

VARIACIONES EN LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE PROGESTERONA (P4) DURANTE EL CICLO ESTRAL DE OVEJAS

VARIATIONS IN THE SERUM CONCENTRATIONS OF PROGESTERONE (P4) DURING THE ESTRUS CYCLE OF SHEEP

Gloria Beatriz Catagña Caiza ^{1*}

¹ Estudiante de Medicina Veterinaria, Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-4333-1991>. Correo: bettt.ca@hotmail.com

Darwin Omar Yáñez Avalos ²

² Centro de Investigación en Rumiantes Menores y Camélidos Sudamericanos (CIRMCAS). Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9306-3489>. Correo: dr.daviyanez@gmail.com

Israel Hernan Culcay Troncoso ³

³ Universidad de Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-3908-8160>. Correo: israel.culcayt@ug.edu.ec

Pablo Roberto Marini ⁴

⁴ Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Veterinarias. Argentina. Centro de Investigación en Rumiantes Menores y Camélidos Sudamericanos (CIRMCAS). Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0826-00387>. Correo: pmarini@unr.edu.ar

* Autor para correspondencia: dr.daviyanez@gmail.com

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar las concentraciones séricas de P4 al momento del retiro del dispositivo intravaginal (DIV), momento de detección de estro (DE), Inseminación a Tiempo Fijo (IATF) y al día 7 pos IATF, en ovejas. La Granja Huayrapungo ubicada en la parroquia Malchinguí, con una altitud de 2600 a 2800 m.s.n.m; temperatura de entre 7 y 17 °C, cuenta con ovejas multíparas en producción, de razas (Merino x Suffolk) f1, con estado corporal (2.5 / 5), ≤ 90 días abiertos, y una edad de 2 a 4 años. Divididos en dos tratamientos, (T1= 400 UI PMCG – 10 ovejas), y (T2= 500 UI PMCG – 10 ovejas). Un protocolo convencional, en el cual, al Día 0, CDR, 60mg P4 (Zoetis), al Día 10 se aplicó T1=400 UI; y T2=500 UI de PMCG i.m. (NOVORMON – PMCG ® 5000, Zoetis), más 250 µg de Cloprostenol (PGF_{2α}, Ciclase DL,

Zoetis), al Día 12 se retiró el DIV, al día 13 DC, al día 14 IATF con el método de laparoscopia. Al día 35 se confirmó preñez mediante ultrasonografía. No se evidencia diferencia significativa sobre la tasa de preñez entre tratamientos (60%) ($P=0,073$), similar en las concentraciones séricas de P4 al momento del retiro del DIV, DC y IATF ($P=0,49$). No siendo así, el día 7 pos IATF, ($P=0,020^*$). Sin embargo, las concentraciones séricas de P4, no difirieron en el estado reproductivo (vacías o preñadas) de las ovejas.

Palabras clave: Ovejas, multíparas; IATF; fase folicular; fase luteal

Abstract

The present study aimed to evaluate serum concentrations of P4 at the time of removal of the intravaginal device (DIV), time of detection of estrus (CD), Fixed Time Insemination (FTAI), and at day 7 post-FTAI, in sheep. The Huayrapungo Farm located in the parish of Malchinguí, with an altitude of 2600 to 2800 m.s.n.m; temperature between 7 and 17 °C, has multiparous sheep in production, breeds (Merino x Suffolk) f1, with body condition (2.5 / 5), 90 days open, and an age of 2 to 4 years. Divided into two treatments, (T1= 400 IU PMCG - 10 sheep), and (T2= 500 IU PMCG - 10 sheep). In a conventional protocol, in which, at day 0, CDR, 60mg P4 (Zoetis) was applied at day 10 was applied T1=400 IU; and T2=500 IU of PMCG i.m. (NOVORMON - PMCG 5000, Zoetis), plus 250 µg of Cloprostenol (PG2α, Ciclast DL, Zoetis), at day 12 DIV, day 13 AD, and day 14 IATF with laparoscopy method. At day 35 pregnancy was confirmed by ultrasonography. There was no significant difference in the pregnancy rate between treatments (60%) ($P=0.073$), similar in serum P4 concentrations at the time of DIV, DC, and IATF withdrawal ($P=0.49$). Not so, the day 7 post IATF, ($P=0.020^$). However, serum concentrations of P4 did not differ in the sheep's reproductive state (not pregnant or pregnant).*

Keywords: Sheep; multiparous; FTAI; follicular phase; luteal phase

Fecha de recibido: 29/03/2024

Fecha de aceptado: 13/06/2024

Fecha de publicado: 01/07/2024

Introducción

La producción ovina en Ecuador representa una importante actividad pecuaria como sustento de pequeños y medianos productores, colaborando a mantener un equilibrio entre los aspectos económico, ecológico y social (ANCO, 2015). Sin embargo, los cambios actuales ocurridos en el sector agropecuario demandan la utilización de herramientas tecnológicas que permitan eficientizar los sistemas de producción (Ibarra, 2017).

