



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Niveles de progesterona durante la reactivación ovárica posparto, ciclo estral y preñez temprana, en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones del trópico alto colombiano

Paola Alexandra Alvarado García

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Departamento de Producción Animal
Bogotá, Colombia
2016

Niveles de progesterona durante la reactivación ovárica posparto, ciclo estral y preñez temprana, en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones del trópico alto colombiano

Paola Alexandra Alvarado García

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de
Magister en Producción Animal

Director:

Henry Alberto Grajales Lombana
Zootecnista, PhD en Ciencias Veterinarias

Línea de Investigación:

Fisiología de la reproducción

Grupo de Investigación:

Gestión Tecnológica e Innovación en Sistemas Pecuarios

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Departamento de Producción Animal
Bogotá, Colombia

2016

A Dios y a mis padres:

*Lucia García y Jairo Alvarado por su ejemplo
de vida, compromiso, apoyo, amor y
esfuerzos....*

Agradecimientos

El proyecto de Tesis de Maestría se desarrolló bajo el marco del proyecto “Apoyo científico a la mejora de la producción ovina en zona tropical de altitud en Colombia, para la creación de un centro de investigación tecnológica – CIDTEO”, dentro del convenio interinstitucional entre la Universidad de Namur y la Universidad Nacional de Colombia- sede Bogotá con el apoyo financiero de ARES. Agradeciendo en primer lugar, a las instituciones mencionadas, por la colaboración académica, científica y administrativa durante el proceso de formación.

Agradezco a Dios y a mi familia por el acompañamiento constante, la comprensión y los buenos deseos durante todo el arduo camino para cumplir esta meta profesional.

Expreso mis agradecimientos al Dr. Henry Grajales, por aceptar ser mi director de Tesis y darme la oportunidad de hacer parte del grupo de investigación del Proyecto CIDTEO, pues con este escalón profesional me ha permitido seguir apasionándome por la especie ovina.

Al equipo CIDTEO, pues gracias al aporte de cada uno de ellos, se ejecutó el proyecto de investigación. Al Dr. Harvey Lozano y Dr. Jimmy Vargas por la colaboración investigativa y técnica en el proceso. Al Dr. Carlos Manrique por su participación en el manejo genético y análisis de datos del proyecto. A Nathalie KIRSCHVINK y Marianne RAES de la Universidad de Namúr (Bélgica), que, mediante los cargos de coordinadora científica y supervisora del proyecto, colaboraron y aportaron en gran medida al avance investigativo, desarrollo y capacitación para sacar adelante la tesis de maestría. Coordinadores del

centro de Investigación por la gestión operativa y a los estudiantes (pasantes) que cooperaron en la recolección de muestras y datos durante el proceso experimental.

A la Universidad Nacional de Colombia, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado. Docentes por el aporte académico y profesional. Compañeros de estudio, por el acompañamiento académico.

Resumen

El objetivo fue investigar acerca del 1). Reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto 2). Ciclo estral y 3). Preñez temprana en hembras ovinas bajo condiciones particulares de trópico alto colombiano. Ovejas adultas (n=32) de los biotipos raciales: Criolla, Romney Marsh, Hampshire y Corriedale se siguieron a partir del día 5 -7 posparto hasta el día 170. Se recolectaron muestras de sangre para evaluar función luteal. Al mismo tiempo, se evaluó el comportamiento estral utilizando un macho vasectomizado y datos de peso y condición corporal se registraron una vez al mes. El periodo de apareamiento tuvo una duración de 32 días y la confirmación de la preñez se realizó a los 35 días pos servicio. La concentración de progesterona se determinó con la técnica de inmunoensayo (ELISA) y para el análisis estadístico se empleó el modelo de estructura factorial y/o medidas repetidas. El tiempo de reactivación ovárica posparto fue de $31,8 \pm 14,1$ días sin presentar diferencias significativas dentro de los grupos evaluados. El 78,13% (n=25) de las ovejas reasumen la actividad ovárica posparto antes del día 35 considerándose como temprana, evidenciando que el tipo de parto múltiple retrasa y afecta la reanudación. Las hembras Criollas presentaron un 87,5% (n=7) de reanudación ovárica clasificada como normal (Tipo 1) representando un eficiente desempeño en la recuperación ovárica temprana. El grupo Corriedale y Romney presentaron mayor heterogeneidad en las variables. Un total de 241 estros fueron evaluados; el porcentaje de detección fue de 64,88. Los resultados evidenciaron el 60,6 % de ciclos estrales regulares con un promedio de duración de $16,8 \pm 0,89$ días. Se observa que los perfiles de P_4 son más bajos en el diestro para la raza Corriedale y Romney Marsh, en referencia a lo observado en las hembras Criollas. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) en los niveles de P_4 entre ciclo de la hembra preñada y el ciclo regular durante los 12-14 primeros días pos-ovulación. El perfil del ciclo de la hembra repetidora presenta variaciones en la función luteal con bajos niveles de P_4 , indicando posible luteólisis anticipada. Los tipos raciales ovinos predominantes en trópico alto representarán un comportamiento bueno y/o sobresaliente, con particularidades; la

eficiencia reproductiva obedece a un proceso de ajuste y adaptación de su genotipo, permitiendo que los biotipos manifiesten respuestas fisiológicas y de comportamiento suficientes para sobrevivir y producir en forma adecuada.

Palabras clave: Periodo posparto, ciclo estral, preñez temprana, trópico alto y ovejas.

Abstract

The aim of the research was to investigate about the 1). Reactivation and resumption of ovarian activity postpartum 2). Estrous cycle and 3). Early pregnancy in female sheep under particular conditions of tropical Colombian high. Adult ewes (n=32) of the breed's biotypes: Creole, Romney Marsh, Hampshire, and Corriedale were followed up since 5-7 days after lambing and until 170 days. Blood samples were collected to evaluate luteal function. At the same time, a teaser ram was used to detect heats and data of body weight and body condition were collected once a month. The breeding period was scheduled for 32 days and confirmation of pregnancy was performed at 35 days post-mating. Progesterone (P₄) concentrations were determined using immunoassay (ELISA) technique and statistical analysis utilized structure factorial or repeated measures. Postpartum ovarian reactivation time was 31,8±14,1 days without showing significant differences within the evaluated groups. 78,13% (n=25) sheep resume ovarian activity postpartum day 35 before considering how early and demonstrating that multiple birth rate slows down and affects the resumption. Creole females presented an 87.5% (n=7) resumption of ovarian as normal rated (type 1) representing an efficient performance in early ovarian recuperation. The Corriedale and Romney group showed greater heterogeneity in variables. A total of 241 estrous were evaluated, and the detection rate was 64,88. The results showed 60.6% of regular estrous cycles with an average duration of 16,8±0,89 days. P₄ profiles are lower in the luteal phase for the Corriedale and Romney Marsh breeds in reference to what was observed in females Creole. No significant differences were found (P>0,05) in P₄ levels between the pregnant female cycle and the regular cycle for 12-14 days pos-ovulation. Profile of the repeater female cycle presents variations based

on the luteal with low levels of P₄, indicating possible early luteolysis. The effect of the tropical high on the performance of the sheep racial types represented an outstanding behavior of individuals in particular. Reproductive efficiency is due to a process of adjustment and adaptation of its genotype, allowing biotypes to manifest physiological and behavioral responses sufficient to survive and produce properly.

Keywords: Postpartum period, estrous cycle, early pregnancy, tropic high and ewe.

Contenido

Resumen	VIII
Abstract	IX
Introducción	1
1. Revisión de literatura	5
1.1. Ciclo Estral	5
1.1.1 Fases del ciclo estral	5
1.2.2. Endocrinología del ciclo estral	7
1.2.3. Fase Folicular	9
1.2.4. Luteinización.....	14
1.2.5. Luteólisis.....	22
1.2.6. Influencia de la Kisspeptina y la Hormona Inhibidora de Gonadotropinas (GnIH) en el Ciclo Reproductivo Anual de la Oveja	24
1.3. Anestro, reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto	25
1.3.1. Mecanismos de control esteroide dependiente	25
1.3.2. Mecanismo esteroide independiente.....	28
1.4. Preñez temprana.....	41
1.4.1. Reconocimiento materno de la preñez.....	41
1.5. Métodos de análisis hormonal	43
1.5.1. Principios de inmunoensayos	44
1.5.2. Técnica de Radioinmunoanálisis RIA.....	44
1.5.3. Técnica de enzimo- inmuno análisis (ELISA).....	45
Referencias	48
2. Reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano	54
Abstract	54
Resumen	55
2.1. Introducción	56
2.2. Hipótesis.....	58
2.3. Objetivos	58
2.3.1. Objetivo General	58
2.3.2. Objetivos Específicos	59
2.4. Materiales y métodos	59
2.4.1. Localización.....	59
2.4.2. Diseño experimental.....	60
2.5. Criterios para el manejo de variables	63
2.5.1. Normal alta (Tipo 1-a).....	63
2.5.2. Normal media (Tipo 1-b).....	63

2.5.3. Media (Tipo 2)	64
2.5.4. Interrupción de la ciclicidad (Tipo 3)	64
2.5.5. Anovulación prolongada (Tipo 4)	64
2.6. Aval del comité de ética para la experimentación animal	65
2.7. Análisis estadístico	65
2.8. Resultados.....	66
2.8.1. Anestro posparto	66
2.8.2. Reactivación ovárica posparto.....	66
2.8.3. Reanudación de la actividad ovárica posparto	68
2.8.4. Relación de la reactivación y reanudación de la actividad ovárica con la condición corporal y peso	74
2.9. Discusión	77
2.10 Conclusiones.....	84
2.11. Referencias	85
3. Comportamiento sexual, duración y niveles de progesterona durante el ciclo estral en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano.....	89
Abstract	89
Resumen.....	90
3.1. Introducción.....	91
3.2. Hipótesis.....	93
3.3. Objetivo	93
3.4. Materiales y métodos.....	93
3.4.1. Localización	93
3.4.2. Diseño experimental.....	94
3.5. Criterios para el manejo de variables	95
3.6. Análisis estadístico	95
3.7. Resultados.....	96
3.7.1. Eficiencia en la detección de estros por observación	96
3.7.2. Clasificación de los tipos de ciclos estrales según la longitud.....	97
3.7.3. Duración del ciclo estral	98
3.7.4. Niveles de progesterona durante el ciclo estral	98
3.8. Discusión	100
3.8.3. Eficiencia en la detección de calores.....	100
3.8.3. Clasificación de los tipos de ciclo estral según la longitud.....	102
3.8.3. Duración del ciclo estral	103
3.8.4. Niveles de progesterona durante el ciclo estral	104
3.9. Conclusiones	108
3.10. Referencias	109
4. Secuencia de cambios de progesterona sérica durante el ciclo estra normal, preñez temprana y hembra repetidora en ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano.....	113
Abstract	113
Resumen.....	114
4.1. Introducción.....	115
4.2. Hipótesis.....	117
4.3. Objetivo	117
4.4. Materiales y métodos.....	117

4.4.1. Localización.....	117
4.4.2. Diseño experimental	118
4.4.3. Protocolo de muestreo.....	119
4.4.4. Ensayo Hormonal	119
4.5. Criterios para el manejo de variables	120
4.6. Aval del comité de ética para la experimentación animal.....	120
4.7. Análisis estadístico.....	120
4.7.1. Modelo de dinámica de progesterona	121
4.8. Resultados	121
4.8.1. Preñez temprana	121
4.8.2. . Tasa de preñez.....	124
4.9. Discusión	125
4.10. Conclusiones	129
4.11. Referencias	130
5. Discusión General, Conclusiones y recomendaciones.....	132
5.1. Discusión General	132
5.2. Conclusiones.....	138
5.3. Recomendaciones.....	140
5.4. Perspectivas.....	141

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1 Patrones hormonales durante el ciclo estral ovina	9
Figura 1-2 Síntesis de Progesterona.....	17
Figura 1-3 Estructura del cuerpo lúteo	18
Figura 1-4 Control de la Ovulación ejercido por la P4	20
Figura 1-5 Ciclicidad estral según la estación	29
Figura 1-6 Sistema retino-hipotalámico de la hembra ovina	29
Figura 1-7 Esquema de la regulación de hormonas metabólicas implicadas en la función reproductiva	38
Figura 1-8 Señales sociosexuales-	40
Figura 2-1 Variables ambientales durante el periodo experimental	60
Figura 2-2 Esquema diseño experimental	61
Figura 2-3 Presentación de CL de corta vida durante el posparto en los grupos evaluados	68
Figura 2-4 Niveles máximos de progesterona durante el primer incremento posparto según el tipo de parto.....	69
Figura 2-5 Actividad ovárica normal alta (tipo 1-a)	71
Figura 2-6 Actividad ovárica normal media (Tipo 1-b)	71
Figura 2-7 Actividad ovárica media (tipo 2)	71
Figura 2-8 Interrupción de la ciclicidad (tipo 3)	72
Figura 2-9 Anovulación prolongada (tipo 4).....	72
Figura 2-10 Evolución de la condición corporal durante el posparto según el tipo racial .	75
Figura 2-11 Evolución de la condición corporal durante el posparto según el tipo de parto	75
Figura 2-12 Evolución del peso vivo durante el posparto según el tipo racial	76
Figura 2-13 Evolución del peso vivo durante el posparto según el tipo de parto	76
Figura 3-1 Esquema de la dinámica hormonal durante las fases del ciclo estral	92
Figura 3-2 Estros detectados por observación según el biotipo racial	97
Figura 3-3 Niveles de progesterona durante el ciclo estral en los biotipos evaluados. Día 0 representa el inicio del estro	99

