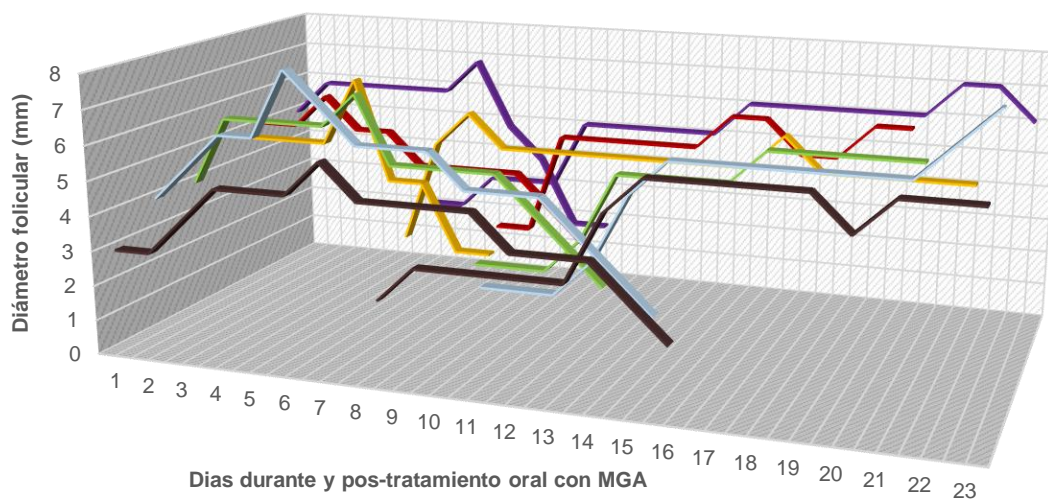
En la figura 3 se muestra la dinámica folicular en borregas que al inicio de tratamiento tenían un diámetro folicular  $\leq$  a 4 mm y que presentaron 3 ondas foliculares, en la figura 4 en las borregas que al inicio del tratamiento presentaban un diámetro folicular  $>$  a 4 mm y que de igual forma presentaron 3 ondas y en la figura 5 se observa la dinámica folicular de las borregas que mostraron dos ondas.



**Figura 3.** Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular  $\leq$  a 4 mm y que presentaron 3 ondas foliculares.



**Figura 4.** Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg) de borregas que al inicio del tratamiento tenían un diámetro folicular > a 4 mm y que presentaron 3 ondas foliculares.



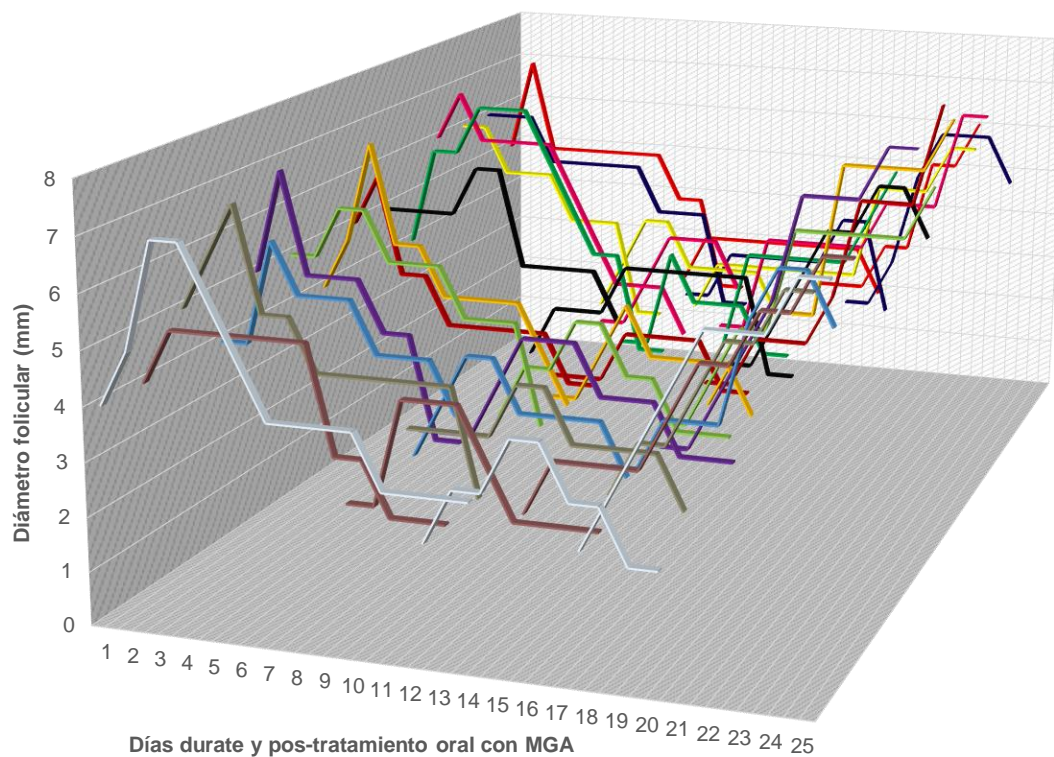
**Figura 5.** Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg) de borregas que presentaron 2 ondas foliculares.

En las borregas que se les administró la dosis de 0.5 mg de MGA/borrega/día durante 17 días el 81.81% presentaron 3 ondas foliculares y el 18.18% restante presentó dos ondas durante y pos-tratamiento hasta la ovulación o atresia del folículo pre-ovulatorio; ninguna de las borregas ovuló durante el tratamiento. En este grupo todas las borregas al inicio del tratamiento tenían folículos  $\geq$  a 4 mm.

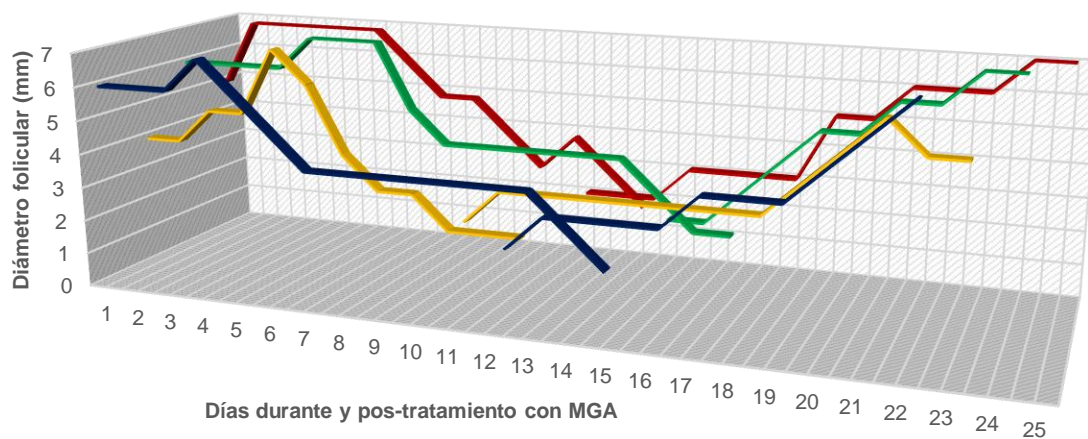
En las borregas que presentaron tres ondas foliculares se observó que el surgimiento de la segunda onda fue a los  $8.7 \pm 1.4$  días y de la tercera onda a los  $15.6 \pm 2.8$  días. En las borregas que presentaron dos ondas el surgimiento de la segunda onda fue a los  $12.2 \pm 2.0$  días.

En las borregas que manifestaron tres ondas foliculares el diámetro folicular máximo del folículo de mayor tamaño en la segunda onda fue de 4 mm y para las borregas que manifestaron dos ondas el diámetro folicular máximo fue igual (4mm) hasta la suspensión del tratamiento, ya que posteriormente se observó su desarrollo hasta folículos pre-ovulatorios.