En la actualidad la explotación intensiva de ovinos necesita de la aplicación de técnicas relacionadas al manejo reproductivo, como es la inseminación artificial y protocolos hormonales de inseminación a tiempo fijo (IATF), a fin de agrupar los partos y obtener lotes homogéneos de corderos, para organizar su atención y manejo futuro del rebaño. La inseminación artificial que en los últimos años ha permitido disminuir este

riesgo, además de incrementar la calidad genética de los animales y organizar el aspecto reproductivo y productivo con excelentes resultados (Silva, 2017). Arroyo (2011), describe claramente las dos fases del ciclo estral, la fase lútea inicia del día dos al día 13, y la fase folicular del día 14 al día uno, que representa el día cero (0) el día de presentación de la oveja al celo. El ciclo estral dura de 16 a 18 días y es más corto en corderos que en ovejas adultas, 16,8 y 17,2 días respectivamente (Arroyo, 2011).

Los métodos de control artificial del ciclo estral están basados principalmente en los conocimientos sobre los mecanismos de acción hormonal del ciclo estral, y para ello, se han desarrollado eficientes análogos de las hormonas con acciones biológicas más potentes que las naturales. En ovinos, el desarrollo de estos métodos ha permitido la manipulación eficiente del celo y ovulación, para determinar el tiempo óptimo de la inseminación artificial, empadre y parición permitiendo establecer un programa apropiado de mejoramiento genético (Yupanqui, 2019).

Con estos antecedentes, se planteó en esta investigación la sincronización de celo en ovinos utilizando un protocolo de IATF y dos tratamientos con diferentes dosis de eCG-PMCG, con la finalidad de evaluar las concentraciones séricas de P4 en los diferentes momentos del ciclo estral, así como también, la tasa de preñez.

Materiales y métodos

El trabajo de investigación se realizó en la Unidad de Producción Huayrapungo Corderos, de la parroquia Malchinguí, cantón Pedro Moncayo, provincia de Pichincha, la misma que tiene una extensión de 1 Ha. dedicada a la producción ovina. A partir del año 2018 se adopta la producción de ovinos como un complemento a diferentes sistemas de producción, tanto agrícolas como pecuarias, en combinación con otras especies (GADMPPM, 2018).

Condiciones meteorológicas:

De acuerdo al GADMPPM, (2028), Malchinguí se ubica en la Cordillera de los Andes, se encuentra a una altitud que va desde 1800 a 4600 m.s.n.m. con una temperatura que oscila de entre 7 y 17 °C, en las coordenadas de latitud 0° 0' 38,40912'' N y longitud 78° 20' 22,60428'' W.

Diseño del experimento:

Para este experimento se utilizaron Ovejas f1 (Merino x Suffolk) multíparas, de una edad de 4 – 5 años, con una condición corporal de 2,5/5, un peso >50 kg, y 90 días abiertos. Se planteó un protocolo de sincronización dividido en dos Tratamientos (T), cada tratamiento se conformó de un total de 10 ovejas, al igual que la unidad experimental, a los que se evaluó niveles séricos de progesterona al momento del retiro del dispositivo intravaginal (DIV), detección de celo (DE), inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y al día 7 pos IATF.

Tratamientos (T)

Para el ensayo se tuvo en cuenta dos tratamientos (T1= 400 UI PMCG – 10 ovejas), y (T2= 500 UI PMCG – 10 ovejas), un protocolo convencional; en el Día 0, CDR, 60mg P4 (Zoetis, Ecuador), al día 10 se aplicó T1=400 UI; y T2=500 UI de PMCG i.m. (NOVORMON – PMCG ® 5000, Zoetis, Ecuador), más 250 µg de Cloprostenol (PGF_{2α}, Ciclase DL, Zoetis, Ecuador), al día 12 se retiró el DIV, al día 13 se observó la presencia de estro, al día 14 IATF con el método de laparoscopia y semen congelado. Al día 35 se confirmó preñez mediante ultrasonografía (Minitube Vet).