Figura 4-1. La media de la concentración plasmática de progesterona (P_4) durante la preñez temprana	122
Figura 4-2 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Criolla.	123
Figura 4-3 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Romney Marsh	123
Figura 4-4 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Hampshire	124
Figura 4-5 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Corriedale.....	124

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1 Duración del ciclo estral	6
Tabla 1-2 Niveles de progesterona durante el ciclo estral.	22
Tabla 1-3. La reanudación de la actividad cíclica ovárica y estral en hembras ovinas.....	31
Tabla 1-4 Tasa de preñez	43
Tabla 2-1 Ovejas que reasumen su actividad ovárica antes del día 35 posparto	67
Tabla 2-2 Tipo de actividad ovárica posparto (%) presentada por grupos raciales ovinos en el trópico alto – colombiano.....	70
Tabla 3-1 Clasificación de los tipos de ciclo estral	97
Tabla 3-2 Duración del ciclo estral en cuatro tipos raciales ovinos.....	98
Tabla 3-4. La media (\pm DS) en las concentraciones plasmáticas de progesterona durante el ciclo estral en las cuatro razas evaluadas. Día 0 representa la ovulación.	99
Tabla 4-1. Tasa de concepción durante el periodo de apareamiento (32 días) en los grupos raciales evaluados	125

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

No.	Abreviatura	Término
1	FAO	Food and Agriculture Organization
2	ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
3	<i>GnRH</i>	Hormona Liberadora de las Gonadotropinas
4	<i>POA</i>	Area preóptica ventromedial
5	<i>FSH</i>	Hormona Folículo estimulante
6	<i>LH</i>	Hormona Luteinizante
7	<i>E₂</i>	Estrógenos
8	<i>P₄</i>	Progesterona
9	<i>GABA</i>	Ácido gammaminobutírico
10	<i>CE</i>	Ciclo estral
11	<i>CL</i>	Cuerpo lúteo
12	<i>Hs</i>	Horas
13	<i>cAMP</i>	Adenosín Monofosfato Cíclico
14	<i>PGs</i>	Prostaglandinas
15	<i>uPA</i>	Plasminógeno
16	<i>TNF</i>	Factor de Necrosis Tumoral
17	<i>MMP</i>	Metaloproteinasas de la matriz
18	<i>VEGF</i>	Factor de Crecimiento Endotelial Vascular
19	<i>STAR</i>	Proteína de Regulación Aguda de Esteroidogénesis
20	<i>SHBG</i>	Globulina de enlace de las hormonas sexuales
21	<i>OT</i>	Oxitocina
22	<i>NCQ</i>	Núcleo supraquiasmático
23	<i>ARC</i>	Núcleo Arcuato
24	<i>GnIH</i>	Hormona Inhibidora de las Gonadotropinas
25	<i>SCLC</i>	Síndrome de cuerpo lúteo de corta duración
26	<i>CC</i>	Condición Corporal
27	<i>NPY</i>	Neuropéptido Y
28	<i>Arg</i>	Arginina
29	<i>ON</i>	Óxido nítrico
30	<i>IFN-τ</i>	Interferón T
31	<i>Ag</i>	Antígeno
32	<i>Ab</i>	Anticuerpo

No.	Abreviatura	Término
33	<i>I125</i>	Yodo 125
34	<i>RIA</i>	<i>Radioinmunoanálisis</i>
35	<i>ELISA</i>	Enzimoimunoanálisis
36	<i>EIA</i>	Inmunoabsorción enzimática
37	<i>IEP</i>	Intervalo entre partos
38	<i>CIDTEO</i>	Centro de Investigación, Desarrollo Tecnológico y Extensión Ovino
39	<i>IPP4</i>	Intervalo Parto Primer Incremento de Progesterona
40	<i>IP10</i>	Intervalo parto primer estro observado
41	<i>IP1ER</i>	Intervalo parto primer estro regular
42	<i>Cr</i>	Criolla Colombiana
43	<i>Co</i>	Corriedale
44	<i>Hmp</i>	Hampshire
45	<i>Rm</i>	Romney Marsh
46	<i>TP</i>	Tipo de parto
47	<i>S</i>	Simple
48	<i>M</i>	Múltiple
49	<i>PPO</i>	Parto primera ovulación
50	<i>NMPIP</i>	Niveles máximos del primer incremento de progesterona
51	<i>CR</i>	Ciclo regular
52	<i>NP</i>	Niveles de progesterona
53	<i>SE</i>	Supervivencia embrionaria
54	<i>PKA</i>	Proteína quinasa A
55	<i>RE</i>	Receptores para estrógenos
56	<i>ROT</i>	Receptores para Oxitocina
57	<i>IFN-τ</i>	Interferón tau
58	<i>ME</i>	Mortalidad embrionaria

Superíndices

Superíndice	Término
<i>Ng</i>	Nano gramos
<i>MI</i>	Mililitros
<i>G</i>	Gramos

Introducción

Los ovinos desde siglos pasados han sido valorados por la humanidad principalmente por su producción de carne, leche, piel, abono y fibras (lana); de esta forma esta especie juega un importante papel en la nutrición humana (contribuyendo con los objetivos del milenio como la demanda de proteína de origen animal) y son considerados animales de gran importancia social principalmente en economías de subsistencia. Los ovinos están presentes en todos los continentes, pero la mayor parte de su población se ubica en los países menos desarrollados, lo que ha conllevado a ser un sector menos apoyado a nivel público, académico y comercial, si se compara con otros sectores de la producción animal.

En Colombia, el sector ovino ha evolucionado favorablemente observándose un aumento considerable del inventario nacional, pasando de 2.5 millones de ovinos para el año 1990 a 3.4 millones en el 2010 (FAO 2012). Con respecto al consumo per cápita de carne ovina, la FAO reporta entre los años 2002-2008 una fase de incremento del consumo, pasando de 280 a 370 g/persona/año. Este incremento en las cifras muestra una recuperación en el consumo evidenciando una renovada relevancia de esta especie en el entorno nacional (Ospina et al, 2011).

La población ovina en Colombia según el reporte del ICA 2008, se encuentra distribuida en mayor proporción en los departamentos de trópico bajo: Guajira (30.9%), Magdalena (9,11%), Córdoba (7,23%), Cesar (6,05%), Tolima (3,52%), Casanare (2,38%) y Sucre (2,25%); y en trópico alto la proporción se distribuye en los departamentos de Boyacá (11,17%), Santander (4,75%) y Cundinamarca (6,54%). Dos grandes grupos ovinos se diferencian en nuestro país, dependiendo la zona de producción: en zona de trópico bajo predomina el ovino tipo pelo, mientras que en el trópico alto el ovino tipo lana, ambos con énfasis a producción de carne. Lo anterior evidencia gran diversidad genotípica, lo que ha dado lugar al desarrollo de procesos adaptativos que han determinado una serie de

características particulares que afectan favorablemente la eficiencia reproductiva (SIGETEC, 2008).

La importancia del componente reproductivo dentro de una explotación es fundamental, puesto que es la base para el desarrollo, sostenibilidad y eficiencia de la cadena productiva. Para ello es importante conocer las particularidades de la fisiología reproductiva en la hembra ovina, que bajo parámetros estacionales se caracteriza por cambios en niveles hormonales influenciados por el fotoperiodo, determinando una alternancia anual entre dos períodos notorios: temporada reproductiva y anestro estacional (Rosa y Bryant, 2003; Foster et al. 2006; Rawlings y Bartlewski, 2007 y Valasi et al. 2012).

Colombia siendo un país tropical, ubicado encima de la línea ecuatorial en el continente suramericano, a una latitud norte de 12° y latitud sur de 4° (García 2005), presenta intensidad lumínica constante durante todos los meses del año (IDEAM 2013). Estudios revelan que en regiones templadas los cambios considerables de fotoperiodo no son un factor decisivo y otros factores medioambientales como la época de lluvia o de sequía, influyen en la reproducción del ganado ovino (Araujo et al, 2009). Por esta razón, las ovejas pueden ser completamente poliestricas no estacionales o intermitentes, siempre y cuando exista buena disponibilidad de nutrientes que cubran los requerimientos para la actividad de reproducción.

En Colombia, son pocos los estudios relacionados con la regulación endocrina de las funciones reproductivas en la hembra ovina, siendo los trabajos de Henao y Nieto, 1988; Suarez, 1993, de los pocos en describir algunas particularidades del comportamiento de los niveles séricos de progesterona durante la pubertad, ciclo estral y efecto del destete precoz sobre el comportamiento reproductivo en la oveja Romney Marsh y Criolla Colombiana. Lo anterior evidencia la carencia de conocimientos en este contexto, pues la extrapolación de los datos adquiridos en otras zonas estacionales y tropicales, no son necesariamente válidos para las condiciones de Colombia.

La duración del anestro posparto es un factor determinante y crítico del momento óptimo para iniciar la temporada de reproducción en un sistema de producción, fisiológicamente

corresponde al periodo de transición durante el cual se recupera la funcionalidad del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios-útero hasta la siguiente preñez.

En condiciones de trópico, el anestro manifiesta largos intervalos parto-primer servicio y parto-concepción (SIGETEC, 2008). Estudios previos en las producciones de Colombia, sugieren reducir estos intervalos y obtener un periodo entre partos menor a 8 meses, 3 partos en 2 años (SIGETEC, 2008). Para lograr esta meta, existe la necesidad de realizar una investigación completa que describa las características fisiológicas y endocrinas durante el anestro posparto en hembras ovinas de importancia económica bajo condiciones de trópico alto colombiano. Este conocimiento debe ser el punto de referencia para el estudio de otros eventos reproductivos y constituir un factor determinante en la formulación de pautas para el manejo de los rebaños ovinos.

El impacto reproductivo podría incurrir en la reducción del intervalo generacional, facilitando la organización de los rebaños ovinos mediante la conformación de ritmos reproductivos y determinación de las hembras aptas para el apareamiento. De la anterior forma, se pueden obtener crías uniformes de acuerdo a las condiciones de oferta y demanda en los mercados; garantizando la permanencia, continuidad y calidad de los productos de la cadena ovina. En la parte genética, se puede aumentar las posibilidades de selección mediante características óptimas de los tipos raciales evaluados. Y en el componente productivo, se lograría el aumento en el número de crías por año, garantizando una mayor productividad de la especie (Carivia y Fernández, 2006).

El objetivo de esta investigación fue investigar acerca del anestro posparto, reactivación y reanudación de la actividad ovárica, ciclo estral y preñez temprana en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones particulares del trópico alto colombiano. El contenido del documento, inicia con la revisión de literatura para ampliar el conocimiento en la fisiología reproductiva de la hembra ovina, seguido de tres capítulos correspondientes a los objetivos específicos de la investigación: Reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto, ciclo estral – comportamiento sexual y preñez temprana; terminando con la discusión general de los capítulos, conclusiones y perspectivas de investigación.