El diámetro del folículo dominante en las borregas que presentaron tres ondas foliculares fue de  $5.5 \pm 0.7$  y  $6.0 \pm 0.8$  mm para la primera y tercera onda respectivamente. En las borregas que presentaron dos ondas fue de  $6.1 \pm 0.8$  y  $5.6 \pm 0.7$  mm para la primera y segunda onda respectivamente. En la figura 6 se observan la dinámica folicular en las borregas que presentaron tres ondas foliculares y en la figura 7 en las borregas que mostraron dos ondas.

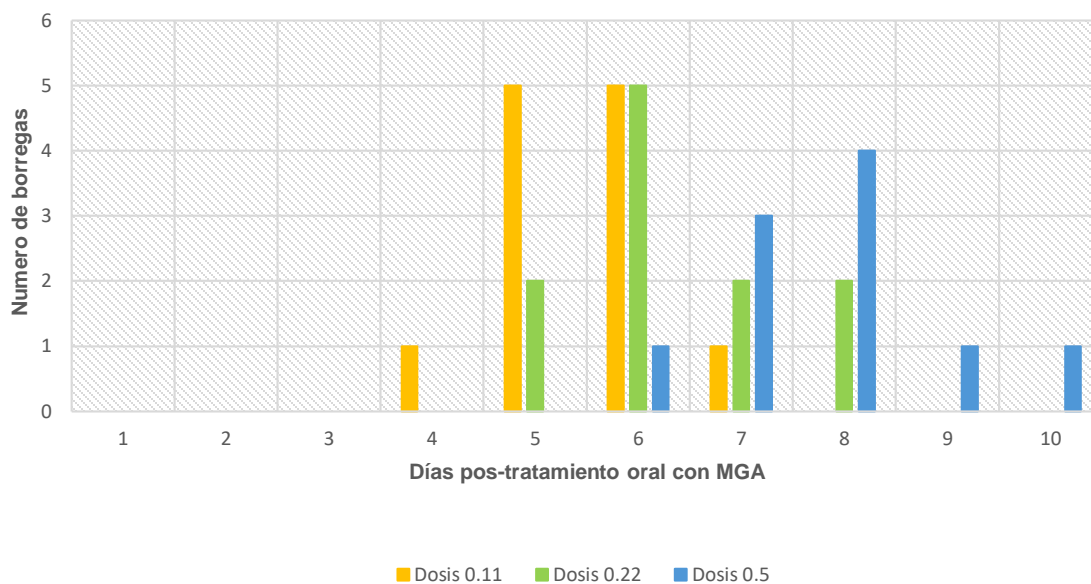


**Figura 6.** Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.5 mg) de borregas que presentaron 3 ondas foliculares.



**Figura 7.** Dinámica folicular durante y pos-tratamiento oral con MGA (0.5 mg) de borregas que presentaron 2 ondas foliculares.

En los grupos 1, 2 y 3 el 100% de las borregas tratadas ovularon, en el grupo 1 (0.11 mg de MGA) del día 4 a 7 pos-tratamiento, el mayor porcentaje de ovulación se observó del día 5 y 6. En el grupo 2 (0.22 mg de MGA) del día 5 al 8, el mayor porcentaje de ovulación fue el día 6 y por último en el grupo 3 (0.5 mg de MGA) del día 6 al 10, el mayor porcentaje de ovulación se observó el día 8 (Figura 8).



**Figura 8.** Distribución de ovulación pos-tratamiento oral con MGA a dosis de 0.11, 0.22 y 0.5 mg.

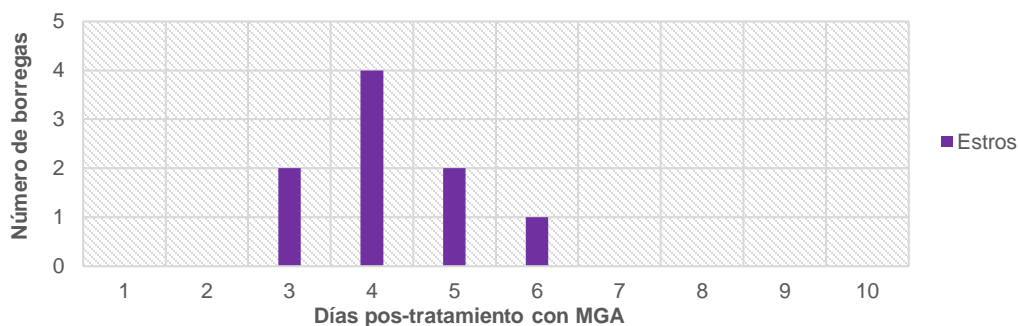
## 11.2. Experimento 2

En el grupo 1 (0.11 mg de MGA) el 75% de las borregas presentaron estro en un periodo de 4 a 6 días pos-tratamiento. La mayor presencia de estro se observó en el día 5 (figura 9).



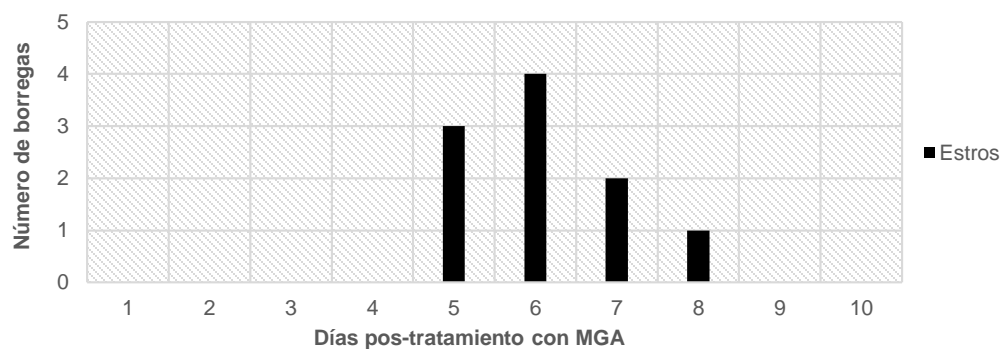
**Figura 9.** Distribución de la detección de estros pos-tratamiento oral con MGA (0.11 mg/17 días)

El grupo 2 (0.22 mg de MGA) el 90% de las borregas presentaron estro en un periodo de 3 a 6 días pos-tratamiento. Se observó mayor presencia de estro en el día 4 (figura 10).



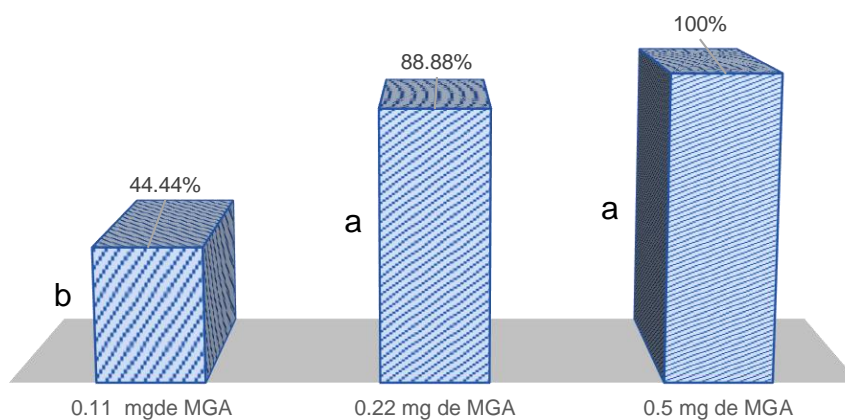
**Figura 10.** Distribución de la detección de estros pos-tratamiento oral con MGA (0.22 mg/17

En el grupo 3 (0.5 mg de MGA) el 83.33% de las borregas presentaron estro del día 5 al 8 pos-tratamiento. Se observó una mayor presencia de estros el día 6 (figura 11).