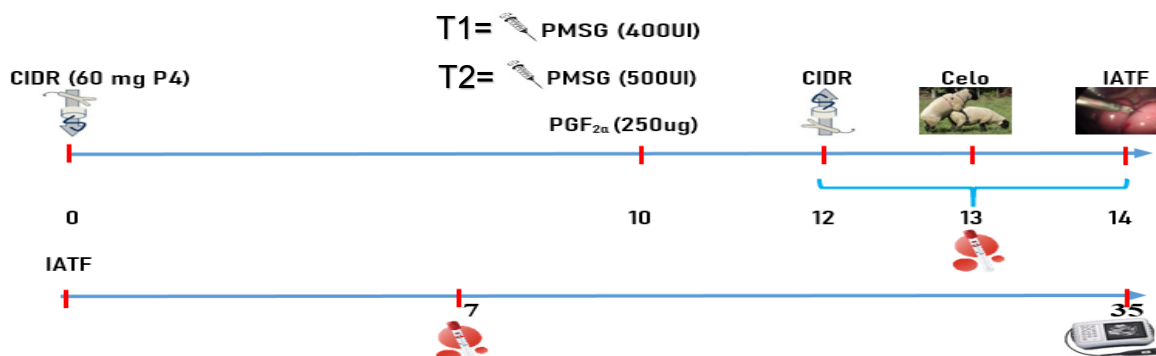


Figura 1. Protocolo convencional de IATF de 14 días (Protocolo largo), dividido en dos tratamientos (T1= 400 UI PMCG – 10 ovejas), y (T2= 500 UI PMCG – 10 ovejas)

Variables experimentales

En la investigación se evaluaron las siguientes variables:

Porcentaje de preñez

Para la obtención de esta variable, se lo realizó mediante ultrasonografía al día 35 pos IATF, identificando preñez (1) y vacía (0).

Niveles de progesterona (ng/mL)

Esta variable se subdivide en cuatro momentos y se analizaron mediante resultados de laboratorio (ng/mL): al retiro del DIV, DE, IATF y 7 días pos IATF.

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó la metodología de investigación cuantitativa - explicativa, con el objetivo de examinar de manera detallada las variaciones de las concentraciones de P4 en los diferentes momentos de del ciclo estral de los ovinos, siendo estos: retiro (DIV), (DE), IATF y al día 7 pos IATF (Salinas, 2010).

Factores de estudio

Las ovejas escogidas para constituir parte de la población a estudiarse, cumplieron con las características mencionadas anteriormente, de tal forma que la muestra de los animales de la población tenga la misma posibilidad de ser elegidas.

- T1 (CDR + 400UI PMSG) = 10 ovinos.
- T2 (CDR + 500UI PMSG) = 10 ovinos.

Se utilizó la técnica de muestreo aleatorio simple, que se fundamenta en una técnica para elegir al azar individuos de una población hasta lograr el tamaño de la muestra requerida (Otzen y Manterola, 2017).

Detección de celo

Se utilizó un macho como recelador y detector de celo, con arnés y un saco colocado en el vientre para evitar el coito. De esta manera se registró el orden de presencia de celo, la misma que se utilizó para realizar la IA laparoscópica ordenada (Cueto *et al.*, 2016).

Toma de muestra de sangre

La obtención de muestras de sangre para el análisis de concentración sérica de P4 en ovejas, se colectó al momento del retiro del DIV, DE, IATF y al día 7 pos IATF, distribuido: T1 (CDR + 400UI PMSG) = 40 muestras y T2 (CDR + 400UI PMSG) = 40 muestras. Esta toma se lo realizó en la vena yugular, extrayendo 10 ml de sangre, y se transfirió la sangre de la jeringa a los tubos de recolección de forma lenta para que la muestra no se hemolise (PANAFTOSA - OPS/OMS, 2017).

Obtenidas las muestras con tubos rotulados sin anticoagulante, se guardó en la hielera cooler y se envió la muestra al laboratorio en un lapso máximo de 24 horas conservadas a 4°C (de Castro *et al.*, 2004).

Análisis de muestras de sangre

Las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 20 minutos para separar el suero, el mismo que, fué evaluado individualmente por duplicado mediante Kits de progesterona (iChroma™Progesterona CFPC - 21– Korea).