Referencias

- 1) Araujo RC, Pires AV, Susin I, Mendes CQ, Rodrigues GH, Urano FS, Ribeiro MF, Oliveira CA, Viau P, Day ML. 2009. Postpartum ovarian activity of Santa Inês lactating ewes fed diets containing soybean hulls as a replacement for coastcross (*Cynodon sp.*) hay. *Small Ruminant Research* 81(2–3):126-131.
- 2) Arroyo J. 2011a. Reproductive seasonality of sheep in Mexico. *Trop. subtrop. agroecosyt.* p. 829-845.
- 3) Arroyo J. 2011b. Reproductive seasonality of sheep in Mexico. *Trop. subtrop. agroecosyt.*
- 4) Ascari IJ, Alves AC, Pérez JRO, Lima RR, Garcia IFF, Nogueira GP, Junqueira FB, Castro TR, Aziani WLB, Alves NG. 2013. Nursing regimens: Effects on body condition, return to postpartum ovarian cyclicity in Santa Ines ewes, and performance of lambs. *Animal Reproduction Science* 140(3–4):153-163.
- 5) ATUESTA J, GONELLA A. 2013. Niveles séricos de progesterona y estradiol posaparamiento en ovejas de pelo. *Spei Domus* ISSN: 1794-7928.
- 6) BUSTOS JEA, DIAZA AMG. 2013. Niveles séricos de progesterona y estradiol posaparamiento en ovejas de pelo. *Spei Domus* ISSN: 1794-7928.
- 7) Delgado JV, León JM, Gómez M, Nogales S, Camacho ME. 2009. Las razas ovinas ibéricas y su participación en la colonización de Iberoamérica. España - Córdoba: Biodiversidad ovina Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable.
- 8) Duque Chamorro LM, Pulgarín Vergara L. 2011 Evaluación reproductiva y productiva en un rebaño de ovejas (*Ovis orientalis aries*) en el municipio de Bello, Antioquia *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24
- 9) Díaz F, Grajales H. 1993. Fertilidad y características del ciclo estral de ovejas en el trópico alto colombiano [Universidad Nacional de Colombia].
- 10) FAO. 2012. Statistics Division of the Food and Agriculture Organization (FAOSTAT). <http://faostat3.fao.org/download/Q/QA/S>.
- 11) Guesdon V, Malpoux B, Delagrangre P, Spedding M, Cornilleau F, Chesneau D, Haller J, Chaillou E. 2013. Rapid effects of melatonin on hormonal and behavioral stressful responses in ewes. *Psychoneuroendocrinology* 38(8):1426-1434.
- 12) Hayder M, Ali A. 2008. Factors affecting the postpartum uterine involution and luteal function of sheep in the subtropics. *Small Ruminant Research* 79(2–3):174-178.
- 13) Henao A. 1988. Efecto del destete precoz sobre el comportamiento reproductivo en ovinos. (Tesis de grado). Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia: Universidad Nacional de Colombia.
- 14) IDEAM. 2013. Reporte del clima 2013 febrero - diciembre. <http://institucional.ideam.gov.co>.
- 15) IGAC. 2013. Instituto Geografico Agustín Codazzi. Colombia: <http://www.igac.gov.co/>.
- 16) Lozano Márquez H. 2014. Reproducción ovina en Colombia. *Revista Ciencia Animal*.
- 17) Malpoux B, Viguié C, Skinner DC, Thiéry JC, Pelletier J, Chemineau P. 1996. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science* 42(1–4):109-117.
- 18) Moreno Vargas DC, Grajales Lombana HA. 2014. Caracterización del proceso administrativo y de mercado en los sistemas ovinos del trópico alto colombiano. *Revista Ciencia Animal* 7.
- 19) Ospina Ó. 2011. Gestión del conocimiento: mayor producción y competitividad. Perspectivas para los sistemas de producción ovino-caprinos. In: Grajales H, C CM, editors.: *Revista de Medicina Veterinaria*. p. 95-113.
- 20) Ospina Ó, Grajales H, C CM. 2011. Gestión del conocimiento: mayor producción y competitividad. Perspectivas para los sistemas de producción ovino-caprinos. *Revista de Medicina Veterinaria*. p. 95-113.
- 21) Ramírez F, Grajales L. 1993. Edad y peso a la pubertad y comportamiento reproductivo en ovejas mestizas y criollasen trópico alto colombiano. (tesis de grado): Universidad Nacional de Colombia.
- 22) Rosa HJD, Bryant MJ. 2002. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small Ruminant Research* 45(1):1-16.
- 23) SIGETEC. 2008. Desarrollo e implementación de un Sistema de Gestión Tecnológica en los Sistemas de Producción de la Cadena Ovino - Caprina para el mejoramiento de su competitividad SIGETEC. Programa de Investigación – Universidad Nacional de Colombia – Universidad de La Salle, Corpoica, ANCO. MADR – Programa Transición de la Agricultura. In: Grajales H, Ospina O, editors. Bogotá, enero 2007.
- 24) Vejarano OA. 1993. Cuantificación de líneas celulares de defensa en sangre y endometrio y su relación con niveles séricos de progesterona durante el ciclo estral en ovejas [Bogotá]: Universidad Nacional de Colombia.

1. Revisión de literatura

La fisiología reproductiva de la hembra sexualmente madura involucra el ciclo estral, gestación, anestro, reactivación y reanudación de la actividad ovárica; eventos que se caracterizan por el funcionamiento coordinado del eje hipotálamo- hipófisis- ovario.

1.1. Ciclo Estral

El ciclo estral (CE) se define como el periodo comprendido entre la aparición de un estro fisiológico y el comienzo del siguiente, el cual evidencia una serie de modificaciones de tipo morfológico y diferentes niveles hormonales Bartlewski et al., (2011) con el fin de preparar las condiciones favorables para la fecundación. Se presenta de manera rítmica y tiene una duración de 17 días en promedio con variaciones de 1-2 días como se muestra en la Tabla 1-1. Involucra el crecimiento, desarrollo, maduración de los folículos ováricos, ovulación, formación del cuerpo lúteo y luteolisis como procesos fundamentales para una efectiva reproducción en las hembras ovinas. Entre un 60 - 75% de las ovejas adultas presentan ciclos estrales, considerados dentro del rango normal con 14 a 19 días de duración (Bartlewski et al 1999; Stouffer y Hennebold 2015).

1.1.1 Fases del ciclo estral

El ciclo consta de dos fases: la fase folicular con una duración de 2 a 3 días y la fase lútea de 12 a 14 días (Stouffer y Hennebold 2015). La fase folicular (proestro y estro) es el período que involucra la receptividad al macho hasta la ovulación; fisiológicamente se produce la maduración final del oocito, ovulación y liberación en el oviducto para la fertilización. La fase lútea (metaestro y diestro) es el periodo donde se forma el cuerpo lúteo (CL) y culmina con la luteolisis.

6 Niveles de progesterona durante la reactivación ovárica posparto, ciclo estral y preñez temprana en cuatro tipos raciales ovinas bajo condiciones de trópico alto colombiano

El proestro corresponde al período que precede al estro conductual, se caracteriza por una caída en las concentraciones de progesterona como consecuencia de la luteolisis, la emergencia y crecimiento del folículo ovulatorio, que conlleva a un aumento en la concentración de estrógenos. El estro es el período que sigue al proestro, el estradiol es la hormona dominante en este evento y es la principal responsable de los cambios comportamentales correspondientes a la receptividad sexual y al apareamiento. Durante el metaestro se desarrolla un nuevo CL con funcionalidad completa, las concentraciones séricas de progesterona inician su elevación y por ultimo el diestro caracterizado por que el cuerpo lúteo termina su proceso de maduración.

Tabla 1-1 Duración del ciclo estral

Duración ciclo estral (días)	Tipo de ciclo (%)	Detección (%)	Raza	País	Referencia
17 ± 2.6 16.5 ± 0.2 17 ± 1.0 16.5 ± 0.2	Corto 14,0 Regular 57.6 Largo 12,6		Romney M.	Nueva Zelanda Brasil Uruguay Brasil	Nicolo G. et al., 2008. Animal Reproduction Science.103, 278-289 Rodríguez A et al., 2007. Scientia Agricola, 64, 468-475 Ungerfeld y Rubianes. 1999. Spanish Journal of Agricultural Research 10(1):62-68. Smith J. 1977. Theriogenology. 7, 63-72
18,0 ± 1.8 17.2 ± 0.2		80 92	Corriedale	Argentina Uruguay Argentina	Ferrería J. et al, 2008. Animal Reproduction Science103, 172-178 Rubianes E et al, 2003. Theriogenology. 60, 35-45 Rodríguez. 2013. Animal Reproduction Science 136(4):268-279.
17 ± 1.5 16.53±0.03			Hampshire	USA USA	Cárdenas H. et al, 2004. Theriogenology.62, 123-129 Ortman R. Small Ruminant Research.37,73-84
a. 17,1 ± 3,5 b. 17,3 c. 18,3 ± 0,83 d. 17,8 ± 1,7	b. Corto 12 Regular 43 Largo 45 d. Regular 82,6 Largo 17,4	e. 63,3	Criolla × Romney M. Mestizas	Colombia Trópico alto	a. Suarez (1993). (Tesis de grado) b. Osorio, M. y López, A. M. (1993) (Tesis de grado). c. Vejarano, A. (1993). (Tesis de maestría). d. Díaz y Grajales, 1993s (Tesis de grado) e. Henao y Nieto, 1988. Tesis grado Universidad Nacional de Colombia

- **Comportamiento estral**

El estro conductual se divide en tres actividades bien diferenciadas: Atractividad, proceptividad y receptividad (Fabre-Nys y Gelez 2007). La Atractividad se caracteriza por la presentación de comportamientos pasivos que hace la hembra para atraer al cordero. La proceptividad involucra actividades motoras en las que busca de forma más activa al cordero, con movimientos de la cola, buscando el flanco del cordero con localización y olfateo (Fabre-Nys y Gelez 2007); este comportamiento se presenta en el 75 % de las ovejas cíclicas a diferencia de las ovejas en anestro que buscan permanecer siempre con hembras. La receptividad es cuando la oveja permite la monta este momento es el óptimo para identificar y monitorear el comportamiento sexual (Stouffer y Hennebold 2015). Todo el periodo definido como estro conductual dura entre 24 a 36 h, donde el pico preovulatorio de LH coincide con el inicio de la conducta estral (Fabre-Nys y Gelez 2007). El método de detección y monitoreo generalmente utiliza corderos vasectomizados (con chaleco marcador) donde el primer día del estro es designado con el día 0 de la función ovárica.

1.2.2. Endocrinología del ciclo estral

- **Patrones de GnRH y LH**

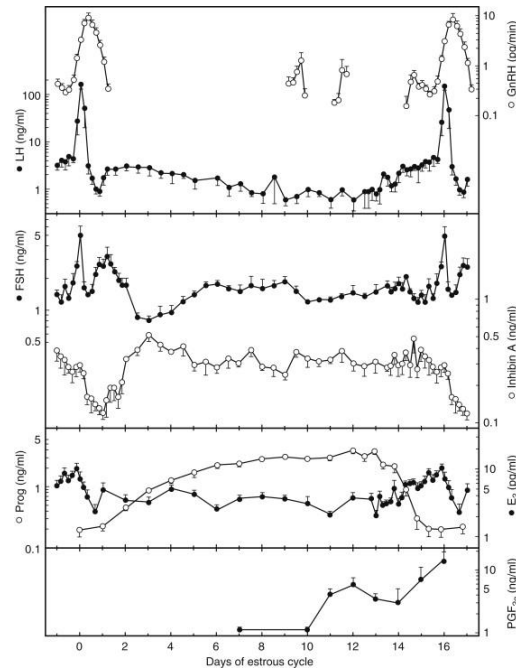
El sistema neuroendocrino del eje hipotálamo, la hipófisis y los ovarios interactúan con el objetivo de regular jerárquicamente la liberación de la Hormona Liberadora de las Gonadotropinas – GnRH (Goff et al., 2013; Herbison 2015 y Smith 2012). La GnRH se produce en el hipotálamo por la red neuronal de células gliales ubicadas principalmente en el área preóptica ventromedial (POA), es un péptido de 10 aminoácidos (Clarke y Pompolo 2005; Tsutsumi y Webster, 2011), que viaja por el sistema porta hipofisiario y estimula los receptores de GnRH ubicados en la adenohipófisis, liberando la secreción de gonadotropinas (Herbison 2015; Clarke y Pompolo, 2005).

El ciclo estral asocia una secuencia de eventos endocrinos regulados por la secreción tónica de GnRH que está estrechamente relacionada con los pulsos de LH. Pulsos rítmicos de LH generados por la GnRH prevalecen en todos los estados reproductivos, incluyendo

el período antes, durante y después de la oleada preovulatoria de gonadotropinas (Bartlewski et al 2011). Un aumento en la frecuencia de pulsos de LH anuncia el pico preovulatorio (Stouffer y Hennebold 2015) que se produce alrededor de 22 a 26 horas antes de la ovulación (Shabankareh et al., 2009). Durante el pico preovulatorio los niveles de LH alcanzan a subir entre 50- 100 veces más de los niveles basales, este evento coincide con el comportamiento estral como se ilustra en la Figura 1-1. El mecanismo de regulación de estas dos hormonas se da por dos vías diferentes: La secreción tónica, frecuencia y amplitud, de la LH es modulada por acción de retroalimentación determinada por esteroides ováricos, como la progesterona (P_4) y estradiol (E_2) (Contreras et al., 2008; Shabankareh et al., 2009). Igualmente, la LH permite el aumento de las concentraciones de estradiol en la fase folicular y la ovulación induciendo la formación del cuerpo lúteo. La liberación pulsátil de LH está inversamente relacionada con los niveles circulantes de P_4 (Shabankareh et al., 2009). Las concentraciones séricas y la frecuencia de pulsos de LH disminuyen gradualmente entre los días 1 a 9, mientras el CL y los niveles de P_4 aumentan. Los niveles de LH se mantienen bajos hasta el día 14 y vuelven a incrementarse durante la nueva fase folicular y la luteolisis (Stouffer, 2015). Figura 1-1.