**Figura 11.** Distribución de la detección de estros postratamiento oral con MGA (0.5 mg/17 días)

El porcentaje de fertilidad se muestran en la figura 12. Se observan que existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).



Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

**Figura 12.** Porcentajes de fertilidad pos-tratamiento oral con MGA

## XII. Discusión

La persistencia folicular observada en las borregas que se administró la dosis de 0.11 mg/borrega/día durante 17 días, se debe a que dosis bajas con progestágenos sintéticos como el acetato de melengestrol (MGA) durante tratamientos prolongados en animales con actividad ovárica alteran la frecuencia pulsátil de la hormona luteinizante (LH), incrementando su concentración y desencadenando el desarrollo de folículos persistentes (Kojima *et al.*, 2003)

Estos resultados coinciden de algunos reportes en bovinos (Colazo *et al.*, 2007; García *et al.*, 2009), donde se menciona que la administración de progestágenos sintéticos a dosis bajas por intervalos mayores a la vida de un cuerpo lúteo (CL), suelen ser menos eficaces que la progesterona endógena en la supresión de secreción de LH, generando una alta frecuencia de pulsos de esta hormona que dan como resultado el desarrollo de folículos persistentes. Así mismo, existe el reporte (Viñoles *et al.*, 2001) de que los niveles periféricos de progesterona endógena o exógena regulan los patrones de crecimiento folicular por medio de la retroalimentación negativa hacia la secreción pulsátil de LH y que el aumento en la frecuencia de los pulsos de LH favorece la persistencia del folículo dominante, mientras que la disminución de la misma se asocia con la pérdida de éste.

En bovinos, cuando se utilizó un tratamiento con progestágenos a dosis bajas durante un periodo prolongado en un estado avanzado del ciclo estral (Díaz *et al.*, 2002), se observó que se puede producir la persistencia del folículo dominante, estos resultados no coinciden con lo observado en este estudio, ya que las borregas

tratadas se encontraban en diferente etapa del desarrollo folicular, es decir, al inicio del tratamiento se observaron folículos en desarrollo con un diámetro  $\leq$  a 4 mm y folículos dominantes  $>$  a 4 mm, lo que indica que independientemente de la etapa de desarrollo folicular en la que se encuentre el animal al inicio del tratamiento se desencadena el desarrollo de folículos persistentes cuando se utilizan dosis de 0.11 mg de MGA durante tratamientos prolongados en borregas.

En otro estudio (Flynn *et al.*, 2006) se evaluó el crecimiento del folículo ovulatorio durante la luteólisis temprana en un programa de sincronización de estro mediante un tratamiento con progestágenos por 19 días. A 8 borregas se les administró una esponja vaginal con 20 mg de Medroxiprogesterona del día 5 al 19 después del estro; a otras 8 borregas se les administró una esponja el día 5 del ciclo y fue reemplazada por una nueva en los días 10 y 15, las 5 borregas restantes se utilizaron como testigo. Las borregas tratadas recibieron 0.5 ml de prostaglandina los días 6 y 7 del ciclo para lisar el CL presente. Se encontró que la eficacia de retroalimentación negativa de una sola esponja durante 14 días disminuye con el tiempo, dando lugar a un aumento en la frecuencia de pulsos de LH y la presencia de folículos persistentes. Estos resultados pueden explicar por qué en este estudio el tratamiento prolongado con dosis de 0.11 mg de MGA/borrega/día incidió en el desarrollo de folículos persistentes.

En las borregas que se les administró la dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día, la dinámica folicular observada en 2 y 3 ondas, se debe a que la dosis utilizada es suficiente para suprimir la ovulación, pues estudios realizados (Bleach *et al.*, 2004;

Olivera *et al.*, 2011; Abecia *et al.*, 2012) indican que este progestágeno a dosis adecuada inhibe el pico pre-ovulatorio de LH sin suprimir la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), lo que explica también por qué las ondas foliculares siguieron emergiendo durante el tratamiento a dosis de 0.22 mg.

En las borregas que se administró la dosis de 0.5 mg de MGA/borrega/día el desarrollo folicular tuvo un diámetro máximo de 4 mm en la segunda onda, estos resultados indican que la dosis empleada suprime en mayor medida la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y por lo tanto LH y FSH, hormonas fundamentales en el desarrollo folicular en la etapa de dominancia (> 4 mm) (Uribe *et al.*, 2010), lo que explica por qué en este grupo de borregas no se observaron folículos dominantes (> a 4 mm) después del surgimiento de la segunda onda folicular.

El surgimiento de la segunda onda folicular en las borregas que se les administro la dosis de 0.5 mg tardo más tiempo en comparación con las borregas que se les administro la dosis de 0.22 mg, esto se debe a que al inicio del tratamiento todas tenían folículos  $\geq$  a 4 mm que desarrollaron a folículos dominantes en su caso, de acuerdo a lo reportado por Espinoza *et al.*, (2007) el desarrollo folicular cuando se encuentra en la etapa de dominancia o desviación inhibe el desarrollo de folículos subordinados por acción de eventos bioquímicos intrafoliculares como son factores de crecimiento similares a la insulina (IGF), esteroides, inhibina-A, activina-A, receptores de gonadotropinas, factores angiogénicos y otros factores intrafoliculares (Ireland *et al.*, 2004), en esta etapa se observa una disminución de

FSH y un incremento de LH (Ginther, 2000; Beg y Ginther, 2006), lo que indican que el retraso de la segunda onda folicular observado se puede deber a que la dosis empleada suprimió en mayor medida GnRH, lo que retardo el recambio folicular y por lo tanto el desarrollo de folículos subordinados.

El número de ondas foliculares en borregas durante un ciclo estral es variable, debido a que parece estar influenciado por factores genéticos, nutricionales, estrés térmico y medio ambiente (Uribe *et al.*, 2009). En borregas se han observado de una hasta cuatro ondas foliculares durante un ciclo estral (Espinoza *et al.*, 2007; Seekallu *et al.*, 2010), siendo lo más común tres ondas. Estos resultados coinciden con lo observado durante el tratamiento, ya que el porcentaje mayor de las borregas tratadas con 0.22 y 0.5 mg de MGA presentaron tres ondas foliculares.

En un estudio similar (Uribe *et al.*, 2010), al evaluar la dinámica folicular en 14 borregas durante un ciclo estral natural y durante un ciclo estral inducido con prostaglandinas, se observó que el 92% presentaron tres ondas foliculares y el 8% restante solo dos ondas. Aunque en este estudio la dosis de 0.5 mg de MGA permitió el desarrollo folicular hasta 4 mm en la segunda onda, el desarrollo folicular fue en 2 y 3 ondas al igual que en las borregas que se les administro la dosis de 0.22 mg resultados similares a las de un ciclo estral normal.

Al estudiar la dinámica folicular en 12 borregas de la raza West Africana (Contreras *et al.*, 2008), encontraron que 13.3% presentaron dos ondas, el 66.7% tres ondas y el 20% cuatro ondas. Así mismo, Seekallu *et al.* (2010) en 19 borregas de la raza Western Cara Blanca, encontraron que 52.6% presentaron tres ondas foliculares, y

47.3% presentaron cuatro ondas. Estos resultados confirman que el número de ondas que ocurren con mayor frecuencia durante un ciclo estral en borregas son tres, igual a lo reportado en este trabajo.

El diámetro del folículo dominante observado en las borregas tratadas (0.11, 0.22 y 0.5 mg de MGA) se encuentran dentro de los rangos descritos:  $4.7\pm 0.4$  mm en borregas sincronizadas con prostaglandinas (Liu *et al.*, 2006),  $5.4\pm 0.6$  mm en borregas sincronizadas con 500 UI de gonadotropina corionica equina (Barrett *et al.*, 2004),  $5.4\pm 0.5$  mm en borregas con lisis natural e inducida del CL mediante prostaglandinas (Uribe *et al.*, 2009),  $6.2\pm 0.2$  mm en borregas con dispositivo intravaginal de progesterona (Evans *et al.*, 2000) y  $6.9\pm 0.1$  mm en borregas durante un ciclo estral normal (Ravindra *et al.*, 1994).