Se utilizó la técnica de Inmunoensayo de Fluorescencia (FIA) para la determinación cuantitativa de P4 en suero. En este método, el analito en la muestra se une al anticuerpo de detección marcado con fluorescencia (FL) en el buffer de detección, para formar el complejo como mezcla de muestra. Este complejo se carga para migrar a la matriz de nitrocelulosa, donde el par covalente de P4 y la albúmina de suero bovino (BSA) están inmovilizadas e interfiere con la unión del analito y el anticuerpo marcado con fluorescencia (FL). Si existen más analitos en la muestra, se acumulan menos anticuerpos de detección, lo que resulta en menos señal de fluorescencia (Abraham *et al.*, 1972).

En la sensibilidad la concentración mínima de progesterona detectable que puede distinguirse en un rango de trabajo: (0,127 a 127,2 nmol /L y 0,4-40 ng / mL con un límite de confianza del 99%. El coeficiente de variación (CV) intra-ensayo fue de: bajo (5,2%) y alto (6,2%) (iChroma™Progesterona CFPC - 21– Korea).

Detección de preñez

El diagnóstico de gestación puede realizarse de manera temprana con el uso de ultrasonografía transrectal a los 35 días, siendo de gran utilidad para identificar de manera temprana que una hembra servida no ha resultado gestante y someterla a un nuevo protocolo de sincronización de celo, con esto reducimos el número de días abiertos y evitamos la aplicación de hormonas que pueden ocasionar abortos en hembras preñadas (Álvarez *et al.*, 2009; Gutierrez y Baez, 2014).

Análisis estadístico:

Se realizó inicialmente una prueba de normalidad de los datos obtenidos para cada variable de estudio para posteriormente someterlas a pruebas paramétricas o no paramétricas según sea el caso (Dagnino, 2014). Los

datos se analizaron mediante un Modelo Lineal Generalizado Mixto, utilizando tratamiento y progesterona como variable continua y preñez como variable discreta (InfoStat, 2022).

Resultados y discusión

Porcentaje de preñez:

No se evidenció diferencias estadísticas utilizando este protocolo convencional de 14 días, dividido en dos tratamientos con diferentes dosis de PMCG, (Tabla 1), T1 y T2 (60%) ($P=0,074$). Ungerfeld y Rubianes (2002), y Simonetti *et al.* (2000), mencionan que los tratamientos cortos (entre 6 a 7 días) como los tratamientos largos (entre 15 a 16 días) son efectivos en la inducción de celo, ya sea en estación reproductiva o fuera de ella. Estos resultados son similares a los hallados por Menchaca *et al.* (2013), en la compilación de resultados de varios trabajos de investigación concluyen que tanto los protocolos largos como los cortos suelen dar los mismos resultados a los encontrados en este experimento.

Los resultados del diagnóstico de preñez mediante ecografía transrectal a los 35 días pos IATF, fueron para el T1 y T2, 60% (6/10). Similares a los resultados reportados por Farfan *et al.* (2009), mediante diagnóstico ecográfico realizados a los 45 días pos-IATF (81,25% y 87,50%), y por no retorno a los 90 días pos- IATF (81,25% y 86,67%). En tanto que Espinoza *et al.* (2020), reportaron porcentajes de preñez del 93,3% (14/15), 60,0% (6/10) y 66,7% (8/12) con protocolos de sincronización largo.

Magno (2015), obtuvo porcentajes de preñez con diferentes dosis de eCG; 300UI = 42,1% (8/19) y 600UI = 61,1% (11/18), menores a los obtenidos en este experimento. Por otro lado, Menchaca *et al.* (2013), propusieron los tratamientos cortos de 5 a 7 días empleando 200-400 UI de eCG para inducir la ovulación, además de PGF $_{2\alpha}$ al retirar el dispositivo para eliminar al cuerpo lúteo, obteniendo tasas de preñez cercana al 50% con IATF con semen fresco. Dichos autores consideran la importancia de evitar que los folículos preovulatorios se expongan a niveles bajos de progesterona por periodos prolongados, cosa que ocurre en el periodo largo, toda vez que la presencia de un folículo persistente con alta secreción de estradiol puede alterar el ambiente folicular, uterino/ oviductual y el transporte espermático (Johnson *et al.*, 1996 y Viñoles *et al.*, 2001).

Tabla 1. Tasa de preñez de ovejas sometidas a T1 y T2

Tratamientos	Número de Animales	Porcentaje de Preñez	Probabilidad
T1	10	60% ^a	0,074
T2	10	60% ^a	0,074

Nota: Letras similares no presentan diferencias significativas, Chi cal ($P=0,074$).