El aumento sostenido de gonadotropinas se produce cuando disminuye las concentraciones de P_4 , aumentando la secreción de estradiol en la fase final del ciclo estral (Stouffer y Hennebold 2015). Ninguno de los parámetros de la secreción pulsátil de LH varía, ni con la aparición de la onda folicular final o con la fase final del folículo más grande en crecimiento de la penúltima onda del ciclo. Estas observaciones indican que la secreción de LH durante la fase lútea del ciclo estral ovino refleja la actividad de desarrollo y secreción del CL, y sólo un aumento de la amplitud de pulso de LH puede estar vinculado a la fase de crecimiento de folículos emergentes en el inicio del ciclo. Figura 1-1.

Figura 1-1 Patrones hormonales durante el ciclo estral ovina



Tomado de Hazlerigg y Simonneaux 2015

1.2.3. Fase Folicular

- **Foliculogénesis**

La foliculogénesis en la hembra ovina al igual que muchas especies mamíferas inicia con el desarrollo de las células germinales primordiales que migran y se someten a un número limitado de divisiones meióticas hasta llegar a la cresta gonadal (Berisha y Schams, 2005) las cuales se internalizan en el epitelio germinal, cesan la división meiótica y se encierran en una especie de cordones (compuesto de células epiteliales y basales) convirtiéndose en las llamadas “oogonias” (Pangas y Rajkovic 2015; Berisha y Schams, 2005). La meiosis de oogonias no avanza más allá de la etapa de paquiteno de la profase I, la cual es seguida por la foliculogénesis inicial y subsiguiente desarrollo folicular temprano durante la vida prenatal (Pangas y Rajkovic 2015). Al llegar a la etapa de diploteno en la profase meiótica, el oocito está rodeado por una capa única de células escamosas de la granulosa y un depósito de folículos primordiales es establecido desde 40.000 a 300.000 en corderas (Bartlewski et al 2011; Shabankareh et al 2010). Posteriormente los folículos primordiales en los ovarios de corderas por un proceso de muerte celular masiva (apoptosis) disminuyen

aproximadamente en un 20% a mediados de la gestación hasta el nacimiento (Pangas y Rajkovic 2015; Shabankareh et al 2010; Bartlewski et al 2011). Los folículos primarios se caracterizan por tener una sola capa de células de la granulosa cuboidales que rodean el oocito, cuando los folículos se convierten en secundarios, tienen dos a tres capas de células cuboidales de la granulosa (Bartlewski et al 2011). Células de la teca comienzan a diferenciarse y varias cavidades llenas de líquido se forman en los folículos constituyendo el folículo antral, terciario o de Graaf (Berisha y Schams, 2005; Bartlewski et al 2011). Hacia el final de la etapa temprana de la foliculogénesis, los folículos ováricos son sensibles a las gonadotropinas (FSH y LH) como requisito previo para el continuo crecimiento folicular antral y la maduración (Pangas y Rajkovic 2015; Berisha y Schams, 2005). Con la edad de la pubertad, madurez y edad adulta, el folículo de Graaf procede a la etapa preovulatoria y la meiosis continúa a metafase II (Bartlewski et al 2011; Stouffer y Hennebold 2015).

▪ **El patrón de desarrollo de onda folicular**

En la oveja, los folículos ováricos antrales (2 a 3 mm de diámetro) surgen a partir de un grupo de pequeños folículos en forma de un patrón de onda cada 4 a 5 días (Martinez et al 2015; Shabankareh et al 2010; Viñoles et al 1999), alcanzando un diámetro de 5 mm antes de la ovulación o regresión (Bartlewski et al 1999; Martinez et al 2015; Seekallu et al 2010^a; Evans 2003 y Seekallu, 2010). Normalmente hay de dos a cuatro ondas foliculares por ciclo estral (Seekallu et al 2010b; Valasi et al 2013), cada onda es precedida por un pico de las concentraciones séricas de la hormona FSH (Bartlewski et al 2011; Seekallu et al 2010b). Además, la emergencia de la onda folicular está asociado con la aparición de aumentos transitorios en las concentraciones séricas de estradiol (Shabankareh et al 2010; Bartlewski et al 2011). Estudios demuestran las relaciones entre los patrones de secreción de FSH y la onda emergencia en ovejas; pues la FSH controla principalmente la etapa inicial del crecimiento del folículo antral (Bartlewski et al, 2011).

Uno de los fenómenos más intrigantes de la foliculogénesis en los rumiantes es de dominancia folicular, el proceso mediante el cual el folículo o los folículos seleccionados continúan desarrollándose, mientras que otros sufren atresia (Shabankareh et al, 2010).

La evidencia sobre dominancia folicular todavía no está claro (Shabankareh et al, 2010 y Bartlewski et al 2011) sobretodo en la fase lutea media del ciclo estral de la hembra ovina (Contreras et al., 2008; Shabankareh et al., 2009). Estudios demuestran que las ondas foliculares involucran 4 a 5 folículos en etapa final de desarrollo, donde los folículos antrales e incluso periovulatorios pueden ovular simultáneamente y así se explica la prolificidad en ovejas (Bartlewski et al 1999; Viñoles et al 1999). Con lo anterior, el hecho que más de un folículo adquiera la capacidad de alcanzar un tamaño ovulatorio en una sola onda y/o los folículos de dos ondas consecutivas ovulen al mismo tiempo sugiere que la dominancia folicular es débil o ausente en la oveja (Viñoles et al 1999); aunque existe reportes de varios investigadores donde han postulado la existencia de esta dominancia en la fase folicular y lutea temprana (Shabankareh et al 2010; Contreras et al., 2008 y González et al., 2004).

▪ **Secreción de FSH**

Las concentraciones basales de FSH en suero aumentan al tiempo de la aparición de la onda folicular (González et al, 2004). La frecuencia de pulsos de FSH aumenta durante la fase final de crecimiento del folículo antral en desarrollo, en el diestro temprano. Los aumentos de la concentración media y basal de FSH están fuertemente asociados con los días de emergencia de la onda folicular en todo el ciclo estral de oveja (Bartlewski et al, 2011); se presenta un aumento de la frecuencia de pulso de FSH durante la fase de crecimiento folicular y en la mitad del ciclo, y una disminución de la frecuencia en el inicio de la fase lútea, cuando aumenta la secreción de P₄ (Shabankareh et al., 2009).

La principal característica del patrón de secreción de FSH durante el período periovulatorio es la ocurrencia de dos períodos consecutivos. El primero de estos aumentos repentinos coincide con el pico preovulatorio de LH y tiene una duración de 8 a 12 hs, y el segundo ocurre entre las 20 a 28 horas posteriores (González et al, 2004), siendo la segunda descarga de FSH inferior en amplitud, pero es de mayor duración. Esto sugiere que la oleada preovulatoria de FSH surge de la acción de la GnRH, que anula los efectos inhibitorios sobre la liberación de FSH durante ese tiempo. El segundo aumento de FSH se produce después de la ovulación, que efectivamente termina con la secreción de inhibidores foliculares para FSH (Bartlewski et al 2011). Estos perfiles pueden observarse en la Figura 1-1

Durante la fase lútea hacia los días 4 y 6 se presenta un aumento gradual en los niveles de FSH momento en el cual coincide con la presentación de la segunda onda de crecimiento folicular. Pequeños incrementos en los niveles de FSH se presentan en intervalos de 3 a 6 días durante la fase lútea correspondientes al crecimiento de ondas foliculares (González et al, 2004).

▪ **La secreción de estradiol y su influencia en el crecimiento folicular**

Durante el ciclo estral hay 3-4 aumentos importantes en los niveles de estradiol (Bartlewski et al, 2011). El primer aumento se produce un día después de la luteolisis y está vinculado al aumento de la frecuencia de pulso de LH (Shabankareh et al 2010). Un aumento continuo de E₂ durante la fase folicular del ciclo estral evidencia un aumento en el número de receptores de LH en los folículos preovulatorios (Shabankareh et al 2010; Viñoles et al 1999; Shabankareh et al, 2010; Bartlewski et al, 2011). En el momento del pico preovulatorio de LH, las concentraciones de progesterona aumentan en el fluido folicular mientras que las concentraciones de estradiol disminuyen a un mínimo valor (dentro de 16-24 h del pico de LH) (Rawlings y Cook, 1993; Shabankareh et al., 2009). Adicionalmente Bartlewski et al. (1999) reportaron que las concentraciones de estradiol en suero son significativamente mayores en los días 2-5 y 14-15 del ciclo estral. Pequeños incrementos en la secreción E₂ ocurren durante la fase luteal en intervalos (de 3-4 días) (Bartlewski et al., 1999). Estudios en ovejas tipo pelo, Contreras et al., 2008, mostraron un perfil sérico de estradiol de dos picos; uno durante el día 5 y el otro al día 10 del ciclo estral (un pico más pequeño). Tal aumento en la concentración sérica de estradiol durante la fase luteal temprana también se ha demostrado en el estudio (González et al, 2004). La concentración sérica de estradiol registrada para ovejas tipo pelo fue menor que lo reportado para ovejas tipo lana (Duggavathi et al., 2003), que puede estar relacionado con la edad y el peso. Se sabe que la raza puede tener un efecto en la concentración máxima de esteroides secretadas (Shabankareh et al, 2010 y Bartlewski et al., 1999).

▪ **Ovulación**

El proceso de ovulación de la hembra ovina, está igualmente regulado por el eje hipotálamo- hipófisis- ovario y por conexiones intraovaricas que operan entre las células de la granulosa, célula de la teca y oocito (Richards et al., 2015). Este proceso involucra la ruptura del folículo, liberación del oocito, rodeado de células del cúmulus.

Bioquímicamente el efecto inicial del pico de LH aumenta el cAMP cíclico, bloqueando la síntesis de estradiol, que es sintetizado a partir de la a través de andrógenos. El aumento resultante de la P_4 en el tejido folicular contribuye a aumentos en la secreción de PGE2 y PGF2 α , que contribuyen de forma secuencial a la hiperemia del folículo; la actividad proteolítica por parte de la PGE2 y las contracciones de células de músculo liso por la PGF2 α en la pared folicular (Berisha y Schams 2005). El proceso de ruptura del folículo ovárico y expansión del complejo cumulo oocito se realiza mediante la formación de una matriz extracelular rica en ácido hialurónico, que permite la extrusión exitosa de los oocitos de la superficie del ovario. En la superficie del ovario se generan cambios morfológicos que implican la disolución de colágeno en la capa de la teca y el consecuente adelgazamiento del estroma. Una red vascular, en la célula de la teca, se caracteriza por la hiperemia y dilatación, indicativo de actividad inflamatoria producida por células somáticas donde las prostaglandinas (PGs), citoquinas, quimiocinas son liberadas como proceso de angiogénesis. Adicionalmente el plasminógeno (uPA) de la superficie del epitelio ovárico estimula la conversión intersticial de plasminógeno a plasmina, que activa colagenasas latentes en la pared folicular apical y libera factores de necrosis tumoral TNF desde el endotelio tecal. Colagenólisis, potenciada por el aumento en la transcripción de metaloproteinasas de la matriz (MMP) en respuesta a TNF, y respaldada por progesterona y prostaglandinas, debilita y adelgaza la pared folicular apical, dando lugar a la estigmatización y la formación de la ruptura. Inhibidores tisulares de MMPs limitan el grado de daños proteolíticos y contribuyen a la remodelación del colágeno durante la transición-folículo luteal (Richards et al 2015; Stouffer y Hennebold 2015).

▪ **Tasa de ovulación**

La tasa de ovulación está influenciada por los perfiles hormonales, factores genéticos y factores ambientales entre otros. La progesterona es la hormona que tiene mayor influencia; cuando los niveles están basales se produce la ovulación con la respectiva

angiogénesis. Diversos estudios han demostrado que razas prolíficas tienen mayor concentración de P_4 comparadas con hembras menos prolíficas (Shabankareh, 2009 y Bartlewski et al, 2009).

1.2.4. Luteinización

El crecimiento y desarrollo de la CL dependen del establecimiento y un adecuado suministro vascular (Berisha y Schams 2005). Las células de la granulosa parecen ser responsables de una producción significativa de factores angiogénicos, que puede difundir al espacio de la teca y acumularse en el líquido folicular creando un gradiente de angiogénesis de atracción para los vasos sanguíneos cerca de la capa granulosa constituyendo la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de una red vascular ya existente, y se rige principalmente por el sistema regulado por los miembros del factor de crecimiento endotelial vascular - VEGF (Berisha y Schams 2005; Christensen et al 2014). La mayoría de los vasos sanguíneos de la CL se derivan de la capa de teca y el desarrollo vascular se origina a partir de la red vascular.