En este estudio, los diámetros de los folículos dominantes por onda folicular en las borregas tratadas con 0.22 y 0.5 mg de MGA fueron similares a los reportados por Uribe *et al.*, (2010) durante un ciclo estral normal en 14 borregas de la raza Bergamasca en las que el diámetro folicular observado fue de  $5.83\pm 0.5$ ,  $5.42\pm 0.6$  y  $5.42\pm 0.4$  mm en la primera, segunda y tercera onda respectivamente, y en ese mismo orden durante un ciclo estral inducido con prostaglandinas el diámetro folicular fue de  $5.0\pm 0.1$ ,  $4.5\pm 0.8$  y  $5.0\pm 0.2$  mm. Por su parte, SeeKallu *et al.* (2010) en 19 borregas el diámetro folicular máximo observado en la primera onda y la onda ovulatoria fue de  $6.72\pm 0.3$  mm durante un ciclo estral normal de tres y cuatro ondas foliculares; mientras que en borregas con dos y tres ondas foliculares Ravindra *et*

*al.* (1994) reportan un diámetro folicular máximo del folículo dominante de  $6.9 \pm 0.1$  mm.

Después de observar la actividad ovárica en las borregas durante 17 días de tratamiento, se encontró que las dosis utilizadas de MGA (0.11, 0.22 y 0.5 mg) tuvo un efecto inhibitor de la ovulación en el 100% de las borregas tratadas. Estos resultados indican que las tres dosis son eficientes en su función principal que es inhibir la ovulación, aunque la dosis baja de 0.11 mg desencadenó el desarrollo de folículos persistentes, resultado de la baja eficiencia en la supresión de la frecuencia pulsátil de LH (Kojima *et al.*, 2003) inhibió el pico pre-ovulatorio de LH, por lo que ninguna borrega ovuló durante el tratamiento. En las borregas que se administró la dosis de 0.5 mg el diámetro folicular máximo observado en los folículos de mayor tamaño de la segunda onda folicular fue de 4 mm, lo que indica que la dosis no permitió su desarrollo a la etapa de dominancia, esto explica porque en las borregas que se administró esta dosis ninguna ovuló durante el tratamiento.

Con respecto a la dosis de 0.22 mg estudios previos (Salas *et al.*, 2014) reportan resultados iguales, al evaluar el efecto de la misma dosis en la inhibición de la ovulación en borregas de pelo, en las que observaron que en el 100% de ellas la dosis utilizada inhibió la ovulación, estos resultados reafirman la eficiencia de la dosis (0.22 mg) en inhibir dicho evento.

Aunque no existen trabajos de investigación que evalúen el efecto de 0.11 y 0.5 mg de MGA sobre su función principal como inhibidor de la ovulación en borregas, es posible comparar el resultado obtenido con algunos estudios donde se han utilizado

estas dosis, si se considera que la respuesta a la manifestación y sincronización de estros, dependen de la eficiencia del MGA sobre su función principal (inhibición de la ovulación).

La inducción y sincronización del estro observada en las borregas tratadas (0.11, 0.22 y 0.5 mg MGA/borrega/día) fue eficiente debido a la duración del tratamiento (17 días) y a las dosis empleadas. Si bien, la dosis de 0.11 mg de MGA/borrega/día desencadenó el desarrollo de folículos persistentes resultado de la baja eficiencia en la supresión de la frecuencia pulsátil de LH (Colazo *et al*, 2007), se observó que inhibe la ovulación, lo que explica su eficiencia en la inducción y sincronización del estro en este estudio.

La sincronización del estro en este grupo (0.11mg) fue en un periodo de tres días, esto se debe a que todas las borregas al suspender el tratamiento tenían folículos dominantes que persistieron durante los 17 días, ya que de acuerdo con Atuesta y Gonella, (2011) un folículo dominante es el responsable de las mayores concentraciones circulantes de estradiol durante la fase folicular del ciclo estral e induce cambios de comportamiento en la hembra; es sexualmente receptiva y acepta la monta (Franco y Uribe 2012).

Salas *et al.* (2014) reportan la eficiencia de la dosis de 0.22 mg de MGA/borrega/día durante 17 días en la inhibición de la ovulación, estos resultados explican la respuesta observada en la inducción y sincronización del estro en las borregas que se les administró la dosis de 0.22 mg de MGA en este trabajo, ya que como se

mencionó anteriormente la respuesta a la inducción y sincronización del estro depende de la eficiencia de la dosis en la inhibición de la ovulación.

En las borregas tratadas con la dosis de 0.5 mg de MGA la inducción del estro se retrasó dos días en comparación con las borregas tratadas a 0.11 y 0.22 mg, esto se debe a que la dosis empleada (0.5 mg) permitió el desarrollo folicular en la segunda onda hasta 4 mm de diámetro, por lo que al suspender el tratamiento y eliminar su efecto, el desarrollo folicular continuo hasta la etapa de folículo pre-ovulatorio, lo que explica el retraso en la inducción y sincronización del estro.

La eficiencia en la inducción y sincronización del estro en las borregas tratadas (0.11, 0.22 y 0.5 mg de MGA/borrega/día) también se debe a la duración del tratamiento, ya que cuando se utilizan progestágenos sintéticos para el control de la actividad ovárica, su periodo de administración debe tener una longitud suficiente para permitir que ocurra la lisis del CL en forma natural, independientemente en la etapa del ciclo estral en la que este se lleve a cabo, ya que si el animal se encuentra en fase folicular al iniciar el tratamiento (*proestro, estro*), el progestágeno bloquea la ovulación, por lo que no se forma el CL. Si se encuentra en etapa de *metaestro*, la formación del CL se altera, acortando su vida media. Si la etapa del ciclo al inicio del tratamiento coincide con el *diestro*, el CL sufre luteólisis al momento que correspondería naturalmente, sin resultar afectado por el tratamiento y finalmente si el animal se encuentra en anestro se induce la actividad ovárica (Galina y Valencia, 2014).

Emsen *et al.* (2012), utilizando una dosis baja de 0.125 mg MGA durante 9 días, observaron en 286 borregas que la respuesta a la presentación de estros fue de 62% y cuando se administró la misma dosis, pero durante 12 días observaron en 130 borregas que la respuesta a la presentación de estros fue de 89%. Esto resultados sugiere que la eficiencia de la dosis empleada sobre la respuesta a la presentación de estros se asocia a la duración del tratamiento como se observó en este trabajo de investigación.

Quispe *et al.* (1995), utilizaron una dosis de 0.11 mg y una dosis de 0.22 mg de MGA durante 9 días para sincronizar el estro en 37 borregas, encontraron que el porcentaje de estros para las borregas a las que se les administro 0.11 mg fue de 67% y para las de borregas de 0.22 mg fue de 90%. Estos resultados confirman que la eficiencia de la dosis en la inducción del estro se asocia a la duración del tratamiento y hace evidente que el resultado observado en las borregas que se les administró la dosis de 0.22 mg, se deba a que cuando inicio el tratamiento las borregas no tenían cuerpos lúteos presentes que disminuyeran la respuesta.

Valenzuela *et al.* (2004), al utilizar una dosis de 0.5 mg de MGA/animal/día durante 10 días para evaluar su efecto sobre la inducción de estros en 50 cabras, observaron una respuesta de 83.5% de estros, estos resultados son similares con lo reportado en este estudio y confirman la eficiencia de la dosis de 0.5 mg en la inducción del estro.