Concentraciones séricas de P4 al retiro del DIV, DC y IATF:

Los valores de progesterona sérica evaluados al día del retiro del DIV, DE y IATF en los diferentes tratamientos (Tabla 2), no manifiestan diferencias estadísticas, pudiendo deberse a la administración de eCG - PMCG en la etapa de pre ovulación de los animales en estudio. Además, los perfiles de P4 son similares durante los primeros 12 días para el ciclo regular de la hembra ovina y no se presentan diferencias significativas ($P>0,05$) (Alvarado *et al.*, 2021).

Al comparar las concentraciones de P4 durante las fases del ciclo estral (al retiro del DIV, DE y IATF), se presentó un comportamiento típico al reportado durante el ciclo regular, con variaciones a partir de la fase lútea tardía. Se observa mayor variabilidad durante el proestro y metaestro, enfatizando con resultados encontrados en la investigación (DeNicolo *et al.*, 2009).

Alvarado *et al.* (2022) mencionan que, entre el día 4 y 12 del ciclo estral, las concentraciones de P4 fueron en promedio superiores a 2 ng/mL. Los resultados evidencian un comportamiento de incremento entre los días del retiro del DIV al día 12, DE al día 13 y la IATF al día 14, perteneciendo al ciclo estral, etapa del metaestro o fase lútea temprana, manteniéndose en niveles altos y constantes entre los días 10-12, con una concentración promedio de P4, que alcanza un máximo valor de $2,75 \pm 0,57$ ng/mL; similares a los encontrados en este estudio. No encontraron diferencias significativas en la concentración de progesterona desde el día 8 al 12, respectivamente ($p > 0,05$) (Simonetti *et al.*, 2007).

Tabla 2. Concentraciones séricas de P4 (ng/mL) en diferentes momentos del ciclo estral de ovejas (retiro del DIV, DE y IATF), en los T1 y T2

Variables	Número de animales	Protocolos de sincronización		Estadístico	Probabilidad
		T1	T2		
P4 retiro DIV	20	1,9 ^a	1,82 ^a	0,27	0,398
P4 DE	20	2,22 ^a	2,39 ^a	-0,31	0,383
P4 IATF	20	2,31 ^a	2,85 ^a	-1,34	0,107

Nota: Letras similares no presentan diferencias significativas ($p \geq 0,05$).

Concentraciones séricas de P4 al día 7 pos IATF:

Las concentraciones séricas de progesterona del día 7 pos IATF fueron de 5,09 ng/mL para el T1, mientras que para el T2 se obtuvo 8,42 ng/mL, existiendo una clara diferencia significativa entre tratamientos (Tabla 3). Ya que los perfiles de P4 durante la fase lútea son similares en concentración y duración según lo referenciado por DeNicolo *et al.* (2009), permitiendo la supervivencia embrionaria.

Por otro lado, las hembras sincronizadas presentaron un leve aumento en las concentraciones de P4 después de la retirada del dispositivo y de la aplicación de la eCG, hecho que puede atrasar el inicio de la liberación de las gonadotrofinas endógenas en las que recibieron una dosis menor de eCG. De esta manera, las concentraciones continuaron aumentando progresivamente desde el quinto día pos IATF ($3,43 \pm 0,33$ ng/mL) al noveno día pos IATF ($4,91 \pm 0,33$ ng/mL), similar comportamiento registrado en este trabajo, mostrando una diferencia estadística significativa ($P < 0,001$) (Uribe *et al.*, 2007).

O'Connell *et al.* (2013), mostraron que los días 6-8 pos IATF es cuando se da la concepción y 12-14 pos IATF la implantación, etapas que comprenden periodos críticos para la supervivencia embrionaria, donde existe alta relación de la actividad del cuerpo lúteo – P4, con el establecimiento o no de la preñez, considerándose que la fisiología durante este periodo es multifactorial y compleja, pues la señal antiluteolítica es generada por el embrión en las células mononucleadas del trofoblasto, las cuales secretan interferón tau (IFN- τ), para lograr de esta manera el bloqueo de la síntesis de PGF2 α producida a nivel endometrial, lo que impide la luteolisis, que garantiza la permanencia del cuerpo lúteo (Costine *et al.*, 2007).

Tabla 3. Concentración sérica de P4 al día 7 pos IATF

Variables	Número de Animales	Protocolos de Sincronización		Estadístico	Probabilidad
		T1	T2		
P4 Día 7	20	5,09 ^a	8,42 ^b	-2,81	0,010

Nota: Letras diferentes, presentan diferencias significativas ($p \leq 0,02$).