- **Formación del cuerpo lúteo**

Después de que se produce el pico preovulatorio de LH y la ovulación; se inicia el cambio biológico y bioquímico en las células de la teca interna y la granulosa del folículo ovulatorio terminando con la luteinización del CL. El CL es considerado un órgano endocrino transitorio compuesto de: células endoteliales, células luteales largas esteroidogénicas, células luteales pequeñas, fibroblastos entre otras que interactúan para el crecimiento normal del mismo (Berisha y Schams 2005; Sangha et al 2002). EL desarrollo del CL depende del proceso de angiogénesis con el adecuado suministro de flujo sanguíneo que está directamente relacionado con el volumen del CL y la producción de progesterona (Acosta y Miyamoto 2004; Christensen et al 2012). El incremento en la concentración de P_4 se evidencia en el plasma a los 2- 3 días post ovulación, en el momento de la angiogénesis (Acosta y Miyamoto 2004; Stouffer y Hennebold 2015); posteriormente, alrededor del día 6 a 9, el CL alcanza el mayor diámetro 11-14 mm y la regresión inicia el

día 13 a 16 donde las células inician un proceso de apoptosis y los niveles de P_4 disminuyen (Bartlewski et al 2011; Sangha et al 2002).

▪ **Síntesis de Progesterona y Estrógenos**

La síntesis de progesterona y estrógenos se lleva a cabo en el ovario principalmente, aunque la P_4 también puede ser producida por placenta y la corteza de la glándula adrenal. Todos los esteroides incluyendo los E_2 y la P_4 son sintetizados a partir del colesterol (Greaves et al 2014; Sangha et al 2002). El mecanismo bioquímico por el cual se estimula la secreción de P_4 involucra la unión de LH al receptor (receptor de siete fragmentos transmembranales – acoplados a la proteína G), con lo cual se activa el sistema adenilato ciclasa, lo que convierte el ATP en AMP cíclico (AMPC), por lo cual se activa el sistema proteína Kinasa A (PKA), fosforilando las enzimas involucradas en la esteroidogénesis como la colesterol- esterasa (Sangha et al 2002), lo que mejora el transporte del colesterol desde el citoplasma a la membrana mitocondrial externa (el colesterol puede difundir libremente en el citosol y llegar a la mitocondria sin unirse a la proteína transportadora de esteroles – SCP -2), o ser dirigido activamente por diversas proteínas, incluyendo la proteína NPC1. El transporte de colesterol a la membrana mitocondrial interna involucra la proteína regulación aguda de esteroidogénesis (STAR), posiblemente en estrecha asociación con el receptor TSPO-benzodiazepina de tipo periférico y un ligando endógeno (por ejemplo, inhibidor, la unión diazepam (DBI) (Stouffer y Hennebold 2015), de allí al interior de las células luteales pequeñas (Stouffer y Hennebold 2015). En el folículo mayor, el colesterol es catalizado por la enzima citocromo P450 (P450_{scc} o CYP11A1) según lo revisado por Stouffer y Hennebold (2015), mediante la adrenodoxina y la adrenodoxina reductasa ocurre la ruptura de la cadena lateral del colesterol para producir pregnenolona (Sangha et al 2002). Ver Figura 1-2. La pregnenolona está constituida por dos residuos hidrofílicos lo que la hace más móvil en el interior de la célula y permite que se difunda hacia el retículo endoplasmático liso, donde es convertida a P_4 por la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β HSD) (Sangha et al 2002; Stouffer y Hennebold 2015). Posterior a la síntesis de P_4 es transportada a la sangre por una globulina de enlace de las hormonas sexuales (SHBG), específicamente la globulina fijadora del cortisol (CGB). Su acción se observa después de que el tejido blanco se ha expuesto durante cierto tiempo a la estimulación de estrógenos. A nivel de hipotálamo ejerce efecto de “*feedback* negativo” sobre el control de la actividad tónica de GnRH.

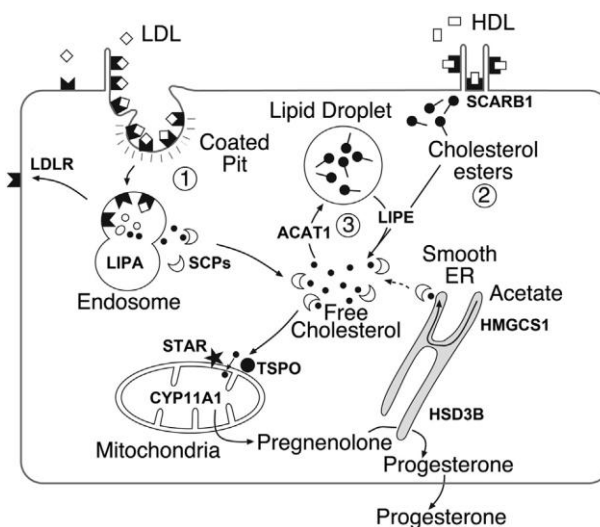
La producción de estrógenos se da por la interacción de la LH con su receptor ubicado en las células de la teca interna produciendo la androsteridiona a partir de la progesterona (Stouffer y Hennebold 2015). La androstetidiona pasa a través de la membrana basal a las células de la granulosa en donde es aromatisada por las enzimas P450 y P450 17- α (tiene acción 17- hidroxilasa y 17,20 liasa), convirtiéndose de esta manera en estradiol (Sangha et al 2002). El estrógeno pasa al líquido folicular, luego a circulación y a órganos blancos a ejercer múltiples efectos. Recordemos que el E₂ regula la secreción de GnRH estimulando la onda preovulatoria GnRH/LH. La P₄ puede bloquear el efecto de “feedback positivo” inducido por el E₂ durante la fase lútea (Bartlewski et al 1999; Berisha y Schams 2005; Sangha et al 2002).

▪ Tipos de células lúteales y regulación

En las ovejas se ha comprobado la existencia de dos tipos de células lúteales, correspondientes a las células lúteales grandes ($\geq 20 \mu\text{m}$ de diametro) originadas de las células de la granulosa y células lúteales pequeñas ($< 17 \mu\text{m}$) originadas de la teca. Se ha analizado que las células lúteas grandes tienen mayor capacidad de sintetizar esteroides. La síntesis de progesterona se produce en mayor proporción por las células lúteas grandes, bioquímicamente se asocia que estas células tienen una mayor expresión de enzimas como citocromo P450 (CYP11A1) y HSD3B, además que el transporte mitocondrial de colesterol es mayor. El mecanismo responsable de mantener la tasa de esteroidogénesis alta sugiere la participación de la proteína quinasa y STAR en las células grandes. También hay diferencias marcadas entre las células lúteas respecto al nivel de respuesta hormonal y los receptores por ejemplo las células lúteas pequeñas son más sensibles a la gonadotropina LH (Stouffer y Hennebold 2015). Estudios en rumiantes, sugieren que las células lúteas pequeñas pueden transformarse en células lútea grandes a medida que la vida media del cuerpo lúteo progresa, este fenómeno implica una mayor diferenciación celular e hipertrofia. Generalmente el aumento en el número y tamaño de células esteroideogénicas lúteas se da en la fase lútea media, mientras que el número de células disminuyen a final del ciclo estral. Probablemente el aumento del tamaño de las células lúteales va en conjunto con la angiogénesis en el periodo de luteinización, evento que se evidencia en paralelo con el aumento de progesterona (Stouffer y Hennebold 2015).

Durante la luteólisis de la hembra ovina, disminuyen primero el número de células lúteales pequeñas y células endoteliales, seguido de las células lúteales grandes.

Figura 1-2 Síntesis de Progesterona



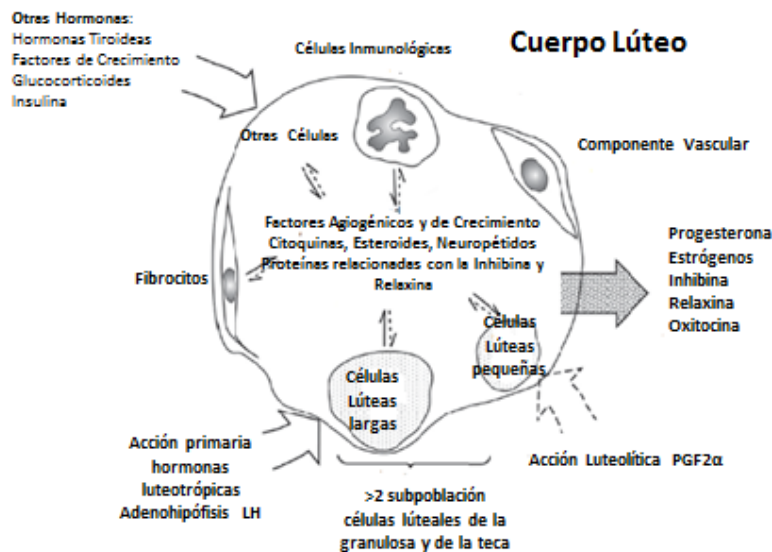
Existen tres principales fuentes de colesterol intracelular no esterificado (libre) para la síntesis de progesterona en las células lúteas. 1. El receptor de LDL es el mediador de la principal de la internalización y la fusión con los lisosomas para formar endosomas, donde la lipasa ácida lisosomal (LIPA) genera el colesterol libre 2. El receptor de HDL (SCARB1) vía en la que la hormona es sensible a la lipasa (LIPE) genera colesterol libre 3. El almacenamiento de colesterol libre en gotas lipídicas es catalizado vía ACAT1 para la formación de éster e hidrolizado por LIPE tomado de Sangha et al., (2002).

- **Las concentraciones séricas de progesterona y sus relaciones con el desarrollo del CL y la dinámica folicular**

La LH con su acción luteotrópica es fundamental para el subsecuente desarrollo de la progesterona a lo largo de la fase lútea, desde la ovulación hasta el inicio de la luteólisis, reflejando factores internos dentro del cuerpo lúteo para su capacidad secretora. El CL es una glándula endocrina transitoria que se forma en el ovario después de la ovulación y es necesaria para la producción de P_4 , siendo indispensable para la regulación del ciclo estral (El-Sherry et al 2013; Stouffer y Hennebold 2015). El CL de la oveja se forma principalmente por la acción de la hormona LH, que inicia una cascada funcional y morfológica de cambios en las células de la granulosa y teca tras la ruptura del o los folículos ováricos (Stouffer y Hennebold 2015); el apoyo de la LH es fundamental para el crecimiento inicial y la diferenciación celular (Bartlewski et al 2011) Figura 1-3. El diámetro del CL, alrededor de

los 3 a 4 días posteriores a la ovulación, es de 6-8mm y alcanza su diámetro máximo de 11-14 mm a los 6 días más tarde (Bartlewski et al 1999; Niswender et al., 2000). La luteolisis se produce entre los días 12 y 15 después de ovulación (Bartlewski et al 2011 y Shabankareh et al., 2009).

Figura 1-3 Estructura del cuerpo lúteo



Tomado de Stouffer y Hennebold (2015)

▪ Control lúteo de la progesterona

La vida media del cuerpo lúteo está controlada por factores luteotrópicos de la adenohipófisis (GnRH/LH) y factores luteolíticos del útero PGF_{2α}; ambos factores regulados por la progesterona. La GnRH es muy sensible al efecto de retroalimentación negativa causado por la P₄, de esta manera la hormona garantiza la ciclicidad estral. La frecuencia de secreción de GnRH y LH están inversamente correlacionados con las concentraciones de P₄ durante el ciclo estral, incluso Stouffer y Hennebold (2015) sugiere

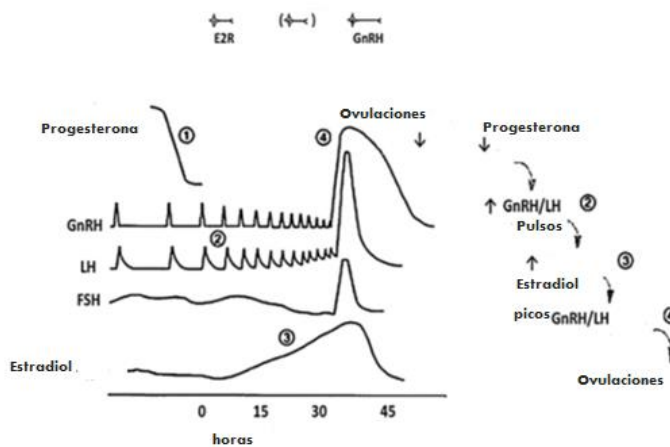
que la P_4 posiblemente tiene acción directa en la adenohipófisis por lo que inhibe la secreción pulsátil de LH directamente.

El patrón de cambios en la concentración circulante de P_4 durante la fase lútea del ciclo estral en ovejas ha sido descrito y confirmado con precisión (Fordea N et al, 2011 y Shabankareh et al., 2009). La Tabla 4 resume estudios con las concentraciones de progesterona durante las fases del ciclo estral. La alta concentración de progesterona durante fase lútea tiene varias acciones principales que son fundamentales para la regulación del ciclo estral. La progesterona prepara los centros en el cerebro, controlando el comportamiento estral y el aumento de la GnRH, de modo así que el aumento de estradiol en la fase folicular induce estró (Rodríguez et al., 2013). El aumento precoz de P_4 a (días 3-5) inhibe la secreción de $PGF2\alpha$ uterina, pero también programa el útero para que inicie la secreción episódica de $PGF2\alpha$ 7-8 días más tarde; igualmente modifica la función uterina así que ninguna secreción prematura de $PGF2\alpha$ ocurre al principio del siguiente ciclo estral, asegurando una fase lútea adecuada que garantiza una longitud del ciclo estral normal (Abi et al., 2005).