El porcentaje de fertilidad obtenido en las borregas tratadas con 0.11 mg de MGA se debe a que la dosis causo el desarrollo de folículos dominantes que persistieron

durante el tratamiento resultado del aumento en la frecuencia de pulsos de LH que generan dosis bajas de progestágenos sintéticos y que afectan directamente el porcentaje de fertilidad (Kojima et al., 2003).

En las borregas tratadas con 0.22 y 0.5 mg de MGA/borrega/día la fertilidad obtenida se debe la eficiencia de la dosis en inhibir el pico de LH sin alterar su frecuencia pulsátil, esto se demuestra ya que se observó un desarrollo folicular expresado en dos y tres ondas similar a las de un ciclo estral normal. De acuerdo con Bleach *et al.* (2004) y Salas *et al.* (2014) cuando se utilizan dosis adecuadas de progestágenos sintéticos como el MGA, se inhibe el pico de LH y las ondas foliculares siguen emergiendo sin afectar la fertilidad como lo observado en este estudio.

Resultados similares en cabras reporta Salas *et al.* (2016) al evaluar el efecto de una dosis de 0.22 mg de MGA durante un tratamiento prolongado en la fertilidad, observaron una respuesta del 90%, estos resultados confirman la eficiencia de la dosis en la supresión el pico de GnRH y LH sin afectar el desarrollo folicular y la fertilidad. Rojo *et al.* (2017) al utilizar la misma dosis de MGA/borrega/día durante un periodo igual al administrado en este estudio, reportan un porcentaje de fertilidad del 80%. Estos resultados son similares a los reportados en este estudio y confirman que la administración de 0.22 mg de MGA durante un tratamiento prolongado no afecta la fertilidad.

Castonguay *et al.* (2002) en borregas de lana administraron una dosis alta de 0.44 mg de MGA/oveja/día durante 12 días y obtuvieron una fertilidad del 45%. Estos resultados no coinciden con lo observado en este trabajo donde también se utilizó

una dosis alta (0.5 mg). Esto se puede deber a el tiempo en que se administró el tratamiento, ya que cuando se utilizan progestágenos sintéticos sin la combinación de otras hormonas se recomienda administrarlos por periodos mayores a la vida media de un cuerpo lúteo (12 a 14 días en borregas) para eliminar su efecto una vez suspendido el tratamiento y así obtener una mayor respuesta en la inducción del estro y porcentaje de fertilidad.

Por su parte Valenzuela *et al.* (2004) al evaluar el efecto del MGA sobre la inducción el porcentaje de fertilidad en 50 cabras, a las cuales administraron una dosis de 0.5 mg/animal/día, durante 10 días; obtuvieron una respuesta de 55.1% de fertilidad, estos resultados confirman que cuando se administran progestágenos sintéticos a dosis altas 0.5 se debe administrar por periodos prolongados para obtener un porcentaje de fertilidad alto como lo reportado en este trabajo de investigación.

### XIII. Conclusiones

- La administración de 0.11 mg de MGA/borrega/día durante un tratamiento prolongado (17 días) causa el desarrollo de folículos persistentes, inhibe la ovulación e induce y sincroniza el estro pero disminuye la fertilidad.
- La administración de 0.22 mg de MGA/borrega/día durante un tratamiento prolongado (17 días), permite una dinámica folicular normal en 2 y 3 ondas, es eficiente en inhibir la ovulación e induce y sincroniza el estro con un porcentaje de fertilidad del 88.88%.
- La administración de 0.5 mg de MGA/borrega/día durante un tratamiento prolongado (17 días), permite una dinámica folicular normal en 2 y 3 ondas, sin embargo, en la segunda onda folicular el folículo de mayor tamaño alcanza un diámetro máximo de 4 mm, y suspendido el tratamiento induce y sincroniza el estro con un porcentaje de fertilidad del 100%.

#### XIV. Literatura citada

**Abecia J. A., Forcada F. and González-Bulnes A. (2012).** Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 130(3-4):173-179.

**Adams G. P., Jaiswal R., Singh J. and Malhi P. (2008).** Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*. 69 (1):72-80.

**Álvarez R. L. y Ducoing W. A. (2017).** Aspectos reproductivos del ganado ovino y caprino. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal. [En línea] [http://amaltea.fmvz.unam.mx/textos/escrito\\_Repro.pdf](http://amaltea.fmvz.unam.mx/textos/escrito_Repro.pdf) [Consulta: 3 de junio de 2017].

**Álvarez R. L., Ducoing W. A., Zarco Q. L. y Trujillo G. A. (1998).** Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. Departamento de producción animal: Rumiantes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. [en línea] <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-1999/vm991d.pdf> [Consulta 4 de agosto de 2015]

**Arashiro E. K., Fonseca J. F., Siqueira L. G. B., Fernandes C. A., Brandao F. Z., Oba E. and Viana J. H. (2010).** Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. *Small Ruminant Research*. 94 (1-3):176-179.

- Arroyo J. (2011).** Estacionalidad reproductiva de las ovejas en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14(3):829-845.
- Atuesta E. J. y Gonella D. A. (2011).** Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Revista spei Domus*. 7(14):15-25
- Ballenda G. O. (2009).** Aplicaciones de la ecografía en los pequeños rumiantes y camélidos sudamericanos. *Revista Ciencia Veterinaria*. 25(3):3-6
- Barrett D. M. W., Bartlewski P. M., Batista A. M., Symington A. and Rawlings N.C. (2004).** Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology*. 61(2-3):311-327.
- Bartlewski P. M., Baby T. E. and Giffin J. L. (2011).** Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*. 12 (3-4):259-68.
- Bartlewski P. M., Beard A. P. and Rawlings N. C. (2000).** An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology*. 54 (2):229-245.
- Beg M. A. and Ginther O. J. (2006).** Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction*. 132 (3):365-377.
- Bernard D. J., Fortin J., Wang Y. and Lamba P. (2010).** Mechanisms of FSH synthesis: what we know, what we don't, and why you should care. *Fertility and Sterility*. 93 (8):2465-2485.

**Bishop C. V. and Stormshak F. (2008).** Non-genomic actions of progesterone and estrogens in regulating reproductive events in domestic animals. *Veterinary Journal*. 176 (3): 270-80.

**Bleach E. C. L., Glencross R. G. and Knight P. G. (2004).** Association between ovarian follicle development and pregnancy rate in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*. 127 (5):621-629.

**Bonnet A., Dalbie T. R. and Sirard M. A. (2008).** Opportunities and challenges in applying genomics to the study of oogenesis and folliculogenesis in farm animals. *Reproduction*. 135 (2):119-128.

**Caccia Bo. G. A. (2000).** Exanimación ultrasonografía del tracto reproductivo bovino. En: Modulo 111, Anexo 1, Ultrasonografía. Curso de Post-Grado en Reproducción Bovina, Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC). 3:19-37.

**Carrillo B. A., Mejia M. C., Ducoing W. A., Chávez G. L. E. y Cervantes M. J. C. (1995).** Niveles de LH en cabras lecheras adultas tratadas con acetato de melengestrol y acetato de fluorogesterona en época de anestro. *Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. D.F México. pp. 21-22.

**Castonguay F., Leduc G. and Goulet. (2002).** Use of melengestrol for estrus synchronization in an artificial insemination program in ewe. *Journal Animal Science*. 80 (1) 268-269.

**Colazo M. G., Mapletoft R. J., Martínez M. F. y Kastelic J. P. (2007).** El uso de tratamientos hormonales (MGA) para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. *Ciencia Veterinaria*. 9 (1):4-16.

**Contreras S. I., Díaz T., López G., Caigua A., López S. L. and González B. A. (2008).** Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed Sheep. *Animal Reproduction Science*. 104(1):47-55.