Concentraciones de P4 en ovejas preñadas y vacías en las diferentes etapas del ciclo estral:

Como observamos en la Figura 2, las concentraciones séricas de P4, no difirieron en el estado reproductivo de las ovejas (vacías o preñadas), y mucho menos en los diferentes momentos del ciclo estral ($p \geq 0,35$).

Adicionalmente, los autores DeNicolo *et al.*, (2009) sustentan que durante los días 12 y 20 pos IATF, las ovejas preñadas en esta fase y en condiciones climáticas favorable suelen tener concentraciones de P4 más altas que aquellas ovejas preñadas en condiciones climáticas desfavorables, así como también la época del año afecta los perfiles de progesterona.

Las concentraciones elevadas de P4 indican una función luteal adecuada, infiriendo que existe un volumen apropiado del cuerpo lúteo CL y mayor tejido luteal capaz de adecuar un mejor ambiente embrio- trófico necesario para que el conceptus se desarrolle, con lo cual enviará señales para el reconocimiento materno infantil reflejando mayores porcentajes de preñez (Gonzales *et al.*, 2012).

Al comparar los perfiles de P4 durante las fases del ciclo estral en la preñez temprana, y ovejas vacías, se presentó un comportamiento típico al reportado durante el ciclo regular, con variaciones a partir de la fase lútea tardía. Los perfiles empiezan a incrementarse gradualmente desde la fase lútea temprana (día 3 pos-servicio) y son altos hacia el día 12 en la fase lútea tardía, manteniéndose altos y constantes durante el día 24 al 30 pos-servicio para la hembra que mantiene la preñez. Los perfiles de P4 durante la fase lútea son similares en concentración y duración comparado con lo reportado por Costine *et al.* (2007), permitiendo la supervivencia embrionaria. Se observa mayor variabilidad durante el proestro y metaestro (1-12 días); sin presentar diferencias estadísticas (DeNicolo *et al.*, 2009).

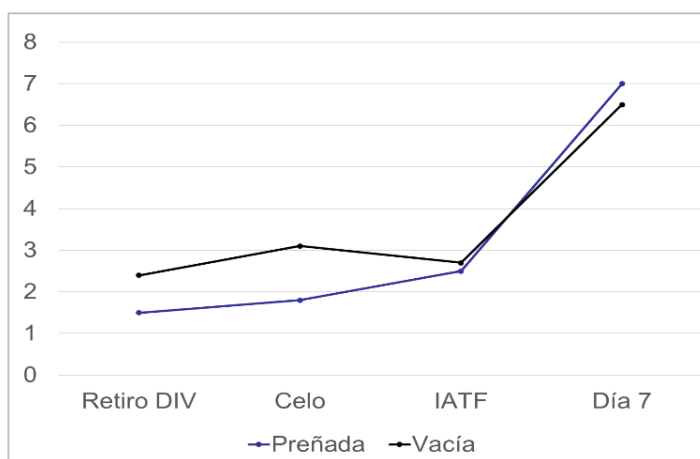


Figura 2. Concentración sérica de P4 (medias $\pm$ EP) en ovinas preñadas vs vacías desde el retiro del DIV, DE, IATF y día 7 pos IATF ($p \geq 0,35$).

Mellisho *et al.* (2006) y Al-Gubory *et al.* (1999), demostraron que el CL es necesario para mantener la preñez durante los primeros 60 días como fuente necesaria de progesterona. Sin embargo, en la Figura 2 se observa la importancia de la progesterona como modulador directo o indirecto del mecanismo luteolítico (O'Connell *et al.*, 2013).

Conclusiones

Las concentraciones de P4 en los diferentes momentos del ciclo estral a partir del retiro del DIV, DE y IATF, no se vieron afectados por las diferentes dosis de PMCG, manteniendo un promedio superior a 2 ng/mL, sin repercutir sobre la tasa de preñez en hembras ovinas.

Las concentraciones circulantes de P4 pos IATF, se elevaron al inicio de la fase luteal, con un incremento progresivo pos ovulación, a partir del día uno hasta alcanzar la concentración media de P4 al día 7 de (6,9 ng/mL), permitiendo la supervivencia embrionaria.