Finalmente, la progesterona inhibe la secreción de LH por la supresión de la frecuencia tónica de GnRH como se ilustra en la Figura 1-4; de modo que las concentraciones circulantes de LH disminuyen a su punto más bajo en la mitad del ciclo y siendo aún más bajo en la luteólisis. Figura 1-1. Las bajas concentraciones de LH son necesarias para el desarrollo de las ondas foliculares, y el apoyo es mínimo para la función lútea permitiendo el aumento de la $PGF2\alpha$, que se produce entre los días 11 y 13, inducir la luteólisis. A partir de este evento los niveles de P_4 caen precipitadamente, liberando al sistema neuronal hipotálamico, afectado inhibitoriamente por los niveles de P_4 . Los pulsos y la frecuencia de GnRH aumentan con el subsecuente incremento de las concentraciones tónicas de LH para el crecimiento folicular y estimular la secreción de estradiol desde el ovario (Abi et al., 2005). La elevación de los niveles circulantes de estradiol en la fase folicular provoca el comportamiento estral y la oleada preovulatoria de LH y GnRH y de nuevo programa la secreción normal de $PGF2\alpha$ del otro ciclo. El pico de LH finalmente induce la ovulación y luteinización de manera que comienza el siguiente ciclo. Al mismo tiempo que estos eventos se producen, un evento coordinado de retroalimentación entre los folículos en desarrollo y la secreción de FSH determina la dinámica folicular. El pico preovulatorio de LH termina con la secreción de estradiol e inhibina, por parte del ovario, y la caída de estas

dos hormonas permite aumentar las concentraciones de FSH: Este aumento de la hormona folículo estimulante y la presencia de LH de manera tónica estimulan el desarrollo folicular. El estradiol y la inhibina aumentan a medida que una cohorte de folículos se desarrolla; estas hormonas ováricas a su vez inhiben la secreción de FSH, lo que induce la atresia de estos folículos siempre y cuando la secreción tónica de LH sea baja. Figura 1-1.

Figura 1-4 Control de la Ovulación ejercido por la P4



Tomado de (Clarke y Pompolo 2005)

Como la función folicular se desvanece, la caída de las concentraciones de FSH vuelven a aumentar otra vez, y una segunda ola de folículos comienza a desarrollarse. Esta secuencia temporal se repite a lo largo de la fase lútea (excepto si aumentan las concentraciones de estradiol a nivel sistémico), produciendo varias oleadas de desarrollo folicular. Los mecanismos de selección y dominancia en las ovejas siguen siendo controversiales, la retroalimentación de la FSH con las hormonas foliculares sumando las bajas concentraciones de LH posiblemente hagan débil la “dominancia” folicular en la hembra ovina (Contreras et al., 2008) sobretodo en la fase lútea media; de esta manera se asegura que los ovarios siempre tengan folículos listos para comenzar la fase final preovulatoria, ovulación y la respectiva luteolisis. Cuando la luteolisis ocurre, aumenta la

frecuencia de pulsos de LH, se mantiene el crecimiento folicular, disminuyen los niveles de FSH y se presenta la dominancia folicular dentro de esa onda (Shabankareh et al., 2009).

La retroalimentación negativa causada por el efecto de la inhibina A y E2 hacia la secreción de FSH, son independientes de la acción de la progesterona; en consecuencia, los cambios en los niveles de FSH juegan un pequeño papel para determinar los eventos del ciclo estral (Figura 1-1). En cuanto a la tasa de ovulación, la secreción de FSH en las ovulaciones simples o múltiples suelen ser muy similares.

Es interesante reconocer la importancia de las concentraciones de progesterona: Si se encuentran en niveles altos, la secreción tónica de LH se suprime y en consecuencia el aumento de estradiol no puede ocurrir. Si la P₄ presenta caída de los niveles, aumenta y estimula la secreción del pulso tónico de LH con el subsecuente incremento de estradiol preovulatorio, como se ilustra en los perfiles hormonales de la Figura 1-1. Con lo anterior se sugiere que el cuerpo lúteo representa el componente regulador que se puede denominar el “reloj biológico” del ciclo estral.

▪ **Niveles de progesterona durante el ciclo estral**

Las concentraciones de progesterona son muy bajas al inicio del ciclo estral, posteriormente suben gradualmente en paralelo con el volumen de tejido lúteo (Shabankareh et al., 2009). Entre los días 2 al 8 alcanzan los niveles máximos, que oscilan entre 1,5ng/ml a 4ng/ml dependiendo la raza, manteniéndose constantes entre el día 8 a 14 y luego caen rápidamente alcanzando su punto más bajo antes del siguiente estro y ovulación (Stouffer y Hennebold 2015; Shabankareh et al., 2009 y Contreras et al., 2008). Bartlewski et al (1999) confirma que durante el ciclo estral normal de la oveja, las concentraciones séricas de progesterona están relacionadas con el volumen total de tejido lúteo, encontrando variación entre razas prolíficas y no prolíficas (Bartlewski et al (1999 y Karami et al 2009). Estudios de monitoreo ecográficos han revelado que los cambios en tamaño de CL correlacionadas con las concentraciones de progesterona en suero durante la formación de CL y la luteólisis (Bartlewski et al 1999; Fthenakis et al 2012 y Contreras et al., 2008).

Tabla 1-2 Niveles de progesterona durante el ciclo estral.

Raza	Valores de Progesterona ng /ml	País	Referencia
Corriedale	Folicular: 0.7 ± 0.2 Lútea temprana: 2.5 ± 0.4 Folicular: 0.41 ± 0.2 Lútea temprana: 2.8 ± 0.53 Lútea tardía: 3.25 ± 0.34	Uruguay India	Rubianes et al, 1996. Canadian Journal of Animal Science. 76, 473-47 Ganaie B et al, 2009. Small Ruminant Research. 85, 135-141
Western white face	Folicular: 0.46 ± 0.3 Lútea temprana: 2.63 ± 0.2 Lútea tardía: 3.26 ± 0.4	Canadá	Bartlewski P. et al, 1999. Theriogenology. 51, 813-827
Merino Rambouillet.	Folicular: $0.82 \pm 0.2 / 0.43 \pm 0.1$ Lútea temprana: $2.31 \pm 0.2 / 1.84 \pm 0.3$ Lútea tardía: $3.63 \pm 0.4 / 2.18 \pm 0.3$	Canadá	Seekallu S. et al., 2010. Theriogenology. 73, 670-680
Criolla Colombiana	Folicular: 0.54 Lútea temprana: 2.57 Lútea tardía: 3.44	Colombia	Ramírez y Suarez. (1993). Tesis (Zootecnista) - Universidad Nacional de Colombia
Saloia	Folicular: 0.2 ± 0.03 Lútea temprana: 2.1 ± 0.2 Lútea tardía: 3.3 ± 0.4	Portugal	Chagas J. et al., 2003. Theriogenology. 60, 521-532

1.2.5. Luteólisis

Los rumiantes, incluyendo la hembra ovina, utilizan un complejo sistema uterino para controlar la duración del cuerpo lúteo y el posterior retorno al estro. Cuando la hembra no es fecundada se produce la regresión del CI, proceso denominado luteolisis, el cual es esencial para el desarrollo, crecimiento y maduración folicular de una nueva ovulación (Acosta y Miyamoto 2004). La luteolisis es regulada por péptidos que tienen acción paracrina y autocrina (Sangha et al 2002). Hormonas como la inhibina, relaxina, oxitocina y vasopresina también están involucradas en este proceso.

La relaxina está asociada a la producción de diferentes células ováricas, también modula el crecimiento folicular y la ovulación (Sangha et al 2002). En cabras se ha asociado la

relaxina con la disminución de células luteales en la luteolisis y en las ovejas se reporta una limitada cantidad de relaxina durante la etapa de gestación.

La Oxitocina (OT) es sintetizada en el hipotálamo y almacenada en la neurohipofisis, aunque también es producida por las células luteales grandes de las hembras rumiantes. Las funciones de la OT son muy marcadas en la fase folicular del ciclo estral, en donde facilita el transporte de gametos masculinos y femeninos al oviducto. Esta hormona también actúa en el proceso de relajación del útero durante el parto y favorece el proceso de la lactancia. Durante la luteinización del CL, la producción de OT se incrementa por acción de las gonadotropinas y factores de crecimiento como la insulina. Posteriormente la OT lútea se comunica con los receptores de OT del endometrio uterino e induce la liberación de la Prostaglandina ($\text{PGF}_2\alpha$), activando la casacada luteolítica que conduce a la luteólisis (Berisha y Schams 2005; El-Sherry et al 2013; Sangha et al 2002).

La Prostaglandina es producida en las glándulas endometriales uterinas y llega al ovario por la arteria uterina, donde ejerce la rápida regresión funcional del CL; evento caracterizado por la disminución en la producción de P_4 (Bartlewski et al 2011; El-Sherry et al 2013) por lo anterior, en las ovejas los niveles de oxitocina varían de forma sincronizada con los cambios en las concentraciones de progesterona (El-Sherry et al 2013; Sangha et al 2002). Por el contrario, si la hembra es fecundada las células lúteales pequeñas y grandes aumentan su tamaño y son capaces de secretar más progesterona para mantener la preñez.

La $\text{PGF}_2\alpha$ es secretada por glándulas endometriales del útero y constituye el factor luteolítico en rumiantes (Fthenakis et al 2012). La $\text{PGF}_2\alpha$ es transportada por la vena utero-ovárica y secretada episódicamente entre los días 11 y 13 del ciclo (Berisha y Schams 2005; Stouffer y Hennebold 2015). Hacia el final de la fase lútea, el estradiol aumenta la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ y promueve la formación de receptores de oxitocina; la disminución de las concentraciones de progesterona en el inicio de la luteólisis se asocia con el aumento en los receptores de oxitocina y la secreción pulsátil de $\text{PGF}_2\alpha$ (Karami et al 2009 y Fordea et al 2011). Los receptores de oxitocina en el útero se unen a la secreción de PGF_2 , mediando el mecanismo de contracorriente luteolítico a través de intercambio entre la vena uterina y arteria ovárica (Einer y Hunter, 2005; Fordea et al 2011) lo que induce la regresión del CL y se reducen las concentraciones circulantes de progesterona

(Shabankareh et al., 2009). El aumento de las concentraciones de estradiol y la secreción de GnRH por parte del hipotálamo estimula que el animal entre a la fase folicular.

1.2.6. Influencia de la Kisspeptina y la Hormona Inhibidora de Gonadotropinas (GnIH) en el Ciclo Reproductivo Anual de la Oveja

En los últimos años, la neuroendocrinología de la reproducción ha tenido considerable interés por identificar factores que inducen la secreción de GnRH. Un importante avance en la endocrinología reproductiva ha sido el papel fundamental de la Kisspeptina (producto del gen Kiss-1) y su receptor GRP54 (Smith y Clarke, 2010). Una subpoblación de las neuronas que expresan kisspeptina ubicado en la ARC es un candidato ideal para mediar acciones sobre la secreción de GnRH y el otro es en el hipotálamo rostral / POA; estos péptidos causa una potente estimulación de la secreción de GnRH puesto que estudios evidencian que el gen Kiss1 desempeña un papel fundamental en la reproducción y la kisspeptina, estimula la liberación de GnRH y LH (Smith, 2012). La Kisspeptina es un estimulador clave de la secreción de GnRH implicado en la temporada de cría del ganado ovino (Smith et al., 2008) estimulando la secreción en la sangre portal hipofisaria, posiblemente la kisspeptina tiene un efecto directo sobre la hipófisis para causar la liberación de LH en ovejas y transmitir la información por retroalimentación de estrógenos a las células cerebrales que impulsan el proceso reproductivo (Clarke, 2005).

La Hormona Inhibidora de las Gonadotropinas (GnIH) es un péptido hipotalámico identificado recientemente en aves y mamíferos (Smith et al., 2012). En ovejas, su efecto suprime la secreción de LH. La expresión de proteínas de GnIH en el hipotálamo es mayor durante la época no reproductiva, así cabe la posibilidad de que la GnIH puede jugar un papel de inhibición en el eje reproductivo. Sin embargo, cualquier insinuación de que GnIH está involucrado en el inicio de la pubertad es limitada sobretodo en mamíferos (Smith et al., 2012).