**Diaz F. J., Anderson L. E., Wu Y. L., Rabot A., Tsai S. J. and Wiltbank M. C. (2002).** Regulation of progesterone and prostaglandin F2alpha production in the CL. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 191 (1):65-80.

**Duggavathi R., Bartlewski P. M. and Barrett D. M. W. (2005).** Rawlings NC. The temporal relationship between patterns of LH and FSH secretion, and development of ovulatory-sized follicles during the mid-to late-luteal phase of sheep. *Theriogenology*. 64 (2):393-407

**Ebru E., Carlos A. and Giménez D. (2005).** Melengestrol Acetate (MGA) Induced Puberty in Awassi Ewe Lambs. *Jurnal of Animal and Vetrinary Advances*. 4 (6): 570-571.

**Emsen E., Giménez D. C., Kutuca M. and Koycegiz F. (2011).** Reproductive response of ewes synchronized with different lengths of MGA treatments in intrauterine insemination program. *Animal Reproduction Science*.126 (1-2):57-60.

**Endo M., Kimura K., Kuwayama T., Monji Y. and Iwata H. (2014).** Effect of estradiol during culture of bovine oocyte–granulosa cell complexes on the

mitochondrial DNA copies of oocytes and telomere length of granulosa cells. *Zygote*.

22 (04):431-439

**Eppig J. J. (2001).** Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*. 122 (6): 829-838.

**Espinoza V. J. L., Ortega P. R., Palacios E. A., Valencia M. J. y Arechiga F. F. C. (2007).** Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos. *Revista Interciencia*. 32 (2):93-99.

**Evans A. C. O., Duffy P., Hynes N. and Boland M. P. (2000).** Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 53(3):699-715.

**Farfán J. A., Forero J. A., Pardo N. A., Tovar F. J., Atuesta J. E. y Grajales H. A. (2009).** Efecto del tiempo de tratamiento con progestágenos sobre las características del celo sincronizado y su fertilidad en ovinos y caprinos bajo condiciones del trópico de altura colombiano. *Livestock Research for Rural Development*. 21 (1). [en línea]. <http://www.lrrd.org/lrrd21/1/farf21007.htm> [Consulta 17 de Octubre, 2016].

**Fatet A., Pellicer R. M. T. and Leboeuf B. (2011).** Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*. 124 (3-4):211-219.

**Flynn D. J., Duffy P., Boland P. M. and Evans A. C. O. (2006).** Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. *Animal Reproduction Science*. 62(4):285-296.

**Forde N., Beltman M. E., Lonergan P., Diskin M., Roche J. F. and Crowe M. A. (2011).** Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*. 124 (3-4):163-169.

**Fortune J. (2003).** The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal Reproduction Science*. 78(3-4):135-163.

**Fortune J. E. (2002).** Activation of primordial follicles. En Eppig J, Hegele-Hartung CH, Lessl M (Eds.) *The future of the oocyte basic and clinical aspects*. Springer. Nueva York, EEUU. pp.11-21.

**Fortune J. E., Rivera G. M. and Yang M. Y. (2004).** Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction*. 8 2(83):109-126

**Franco J. y Uribe V. L. F. (2012).** Hormonas reproductivas de importancia veterinaria en hembras domésticas ruminantes. *Biosalud*. 11(1):41-56

**Galina C. y Valencia J. (2014).** Reproducción de animales domésticos. (3<sup>ra</sup> ed). Ed. Limusa. México. 578 p.

**Ganchou P. F. (2005).** Ecografía reproductiva. Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo-Venezuela. pp. 602-606

**García C. R., Rangel R. S., Rodríguez R. D. L., Cadena J. A. M. y Apodaca C. A. S. (2009).** Aplicación de progesterona al final de un protocolo de sincronización de celos en ovejas criollas. XIX Reunión Internacional Sobre Producción de Carne y

Leche en Climas Cálidos. Mexicali, Baja California, México. 8 y 9 de octubre de 2009. pp. 140-143.

**Gimenez D. C. A., Emsen E., Köycegiz F., Emsen B., Yaprak M. and Kutluca M. (2005).** Synchronization of estrus in fat tailed sheep using melengestrol acetate (MGA) in the breeding season. *Journal of Applied Animal Research*. 28 (1):25-27.

**Ginther O. J., Beg M. A., Bergfelt D. R., Donadeu F. X. and Kot K. (2001).** Follicle selection in monovular species. *Biology Reproduction*. 65 (3): 638- 647.

**Guo I. C., Wu L. S., Lin J. H. and Chung B. C. (2001).** Differential inhibition of progesterone synthesis in bovine luteal cells by estrogens and androgens. *Life Science*. 68 (16):1851-1865.

**Hafez E. S. E y Hafez B. (2002).** Reproducción e inseminación artificial en animales. (7ª ed). Ed. McGraw-Hill interamericana. México. 519 p.

**Hageleit M., Daxenberger A., Kraetzl W. D., Kettler A. and Meyer H. H.(2000)** Dose-dependent effects of melengestrol acetate (MGA) on plasma levels of estradiol, progesterone and luteinizing hormone in cycling heifers and influences on oestrogen residues in edible tissues. *Journal of Pathology Microbiology and Immunology*. 108(12):847-854.

**Hatler T. B., Hayes S. H., Ray D. L., Reames P. S. and Silvia W. J. (2008).** Effect of subluteal concentrations of progesterone on luteinizing hormone and ovulation in lactating dairy cows. *Veterinary Journal*. 177 (3):360-368.

**Henao G. y Trujillo E. (2003).** Dinámica folicular y función lútea durante la gestación temprana. Estudio de un caso en *Bos indicus*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 56 (1):1779-1788.

**Hunter M. G., Robinson R. S., Mann G. E. and Webb R. (2004)** Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Animal Reproduction Science*. 82(83):461-477.

**Imwalle D. B., Fernandez D. L. and Schillo K. K. (2002).** Melengestrol acetate blocks the preovulatory surge of luteinizing hormone, the expression of behavioral estrus, and ovulation in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 80(5):1280-1284.

**Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED) (2017).** [en línea]

<http://www.elocal.gob.mx/work/templates/enciclo/michoacan/mpios/16017hm>

[consultada el día, 15 de septiembre de 2017, a las 5:30].

**Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED) (2017).** [en línea]

<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM13hidalgo/municipios/13006a.htm>

[consultada el día, 12 de octubre de 2017, a las 12:00]

**Ishwar A. K. (1995).** Pregnancy diagnosis in sheep and goats: a review. *Small Ruminant Research*. 17 (1):37-44.

**Jackson D. J. and Whitley N. C. (2001).** Effectiveness of melengestrol acetate in inducing out-of-season breeding in goats. University of Maryland Eastern Shore.

**Jackson D. J., Fletcher C. M., Keisler D. H. and Whitley N. C. (2006).** Effect of melengestrol acetate (MGA) treatment or temporary kid removal on reproductive efficiency in meat goats. *Small Ruminant Research*. 66 (3):253–257.

**Jenkin G. and Young I. R. (2004).** Mechanisms responsible for parturition; the use of experimental models. *Animal Reproduction Science*. 82 (83):567-581.

**Kaiser U. B. (2011)** Gonadotropin Hormones. En: Shlomo M, ed. The Pituitary. Londres: *ELSEVIER Inc.* pp. 205-260.

**Kojimaa F. N., Bergfelda E. G. M., Wehrmana M. E., Cuppa A. S., Fikea K. E., Mariscal-Aguayoa D. V., Sanchez-Torresa T., Garcia-Windera M., Cloptona D. T., Robertsb A. J. and Kindera J. E. (2003).** Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Animal Reproduction Science*. 77(3-4):187-211.

**Kubo N., Cayo-Colca I. S. and Miyano T. (2015).** Effect of estradiol 17 $\beta$  during *in vitro* growth cultura on the growth, maturation, cumulus expansion and development of porcine oocytes from early antral follicles. *Animal Science Journal*. 86 (3):251-259.