Referencias

- Álvarez-Rodríguez, J., Sanz, A., Joy, M. (2009). The effect of the spring management system on blood metabolites and luteal function of ewes on Mediterranean mountain areas. *Small Ruminant Research*, 82(1),18-26.
- ANCO. (2015). La Ovejería del Ecuador. Asociación Nacional de criadores de ovejas. <http://www.geocities.ws/ancoec/ovejeria.html#Antecedentes>
- Abraham, G.E., Odell, W.D., Swerdloff. R.S. (1972). Simultaneous radioimmunoassay of plasma FSH, LH, progesterone, 17- hydroxyprogesterone, and estradiol-17 β during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 34(2),312–318.
- Arroyo, J. (2011). Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystem*.
https://www.researchgate.net/publication/262655012_Estacionalidad_reproductiva_de_la_oveja_en_Mexico.
- Alvarado, P., Torres, M., Grajales, H. (2021). Secuencia de cambios de progesterona sérica durante el ciclo estral normal, preñez temprana y hembra repetidora en ovinos bajo condiciones de trópico alto Colombiano. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 4(2),2504 -2519.
- Alvarado, P., Torres, M., Grajales, H. (2022). Concentraciones de progesterona durante el ciclo estral en ovinos en el trópico colombiano, *Revista MVZ Córdoba*, 27,1-10.
- Al-Gubory., Solari, A., Mirman, B. (1999). Effects of luteectomy on the maintenance of pregnancy, circulating progesterone concentrations and lambing performance in sheep. *Reprod. Fertil. Dev.*,11, 317–322
- Cortés López, H.A., e Hidalgo Benítez, J. P. (2011). Primer reporte en Colombia de resultados de inseminación artificial laparoscópica en ovinos usando semen congelado. *Revista de Ciencias Pecuarias*, 24 (3), 549.

- Costine, B.A., Inskeep, E.K., Blemings, K.P., Flores, J.A., Wilson, M.E. (2007). Mechanisms of reduced luteal sensitivity to prostaglandin F2 α during maternal recognition of pregnancy in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, 32(2),106-121.
- Cueto, M., Gibbons, A., Bruno, M., Fernandez, J. (2016). Manual de Obtención, Procesamiento y Conservación de Semen Ovino. INTA Ediciones, 2a. ed. Buenos Aires – Argentina, 1-21.
- Dagnino, J. (2014). Bioestadística y Epidemiología. Análisis de Varianza y Correlación, *Rev Chil Anest* 2014; 43, 306-310
<https://revistachilenadeanestesia.cl/PII/revchilanestv43n04.07.pdf>
- DeNicolo, G., Parkinson, T.J., Kenyon, P.R., Morel, P.CH., Morris, S.T. (2009). Plasma progesterone concentrations during early pregnancy in spring- and autumn-bred ewes. *Animal Reproduction Science*, 111(2–4),279-288.
- de Castro, T., Valdez, L., Rodríguez, M., Benquet, N., and Rubianes, E. (2004). Decline in assayable progesterone in bovine serum under different storage conditions. *Trop. Anim. Health Prod.* 36, 381–384.
- Espinoza, S., Gamarra, Y., Ticona, C., Huayta, M., Espinoza, G., Perez, U., Cruz, D. (2020). Evaluación de un protocolo de sincronización de estro en ovejas con destete temporal para inseminación artificial a tiempo fijo. *Rev Inv Vet Perú* 31,6820.
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/16820>
- Farfán, J.A., Forero, J.A., Pardo, N.A., Tovar, F.J., Atuesta, J.E., 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 Res Rural Develop* 21(7). <http://www.lrrd.org/lrrd21/1/farf21007.htm>
- GADMPPM. (2018). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Pedro Moncayo 2018-2025. In Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Pedro Moncayo.
http://www.pedromoncayo.gob.ec/documentos/rendicion_cuentas_20/1_ANEXO_1_PDOT_PEDRO_MONCAYO.pdf
- González, J., Velásquez, L., Osorio, J. (2012). Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (*Ovis aries*). Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. *Veterinaria y Zootecnia*. 6: 134-147.
- Gutierrez, D., y Baez, G. (2014). La ultrasonografía en bovinos.19(1).
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5364505.pdf.99-100>
- Ibarra, M. (2017). Implementación de un programa de manejo técnico para ovinos mestizos en la granja Engusga de la empresa avícola FERNÁNDEZ S.A. en la provincia de Santa Elena. Trabajo de titulación. Ingeniería. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Zootécnica, Riobamba, Ecuador.