1.3. Anestro, reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto

El anestro posparto involucra eventos fisiológicos correspondientes a reactivación y reanudación de la actividad ovárica (Arroyo 2011; Knights et al 2012). Para el restablecimiento de la actividad ovárica posparto se producen cambios en el patrón de liberación de GnRH que dependen de los mecanismos de control esteroide-dependiente y esteroide-independientes (Weems et al 2015; Valasi et al. 2013).

La participación del mecanismo esteroide dependiente involucra cambios en la sensibilidad causada por la retroalimentación negativa de los altos niveles de esteroides de origen placentario y del ovario (progesterona y estrógenos) que prevalecen durante la gestación y el anestro posparto (Smith 2012). El mecanismo esteroide independiente involucra: La época del parto y estacionalidad (Bartlewski et al., 2000), raza (prolificidad), lactancia (Araujo 2009), balance energético (nutrición) (Hadeef et al., 2014), involución uterina (Hayder 2008 y Schirar et al 1989) y señales socio-sexuales (Pevsner et al., 2009 y Hawken et al., 2009), entre otras (Abi Salloum y Claus 2005; Vanimisetti y Notter 2012) decisivos para reactivar nuevamente el mecanismo reproductivo del eje hipotálamo - hipófisis – ovarios.

1.3.1. Mecanismos de control esteroide dependiente

- **Desarrollo folicular**

La primera onda folicular se presenta dentro de los primeros 5 a 10 a días posparto (Bartlewski et al 2000). La hormona FSH tiene la potencia de estimular los folículos antrales a tamaño periovulatorio (3 a > 5 mm de diámetro) con la respectiva regresión, pese a que los folículos crecen dentro del rango de tamaño pre-ovulatorio; la producción de estrógenos es baja lo que inhibe la secreción pulsátil de GnRH / LH impidiendo el desarrollo del pico ovulatorio (Gonzalez et al., 2004).

Durante la reactivación, los intervalos de secreción de GnRH estimulan la biosíntesis de E₂ en las células de la granulosa de los folículos antrales y son lo suficientes para estimular la liberación lenta de pequeñas cantidades de LH que se almacenan en la adenohipófisis (Christensen et al., 2014). Cuando estos niveles alcanzan las concentraciones necesarias,

se genera la liberación pulsátil de LH permitiendo la maduración folicular, ovulación con la consecuente formación del CL (Alcazar et al, 2012).

La reanudación de la ciclicidad ovárica post parto ha sido definida como una ovulación seguida por ciclos ováricos regulares. De acuerdo a lo anterior, un grupo de investigadores de Opsomer et al. (1998), Grajales (1998) y Shrestha, et al., (2004) clasificó los tipos de actividad ovárica posparto según los perfiles de progesterona en la hembra bovina. De esta manera se pretende adaptar estos modelos a la especie ovina como primera aproximación del anestro posparto en ovejas en condiciones particulares del trópico de altitud.

- **Normal alta (Tipo 1-a)**

El primer incremento de progesterona se presenta antes del día 35 posparto, dándose una actividad lútea normal, la cual es producida luego de la respectiva ovulación. Es posible que más del 90% de los casos el servicio que recibe la hembra en el primer estro regular sea efectivo y se produzca la concepción con la capacidad de mantener la preñez.

- **Normal media (Tipo 1-b)**

El primer incremento de progesterona se presenta antes del día 35 posparto, pudiendo obedecer a un cuerpo lúteo de vida corta y/o “estro silencioso” no conducente a una actividad lútea normal. Las hembras posiblemente requieren de uno o dos servicios antes de lograr una concepción efectiva (entre el día 35 a 70 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

- **Media (Tipo 2)**

El primer incremento de progesterona se presenta hacia el día 45 posparto (Hayder y Ali 2008), pudiendo obedecer a un cuerpo lúteo de corta vida y/o “estro silencioso”, no conducente a una actividad lútea normal. Las hembras reciben dos, tres o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 70 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

- **Interrupción de la ciclicidad (Tipo 3)**

Los primeros incrementos de progesterona se presentan generalmente hacia el día 35 posparto, pudiendo obedecer a una actividad lútea normal, cuerpo luteo de corta vida y/o “estro silencioso”, la cual es producida luego de la respectiva ovulación. Hay interrupción de la actividad ovárica por un periodo mayor de 14 días. Las hembras al reiniciar la ciclicidad pueden posiblemente deben recibir dos o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 70 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

- **Anovulación prolongada (Tipo 4)**

Puede presentar esporádicamente cuerpo luteo de corta vida y/o “estro silencioso”, no conducente a una actividad luteal normal, la cual es seguida por una interrupción de la actividad ovárica hasta después del día 100 posparto, cuando se presenta el reinicio de la ciclicidad. Las hembras pueden lograr una concepción efectiva después del día 100 posparto con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

- **Cuerpo luteo de corta vida**

La primera ovulación generalmente está asociada con una fase lutea corta de 4 a 7 días, y la principal atribución a la duración está dada al efecto de una luteólisis anticipada, puesto que el CL de corta vida es muy sensible a la $PGF_2\alpha$ (deNicolo et al 2009). El estudio de Rodríguez Iglesias et al (2013) reporta una incidencia de 70% en cuerpo luteo de fase lutea corta, relacionándolo con el inicio del proceso de reactivación ovárica normal. Otro estudio similar correspondiente a Álvarez-Rodríguez et al (2009) reporta un 76% de CL corto durante el restablecimiento de la actividad ovárica, en la transición de un periodo de anestro estacional a la época reproductiva. La investigación de deNicolo et al (2009) y Santiago-Moreno et al (2000) también evidencian una alta incidencia con un 66% justo antes de presentar el primer ciclo normal, donde resaltan la influencia de variabilidad según la raza. Adicionalmente Rodríguez Iglesias et al (2013) reportan una mayor incidencia de CL cortos en ovejas con amamantamiento restringido y destete precoz comparado con el sistema de cría libre.

- **Ovulaciones silenciosas**

Las primeras ovulaciones posparto generalmente son silentes y varios ciclos ováricos son necesarios antes de detectar el primer estro a los 44 ± 3 en época reproductiva (Schirar et al 1989). Sin embargo, autores señalan grandes diferencias entre razas, en la extensión de la anestro posparto antes de un estro fértil y un fuerte componente genético estacional (Santiago-Moreno et al 2000).

Las ovulaciones silenciosas se producen cuando un aumento de P_4 es compatible con una fase lutea sin la detección del estro anterior (Santiago-Moreno et al., 2000). Endocrinológicamente se debe a que, en la gestación tardía, los niveles de estradiol inducen un estado refractario para esta hormona en el hipotálamo, lo que resulta en una ausencia de comportamiento estral en la primera ovulación posparto (O'Connell et al 2013). La actividad ovárica cíclica normal después del parto generalmente es precedida por uno o más ciclos cortos y ovulaciones silenciosas, pues se argumenta que son requisitos previos necesarios para el comportamiento estral (Araujo et al 2009). La progesterona es indispensable para aumentar el número de receptores de estradiol a nivel hipotalámico, aumentando la sensibilidad al E_2 . Con lo anterior el “*priming*” de P_4 es necesario para desencadenar signos de comportamiento estral (Hashem et al 2011). Rodríguez Iglesias et al (2013) reportan según el número total de ovulaciones durante 60 días posparto, una detección de estros de 56% considerándola como baja, por lo que resaltan que las ovulaciones silenciosas suelen presentarse después del parto.

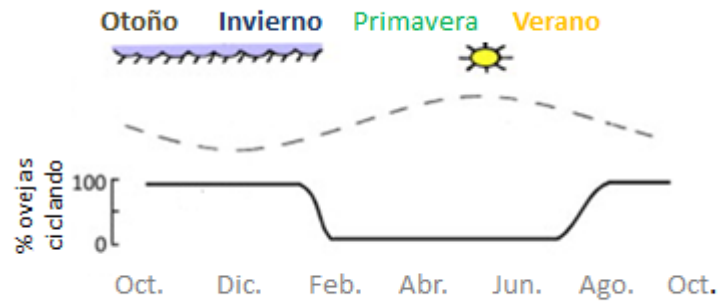
1.3.2. Mecanismo esteroide independiente

- **Raza y estacionalidad**

Los ovinos son consideradas animales de día corto debido a que poseen un complejo sistema neuroendocrino capaz de transformar la señal luminosa en una señal hormonal; de esta manera detecta las variaciones anuales en la duración del fotoperiodo, sincronizando el ritmo reproductivo durante una alternancia anual entre dos periodos: época reproductiva (otoño e invierno) y temporada de anestro (primavera y verano) como se ilustra en la Figura 1-5 (Arroyo 2011; Goff et al 2013). Esta característica es

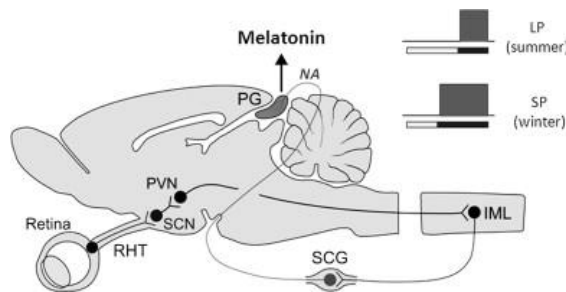
naturalmente utilizada como estrategia para coordinar el nacimiento de sus crías en temporada óptima, facilitando su supervivencia, crecimiento y el reinicio de la actividad ovárica (Abi Salloum y Claus 2005; Schirar et al 1989; Álvarez-Rodríguez et al 2009).

Figura 1-5 Ciclicidad estral según la estación



El estímulo lumínico es captado por la retina y se trasmite por el sistema retino-hipotalámico hasta el núcleo supraquiasmático (NCQ), por medio de un circuito multi-sináptico se libera noradrenalina e induce a la glándula pineal la liberación de la hormona melatonina, este proceso se lleva a cabo durante la noche o días de menor intensidad de luz (Bedrosian et al., 2013; Weems et al., 2015), regulando la secreción de GnRH con la consecuente secreción pulsátil de LH.

Figura 1-6 Sistema retino-hipotalámico de la hembra ovina



Tomado de (Pangas y Rajkovic 2015; Stouffer y Hennebold 2015)

Durante el anestro se presenta el efecto de retroalimentación negativa efectuada por los E₂ suprimiendo los gonadotropos hipotalámicos e impidiendo la liberación tónica de la GnRH. La transición de anestro a época reproductiva requiere de un adecuado aumento en la secreción tónica de los pulsos de LH para iniciar la secuencia de eventos

reproductivos; por lo que los patrones de secreción de LH se restauran progresivamente estimulando la producción de estrógeno por los folículos ováricos.

Las ovejas tipo lana de origen europeo son generalmente poliéstricas estacionales existiendo diferencias entre razas, pues diversos estudios han demostrado que hay genotipos influenciados por la estacionalidad y generalmente corresponden a razas menos prolíficas (Bartlewski et al 2000; Hashem et al 2015). La estacionalidad afecta la reactivación ovárica posparto encontrando estudios en donde la primera ovulación supera los 70 días posparto; con ello los niveles hormonales y la regularidad de la ciclicidad varía entre razas (Bartlewski, 1999 Shabankareh et al 2010).

Los ovinos de origen y/o adaptados cerca de la línea ecuatorial, se caracterizan por no tener influencia del fotoperiodo, expresando estacionalidad reproductiva reducida y en ocasiones inexistente (Arroyo 2011; Weems et al 2015), por lo que pueden reproducirse en cualquier época del año, posiblemente porque las variaciones de amplitud del fotoperiodo son tan ligeras que no son detectadas por el sistema neurofisiológico característico de los ovinos (Arroyo 2011). En países tropicales y subtropicales, otros factores medioambientales tales como la época de lluvia o de sequía posiblemente afectan la reproducción en el ganado ovino (Araujo et al 2009); por lo tanto, las ovejas pueden ser completamente poliéstricas no estacionales o intermitentes, siempre y cuando exista buena disponibilidad de nutrientes que cubran los requerimientos para la actividad reproductiva (Rosa y Bryant 2002; Stouffer y Hennebold 2015; Lozano 2014).

▪ **Lactancia**

La lactancia implica una compleja interacción de la oveja y la cría; fisiológicamente la succión estimula la liberación de opioides en el cerebro que son parcialmente responsables de los efectos inhibitorios del estradiol sobre la GnRH y LH (Pevsner et al, 2010; Abi Salloum y Claus 2005) lo que mantiene la baja frecuencia de pulsos típicos de LH impidiendo el crecimiento, maduración folicular, ovulación y la formación de un cuerpo lúteo capaz de mantener una preñez (Ronquillo et al 2008).

Estudios reportan que la lactancia tiene impacto positivo sobre la reactivación ovárica posparto si se practica antes de las 2 semanas posteriormente el efecto disminuye (Abi Salloum y Claus 2005). Las producciones ovinas buscan aumentar la frecuencia de los partos mediante estrategias que permitan eliminar los efectos inhibitorios ocasionados por el estímulo de la succión de la cría, reduciendo el anestro posparto nutricional asociado a la alta demanda metabólica en la etapa de lactancia (Knights et al 2012). La estrategia para acelerar la frecuencia de parición se ha basado en la implementación del destete temprano o temporal (Pevsner et al, 2010) aunque otros estudios afirman que el anestro lactacional es relativamente corto y en ocasiones coincide con el inicio del anestro estacional (Álvarez-Rodríguez et al 2009).