**Lattanzi M. L. (2010).** Regulación de la maduración de ovocitos por factores paracrinós. (Tesis doctoral). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. Argentina. pp. 1-93.

**Letelier C., Contreras S. I., García F. R. A., Sánchez M. A., García P. P. and Sánchez B. (2011).** Effects of oestrus induction with progestagens or prostaglandin

analogues on ovarian and pituitary function in sheep. *Animal Reproduction Science*. 126 (1-2):61-69.

**Liu X., Dai Q., Hart E. J., Duggavathi R., Barret D. M. W. and Rawlings N. C. (2006).** Ovarian and endocrine responses to prostaglandin F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) given at the expected time of the endogenous FSH peak at mid-cycle in ewes. *Theriogenology*. 66 (4):811-821.

**Mallory D. A., Wilson D. J., Busch D. C., Ellersieck M. R., Smith M. F. and Patterson D. J. (2010).** Comparison of long-term progestin-based estrus synchronization protocols in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 88 (11):3568-3578.

**Mann G. E. (2009).** Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Animal Reproduction Science*. 115 (1-4):296-299.

**Martínez A. L. E., Hernández C. J., González P. E., Perera M. G. and Valencia J. (2007).** Serum LH peak and ovulation following synchronized estrus in goats. *Small Ruminant Research*. 69 (1-3):124-128.

**Morris D. and Diskin M. (2008).** Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*. 2 (8):1112-1119.

**Nieto A. R. (2009).** Grasa de sobrepeso en ovejas con diferente espesor de grasa dorsal y su respuesta en el estro sincronizado con MGA, perfil endocrino, porcentaje de gestación y prolificidad. (Tesis de Maestría en Ciencias). Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas: Campus Montecillo. Posgrado de Recursos Genéticos y Productividad Ganadera. Uruguay. pp. 4-14.

**Nilsson E. E. and Skinner M. K. (2001).** Cellular interactions that control primordial follicle development and folliculogenesis. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 8 (1):17-20.

**Nilsson E. E. and Skinner M. K. (2002).** Growth and differentiation factor-9 stimulates progression of early primary but not primordial rat ovarian follicle development. *Biology. Reproduction.* 67 (3):1018-1024.

**Olivera J., Fierro S. and López V. (2011).** Comparison of prostaglandin and progesterone based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology.* 75(7):1232-1238.

**Ortega A. J. C. (2006).** Comparación de dos métodos de sincronización del estro en ovinos de pelo. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia. Secretaria de Investigación y Posgrado. Chihuahua, Chihuahua. México. pp. 1-76.

**Payne A. H. and Hales D. B. (2004).** Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocrine Reviews.* 25 (6):947-970.

**Perea G. F. (2005).** Ecografía reproductiva. Manual de ganadería doble propósito. Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo-Venezuela. pp. 602-606

**Perry G., Welshons W. V. and Bott S. M. F. (2005).** Basis of melengestrol acetate action as a progestin. *Domestic Animal Endocrinology.* 28 (2):147-161.

**Peter A. T., Levine H., Drost M. and Bergfelt D. R. (2009).** Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenology*. 71(9):1343-1357.

**Picton H. M. (2001).** Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology*. 55 (6):1193-1210.

**Quíntela A. L. A., Díaz de P. C., García H. J. P. J., Peña M. A. I. y Barrera G. J. J. (2006).** Ecografía y reproducción en la vaca. (editorial lit). Universidad de Santiago de Compostela: Servicio de Publicación e Intercambio Científico. 92 p

**Quispe Q. T., Zarco Q. L., Ortiz H. A. y Valencia M. J. (1995).** Sincronización de estros en ovejas mediante un tratamiento cortó con acetato de melengestrol (MGA) combinado con cipionato de estradiol (ECP). *Revista Veterinaria México*. 26 (1):23-28.

**Ravindra J. P., Rawlings N. C., Evans A. C. O. and Adams G. P. (1994).** Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the estrous cycle. *Journal Reproduction Fertility*. 101(2):501-509

**Raymond J. R. and Helen F. I. R. (2010).** Formation of the Ovarian Follicular Antrum and Follicular Fluid. *Biology of Reproduction*. 82 (6):1021-1029.

**Rekawiecki R., Nowocin A. and Kotwica J. (2010).** Relationship between concentrations of progesterone, oxytocin, noradrenaline, gene expression and protein level for their receptors in corpus luteum during estrouscycle in the cow. Prostaglandins. *Other lipid mediators*. 92 (1-4):13-18.

**Rhodes F. M., Burke C. R., Clark B. A., Day M. L. and Macmillan K. L. (2002).** Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. *Animal Reproduction Science*. 69 (3-4):139-150.

**Robinson R. S., Hunter M. G. and Mann G. E. (2006).** Supra-basal progesterone concentrations during the follicular phase are associated with development of cystic follicles in dairy cows. *Veterinary Journal*. 172 (2):340-346.

**Roelofs J., López G. F., Hunter R. H. F., Van Eerdenburg F. J. C. M. and Hanzen C. (2010).** When is a cow in estrus Clinical and practical aspects. *Theriogenology*. 74(3):327-44.

**Rojo M. J. A. (2013).** Evaluación de la dinámica folicular en borregas durante un tratamiento prolongado con acetato de melengestrol (MGA). (Tesis de Maestría en Ciencias). Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México. pp. 1-58.

**Rojo M. J. A. and Salas, R. G. (2015).** The use of melengestrol acetate as a strategy to improve production efficiency of sheep in rural areas in México. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 5(A): 2010-2013.

**Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R., Juárez C. A., Bravo P. A., Espinoza V. J. L. and Salas R. G. (2017).** Estrus, fertility and prolificacy in wool sheep treated with melengestrol acetate on the reproductive and non-reproductive period. *Transylvanian Review*. 25(22): 5689-5695.

**Rosell P. R. (2004).** Regulación neuroendocrina del ciclo estral en los animales domésticos. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 5(7):1-25.

**Ruiz A. J., Carballo M. E., Anta J E., Díaz C. J. y Kably A. A. (2005).** Utilidad de las concentraciones de la hormona luteinizante para determinar la calidad ovocitaria. *Ginecol Obstet Mexico*. 73 (4):28-35.

**Salas R. G., Mendoza V. E., Angel M. R. and Rojo M. J. A. (2014).** Induction of follicular development, estrus synchronization and pregnancy rate in pre-puberal goats treated with melengestrol acetate (MGA) in rural areas of México. *International Parallel Conferences on Researches in Industrial and Applied Sciences*. Panel II: Life and Biological Studies. pp. 35-40.

**Salas R. G., Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R. and Espinoza V. E. (2014).** Effect of an Intermediate Dose of Melengestrol Acetate (MGA) on Ovulation Inhibition in Ewes. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 4 (3):171-174.

**Salas R. G., Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R., Flores P. J. P., Perea P. M. and Villavicencio E. J. L. (2013).** Effect of Prolonged Treatment with Melengestrol Acetate (MGA) on the Persistence or Non-Persistence of Ovarian Follicles in Ewes. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 3(4):298-240.

**Salas R. G., Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R., Flores P. J. P., Perea P. M. and Villavicencio E. J. L. (2013).** Follicular dynamic in ewes during melengestrol acetate (MGA) treatment. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 3:360-362.

**Salas R.G., Mata F., Perea M., Garcidueñas R., Gutiérrez E., Caratachea A. and Flores P. (2011).** Estrus Grouping in Sheep Treated with Melengestrol Acetate (MGA). *Journal of Agricultural Science and Technology*. 1:1295-1296.