- Johnson, S.K., Dailey, R.A., Inskeep, E.K., Lewis, P.E. (1996). Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domest Anim Endocrinol* 13, 69-79. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8625617/>
- Mango Calsina, R. (2015). Efecto de diferentes niveles de eCG sobre la fertilidad de borregas corriedale inseminadas en época no reproductiva. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Puno, Perú: Univ. Nacional del Altiplano, 77 p. <https://es.scribd.com/document/377531628/Mango-Calcina-Romulo-Ferti>
- Menchaca, A., Dos Santos Neto. P.C., Vilariño, M., García Pintos. C., Cuadro, F., Pinczak, A. (2013). Programas de sincronización de celos en ovinos y caprinos. En: Simposio Internacional de Reproducción Animal- IRAC. Córdoba, Argentina. <https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/RESUMEN-10-Simposio-Internacional-de-Reproduccion-Animal-2013.pdf>
- Mellisho, S. E., Pinazo, H., Chauca, F., Cabrera, V., Rivas, P. (2006). Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas Black Belly con semen congelado. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 17 (2), 131-136.
- O'Connell, A.R., Hurst, P.R., Davis, G.H., McNatty, K.P., Taylor, S.L., Juengel, J.L. (2013). An earlier rise in systemic progesterone and increased progesterone in the uterine vein during early pregnancy are associated with enhanced embryonic survival in the ewe. *Theriogenology* 80(3),269-274.
- Otzen, T., & Manterola, C. (2017). Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *International Journal of Morphology*, 35(1),227–232. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037>
- PANAFTOSA - OPS/OMS. (2017). Manual veterinario de toma y envío de muestras: manual técnico. 1 ed. Brazil, MAPA. [https://www.google.com/search?q=PANAFTOSA++OPS%2FOMS.+\(2017\).+Manual+veterinario+de+toma+y+env%C3%ADo+de+muestras%3A+manual+t%C3%A9cnico.+1+ed.+Brazil%2C+MAPA.&rlz=1C1CHBD_esEC1078EC1078&oq=PANAFTOSA++OPS%2FOMS.+\(2017\).+Manual+veterinario+de+toma+y+env%C3%ADo+de+muestras%3A+manual+t%C3%A9cnico.+1+ed.+Brazil%2C+MAPA.&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBBzk5NGowajSoAgCwAgA&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com/search?q=PANAFTOSA++OPS%2FOMS.+(2017).+Manual+veterinario+de+toma+y+env%C3%ADo+de+muestras%3A+manual+t%C3%A9cnico.+1+ed.+Brazil%2C+MAPA.&rlz=1C1CHBD_esEC1078EC1078&oq=PANAFTOSA++OPS%2FOMS.+(2017).+Manual+veterinario+de+toma+y+env%C3%ADo+de+muestras%3A+manual+t%C3%A9cnico.+1+ed.+Brazil%2C+MAPA.&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBBzk5NGowajSoAgCwAgA&sourceid=chrome&ie=UTF-8)
- Rodríguez, O. (2004). Evaluación de dos metodologías de inseminación artificial utilizando semen congelado con un tratamiento para la sincronización de celo en ovinos de la raza Criolla Colombiana (Tesis de grado). Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia
- Salinas, P. (2010). METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA. Merida, Venezuela. http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/34398/metodologia_investigacion.pdf;jsessionid=DC15D654AD66A47F72FBD697FCF78192?sequence=1
- Silva, A. (2017). Comportamiento productivo de ovinos alimentados con dietas a base de fruta de pan (Artocarpus altilis). Trabajo de titulación. Ingeniería. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera Ingeniería Agropecuaria, Ambato, Ecuador.

- Simonetti, L., Blanco, M.R., Gardón, J.C. (2000). Estrus synchronization in ewes treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. *Small Ruminant Res* 38: 243-247. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11024341/>
- Simonetti, L., Forcada, F., Ebecia, A., Palacin, L., Rivera, O., Carou, N., Lynch, G. (2007). Efectos del tratamiento superovulatorio sobre la presentación de celos, el pico preovulatorio de LH y la tasa ovulatoria en ovejas Corriedale. XXIX Congreso Argentino de Producción Animal. Octubre de 2007. Santiago del Estero. Argentina.
- Ungerfeld, R. & Rubianes, E. (2002). Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research* 46, 63-66.
- Uribe-Velásquez, L. F., Oba, E., Lenz Souza, M. I. (2007). Respuesta endocrina y ovárica a la sincronización del estro y de la ovulación utilizando CIDR y eCG en ovejas. *Revista de Veterinaria y Zootecnia*, 1 (1), 9-17
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G., Rubianes, E. (2001). Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55, 993- 1004. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11291921/>
- Yupanqui, F.O. (2019). Evaluación de protocolos de sincronización de celo en ovejas en el distrito los Morochucos Cangallo – Ayacucho. (Tesis de grado – Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga - Facultad De Ciencias Agrarias.