**Salas R.G., Mendoza V. E., Mendoza A. R., Rojo M. J. A. (2016).** Follicular development, estrus and pregnancy rate in pre-pubertal goats treated melengestrol acetate (MGA) in rural areas of Mexico. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*. 3(3):217-221.

**Salveti N. R., Stangaferro M. L., Palomar M. M., Alfaro N. S., Rey F. and Gimeno E. J. (2010).** Cell proliferation and survival mechanisms underlying the abnormal persistence of follicular cysts in bovines with cystic ovarian disease induced by ACTH. *Animal Reproduction Science*. 122 (1-2):98-110.

**Sangha G. K., Sharma R. K. and Guraya S. S. (2002).** Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 43(1):53-64.

**Schiffer B. (2004).** Mobility of the growth promoters trembolone and melengestrol acetate in agricultural soil: column studies. *Science of the Total Environment*. 326 (1-3):225-237.

**Seekallu S. V., Toosi B. M., Duggavathi R., Barrett D. M. W., Davies K. L. and Waldner C. (2010).** Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology*. 73 (5):670-680.

**Shen Q. (2013).** “Environmental fate of endocrine disrupting growth promoters used in cattle production”. PhD (Doctor of Philosophy) thesis, University of Iowa. pp. 1-267.

**Svechnikov K. and Söder O. (2008).** Ontogeny of gonadal sex steroids. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 22 (1):95-106.

**Toosi B. M., Seekallu S. V., Barrett D. M. W., Davies K. L., Duggavathi R. and Bagu E. T. (2010).** Characteristics of peaks in serum concentrations of follicle-stimulating hormone and estradiol, and follicular wave dynamics during the interovulatory interval in cyclic ewes. *Theriogenology.* 73(9):1192-11201.

**Ungerfeld R. and Rubianes E. (2002).** Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anoestrus ewes. *Small Ruminant Research.* 42(1):63-66.

**Uribe V. L. F., Souza M. L. y Correa O. A. (2011).** Efecto de las altas concentraciones de progesterona durante la fase luteal temprana sobre la secreción de LH y estradiol en ovejas. *Revista Veterinaria Zootecnia.* 5(2):44-54.

**Uribe V. L. F., Correa O. A. y Henry O. J. (2009).** Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. *Biosalud.* 8:117-131

**Uribe V. L. F., Oba E. and Souza M. I. L. (2008).** Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 60(1):58-65.

**Uribe V. L. F., Souza M. I. L. and Osorio J. H. (2010).** Resposta ovariana de cabras submetidas a implantes de progesterona seguidos de aplicações de gonadotrofina coriônica equina. *Revista Brasileira Zootecnia*. 39(6):1214-1222.

**Valenzuela J. N., Hernández C. J., Murcia M. C. y Rodríguez M. R. (2004).** Efecto del benzoato de estradiol en la presentación del pico preovulatorio de LH, momento de ovulación y fertilidad en cabras sincronizadas con acetato de melengestrol (MGA). *Agrociencia*. 38(6):603-611.

**Valle G. R., Cassali G. D., Nogueira J. C., Castro A. C. S., Reis A. M. and Cardoso F. M. (2007).** Nuclear estrogen and progesterone receptors in the oviduct of heifers under natural and superovulated estrous cycles. *Animal Reproduction Science*. 101 (1-2):28-37.

**Veiga L. A., Gonzalez B. A., Tresguerres J. A. F., Domínguez V., Ariznavarreta C. and Cocero M. J. (2006).** Causes, characteristics and consequences of anovulatory follicles in superovulated sheep. *Domestic Animal Endocrinology*. 30 (2):76-87.

**Viñoles C., Forsberg M., Banchemo G. and Rubianes E. (2001).** Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*. 55(1):993-1004.

**Wataru T., Masanori T. I. and Nao S. (2014).** Effects of 5 $\alpha$ -Dihydrotestosterone and 17 $\beta$ -Estradiol on the Mouse Ovarian Follicle Development and Oocyte Maturation. *Plos One*. 9 (6):1-7.

**Webb R. and Armstrong D. G. (1998).** Control of ovarian function; effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. *Livestock Production Science*. 53 (2):95-112.

**Webb R., Garnsworthy P. C., Gong J. G. and Armstrong D. G. (2004).** Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *Journal Animal Science*. 82(1):63-74.

**Webb R., Nicholas B., Gong J. G., Campbell B. K., Gutiérrez C. G., Garverick H. A. and Armstrong D. G. (2003).** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction*. 61: 71-90.

**Windorski E. J., Schauer C. S., Wurst A. K., Inskeep E. K. and Luther J. S. (2008).** Effects of melengestrol acetate and P.G. 600 on fertility in Rambouillet ewes outside the natural breeding season. *Theriogenology*. 70(2):227-232.

**Young J. M. and McNeilly A. S. (2010).** Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction*. 140(4):489-504.

## XV. Anexos

### Artículos publicados durante mi formación de maestría y doctorado

1. **Salas R. G., Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R., Gutiérrez V. E., Juárez C. A. and Villavicencio E. J. L. (2013).** Follicular dynamic in ewes during melengestrol acetate (MGA) treatment. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 3:360-362.

**ISSN:** 2010-3638

**DOI:**10.17706/IJBBB

2. **Salas R. G., Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R., Flores P. J. P., Perea P. M. and Villavicencio E. J. L. (2013).** Effect of Prolonged Treatment with Melengestrol Acetate (MGA) on the Persistence or Non-Persistence of Ovarian Follicles in Ewes. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 3(4):298-240

**ISSN:** 2010-3638

**DOI:** 10.17706/IJBBB

3. **Salas R. G., Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R. and Espinoza V. J. L. (2014).** Effect of an Intermediate Dose of Melengestrol Acetate (MGA) on Ovulation Inhibition in Ewes. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 4 (3):171-174.

**ISSN:**2010-3638

**DOI:**10.17706/IJBBB

4. **Rojo M. J. A. and Salas, R. G. (2015).** The use of melengestrol acetate as a strategy to improve production efficiency of sheep in rural areas in México. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 5(A): 2010-2013.

**Print ISSN:**1680-7073

**Online ISSN:** 2345-3737

5. **Salas R. G., Mendoza V. E., Angel M. R. and Rojo M. J. A. (2016).** Follicular Development, estrus y pregnancy rate in pre-pubertal goats treated melengestrol acetate (MGA) in rural areas of Mexico. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*. 3(4):217-221.

**Print ISSN:** 2373-423X

**Online ISSN:** 2301-3737

6. **Rojo M. J. A., Garcidueñas P. R., Juárez C. A., Bravo P. A., Espinoza V. J. L. and Salas R. G. (2017).** Estrus, fertility and prolificacy in wool sheep treated with melengestrol acetate on the reproductive and non-reproductive period. *Transylvanian Review*. 25(22): 5689-5695.

**ISSN:** 1221-1249

**Alumnos asesorados**

<b>Alumno</b>	<b>Programa</b>	<b>Opción</b>	<b>Tesis</b>
Josué Rangel Díaz	Maestría en Producción Agropecuaria	Pecuaria	Efecto de una vacuna inmunoanticonceptiva a base de GnRH en la morfometría y fisiología de las gónadas
Brenda Cárdenas Pérez	Maestría en Producción Agropecuaria	Pecuaria	Efecto de la acidificación del alimento preiniciador con ensilado ácido de pescado diablo sobre el desempeño productivo de lechones
Aldo Ulises Olmedo Valdez	Maestría en Producción Agropecuaria	Pecuaria	Evaluación de la concentración de testosterona intrafolicular, características citoplasmáticas y el complejo cúmulus-ovocito en borregas tratadas con acetato de melengestrol
José Antoni Costilla Pineda	Licenciatura en medicina veterinaria y zootecnia		Eficiencia del acetato de melengestrol (MGA) en la inducción del estro, fertilidad y prolificidad en borregas lactantes.