El primer estro posparto se ha detectado al día 30 y 32 en una gran proporción de ovejas en condiciones de amamantamiento y no amamantamiento (Lewis y Bolt, 1983 y Ronquillo et al 2008). Las hembras ovinas son capaces de mostrar ciclos estrales regulares, ser aptas para la concepción y mantener la preñez al día 40 posparto siempre y cuando existan las condiciones nutricionales adecuadas para desempeñar los procesos fisiológicos reproductivos (Knights et al 2012; Oliveira et al 2013).

A continuación, la Tabla 1-3 reporta el intervalo parto primera ovulación en experimentos referentes a la lactancia y/o amamantamiento.

Tabla 1-3. La reanudación de la actividad cíclica ovárica y estral en hembras ovinas

Primera ovulación (días)	Observaciones	Referencia
45.8 ± 2.6		Wise M. 1990. Arizona
30	Restringido Continuo	(Ronquillo et al 2008)
83.2 ± 5.5 58.8 ± 5.5	Restringido Continuo	(Arroyo 2011)
90± 5.5	Restringido	Morales T. (2004).chez-del-Real, C., Gallegos-Sánchez, J. 2004. Agrociencia. 38: 165-171. Mexico

32 Niveles de progesterona durante la reactivación ovárica posparto, ciclo estral y preñez temprana en cuatro tipos raciales ovinas bajo condiciones de trópico alto colombiano

90± 5.5	Restringido	Pérez H. (2009). Revista Científica, FCV-LUZ. 19: 343-349. México
83,0 86,57 86,66	Destete 2 meses Destete 3 meses Destete 4 meses	Henao y Nieto, 1988. Tesis de grado Universidad Nacional de Colombia
70	Destete Temprano Destete Tardío	(Knights et al 2012)
57,64 ± 18 30,53± 10	Continuo Controlado	(Oliveira et al 2013)

Investigaciones de los corderos con o sin el uso de terapias hormonales para la inducción del estro en los sistemas de producción ovina reportan una ganancia de moderada a pequeña en la productividad ovina, medida en la frecuencia de parición (Nugent y Jenkins, 1991 y Ronquillo et al 2008). En la investigación de Pevsner et al, (2010) concluyen que la presencia de los corderos es un factor que deprime el fenómeno de la ovulación y respuestas sexuales al efecto macho en ovejas lactantes, por lo que la respuesta de la ovulación de estas hembras probablemente es más eficiente si los corderos se retiran por un período de 24 horas antes del inicio de la estimulación y que el destete precoz elimina la duración del periodo de anestro.

▪ **Nutrición**

La nutrición es un insumo exógeno que afectan la función reproductiva en el eje hipotálamo-hipofisario-gónada (Álvarez-Rodríguez et al 2009). En varias especies, el desequilibrio nutricional trae consecuencias en la pérdida de peso, condición corporal y trastornos metabólicos que puede inducir a los retrasos en la presentación del ciclo estral (Arroyo 2011 y Sepúlveda, 2001).

Diferentes niveles de energía en la dieta, y los componentes de la misma, como la concentración de proteína o urea, o la adición de suplementos (por ejemplo, grano de maíz y la cebada) puede afectar la función reproductiva de los rumiantes (Kaminski et al 2015) por lo que se hace necesario balancear una dieta adecuada dependiendo de los requerimientos ovinos. El colesterol es un importante metabolito endocrino, porque es el

precursor de esteroides ováricos (P_4 Y E_2) en mamíferos y ovinos. El estudio de Kaminski et al (2015) concluye que cambios en los niveles de colesterol juegan un rol en el factor nutricional para la biosíntesis de hormonas esteroideas del ovario, afectando las concentraciones séricas de progesterona.

Estudios han demostrado que la nutrición inadecuada (dietas restringidas y /o en exceso) aumentan el tiempo de presentación de la reactivación ovárica posparto, ciclo estral regular y produce bajas tasas de ovulación, concepción y preñez (Kaminski et al 2015). La nutrición altera la insulina-glucosa, leptina, IGF-I y probablemente otras hormonas metabólicas involucradas en la reproducción (Arroyo 2011; Meza et al, 2008; Velázquez et al., 2008; Miller et al., 2011). En rumiantes una sobrealimentación aumenta las tasas de ovulación ya que aumenta la insulina y la leptina, por lo contrario, la subalimentación disminuye los niveles séricos de dichas hormonas y además puede inducir a que las concentraciones de hormonas esteroides como P_4 y E_2 se vean afectadas (Kaminski et al 2015).

Durante el ciclo estral las concentraciones séricas de P_4 se ven afectadas por la dieta alimentaria en los rumiantes, Kaminski et al (2015) demostró en el estudio que ovejas sobrealimentadas tienen mayor concentración de P_4 si se comparaban con ovejas subalimentadas. En contraste, reporta en la discusión otros estudios donde una dieta de sobrealimentación reduce los niveles de P_4 comparada con ovejas alimentadas con dietas de mantenimiento, sugiriendo que los resultados son contradictorios, debido a una combinación de interacciones fisiológicas incluida la duración de la restricción dietética o exceso, estado metabólico, estado reproductivo y raza de la oveja (Kaminski et al 2015).

▪ **Peso y condición corporal**

La evaluación de la Condición Corporal (CC) fue desarrollada como una técnica por primera vez en la década de 1960 (Corner-Thomas et al 2015^a). A diferencia de peso vivo, evalúa las reservas grasas corporales y estado fisiológico independientemente de la raza y no está influenciada por el ancho torácico ni la longitud de la lana (Herrera et al 2010). Estudios reportan la medición a través de una variedad de razas y ambientes, destacando los efectos de la CC sobre el rendimiento reproductivo, la lactancia, el crecimiento y la supervivencia de las crías hasta el destete (Corner-Thomas et al 2015a; Corner-Thomas et al 2015b y Bocquier et al 1993).

Estudios previos demuestran que existe una relación marcada entre el peso, condición corporal, como un índice de reservas de energía que repercuten en la reproducción de la hembra ovina (Hazlerigg y Simonneaux 2015). Es así como animales con bajo peso y CC retardan el tiempo de la reactivación ovárica. Con lo anterior la nutrición está directamente relacionada con el peso, la CC y la Foliculogénesis (Ascari et al 2013).

▪ **Balance energético**

El balance energético negativo se produce por la reducción en la disponibilidad de glucosa incrementando la movilización de reservas corporales hacia la producción de leche para la supervivencia del cordero (Hayder y Ali 2008). La lactancia es un evento fisiológico que tiene prioridad sobre los procesos reproductivos según lo referenciado por Álvarez-Rodríguez et al (2009), como el reinicio de la ciclicidad Hayder y Ali (2008) afectando la función lútea y alargando el periodo de anestro posparto.

Un inadecuado consumo de nutrientes en relación con las demandas metabólicas es un factor que contribuye a prolongar el anestro posparto actuando por vía de mecanismos metabólicos y hormonales (Álvarez-Rodríguez et al 2009 y Corner-Thomas et al 2015^a). Las ovejas necesitan el máximo de energía durante la lactancia temprana; los cumplimientos de estos requisitos son indispensable para mantener la producción de leche adecuada para el crecimiento del cordero y permitir la rápida reanudación de la actividad ovárica posparto; por consiguiente, un menor consumo de energía durante este período ha demostrado prolongar el período anestro posparto (Araujo et al 2009).

La transición de un balance energético positivo a uno negativo durante la lactancia está asociado al incremento en la frecuencia de pulsos de LH (Meza et al, 2008), lo cual sugiere que la secreción pulsátil de LH puede ser inhibida hasta no alcanzar un buen balance energético; por lo tanto la producción de leche retrasa la función lútea posparto, puesto que una mayor producción de leche durante la lactancia se asocia con un intervalo más largo anestro posparto en ovejas (Bocquier et al 1993; Haydera, M y Ali A. 2008).

- **Hormonas metabólicas y neuropéptidos**

Las Hormonas metabólicas y neuropéptidos son los moduladores más notables que participan en la reproducción puesto que informan a los centros del cerebro acerca de los parámetros claves de la condición metabólica del cuerpo (Blache y Bickell et al., 2011; Valasi et al. 2012). Estos moduladores se integran en el hipotálamo, donde ejercen acciones sobre la regulación de secreción pulsátil de GnRH como pre-requisito para la función reproductiva normal en todos los mamíferos (Peater et al., 2009).

- **La leptina**

Entre los numerosos reguladores endocrinos implicados en el control reproductivo y el metabolismo esta la leptina, hormona metabólica sintetizada y secretada por las células blancas de tejido adiposo (Hazlerigg y Simonneaux 2015). Es una hormona que influye en el peso y condición corporal, homeostasis de energía y el metabolismo. Esta hormona envía señales al hipotálamo transmitiendo información con respecto al estado nutricional del individuo (Zieba et al., 2005) y tiene efecto inhibitorio en las gónadas; esta proteína y sus receptores se han encontrado también en tejidos reproductivos, lo que implica que se involucra en el desarrollo embrionario e implantación, pues en humanos ya se ha comprobado que es producida por el trofoblasto (Kandiel et al., 2016) .

La leptina desempeña un papel permisivo o desencadenante en el inicio de la actividad ovárica proporcionando información acerca del estado metabólico (Foster y Nagatani, 1999; Zieba et al., 2005). En ovinos, la leptina es capaz de modular la secreción de LH sobre todo en animales con restricción alimenticia (Zieba et al., 2008; Miller et al., 2007; Wójcik et al., 2009). La leptina mantiene la función reproductiva en la hembra ovina adulta (Hazlerigg y Simonneaux 2015). Kaminski et al (2015) demuestran que la concentración de leptina es crítica para la función normal de la reproducción y está implicada en la regulación del ciclo estral. Por lo tanto, la concentración de leptina parece estar directamente relacionada con el estado metabólico de la hembra y también a la fase del ciclo estral en animales sobrealimentados.

- **El Neuropeptido Y (NPY)**

El NPY es un importante regulador metabólico hipotalámico de la señal de leptina que posiblemente modula el mecanismo endocrino de la ovulación y el ciclo estral (Barb y Barrett, 2005; Chaillou y Tillet, 2005). El NPY es uno de los más potentes estimulantes del apetito (Pralong et al., 2010; Sartin et al., 2010). En ovejas, la presencia del NPY suprime la secreción de GnRH (Morrison et al., 2003; Foster y Jackson 2006), ya que la inducción constante del NPY induce una inhibición profunda del eje de la reproducción (Pralong et al., 2010). El aumento de la expresión del NPY hipotalámico observado en el ayuno o condiciones metabólicas desfavorables explicaría la inhibición tónica de la liberación pulsátil de GnRH (Miller et al., 2011).

- **La insulina**

La insulina es sintetizada en las células β del páncreas, trabaja en el sistema nervioso periférico (modula señales de saciedad) y el sistema nervioso central (restringe la ingesta de alimentos) y los niveles de los controles de transporte de la glucosa en respuesta a la hiperglucemia según lo revisado por Kandiel et al., (2016). Por tal razón, la insulina es uno de los principales reguladores de procesos metabólicos y también está involucrado en la regulación de varias funciones de reproducción, incluyendo la secreción de hormonas reproductivas tales como gonadotropinas, LH y FSH, actúa en la parte de desarrollo folicular y función lútea (Kandiel et al., 2016; Kaminski et al 2015). A nivel hipotalámico estimula la liberación de LH en rumiantes (Miller et al., 2007). Los efectos centrales de la insulina sobre la ingesta de alimentos están mediados, al menos parcialmente, a través de la inhibición de la expresión de NPY (Pralong et al., 2010). Se ha descubierto que está implicada en la modulación de la actividad de las neuronas hipotalámicas generando la secreción de GnRH y es nombrada como "generador hipotalámico de pulsos de GnRH" (Pralong et al., 2010; Saraiva et al., 2012). La insulina tiene un efecto estimulante directo sobre la producción de estradiol, por lo que su acción puede estar implicada en el proceso de esteroideogénesis (Uribe-Velásquez et al., 2009; Meza et al, 2008; Saraiva et al., 2012). La dieta de sobrealimentación y subalimentación puede afectar dramáticamente las

concentraciones de insulina en circulación. En ovejas, los niveles de insulina en suero se incrementaron en el grupo de ovejas alimentadas en exceso a comparación con las dietas restringidas o de mantenimiento (Kaminski et al 2015). Adicionalmente la insulina crea un ambiente anabólico en el embrión suministrado nutrientes óptimos para su desarrollo (Kandiel et al., 2016).

- **Factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF -I)**

En las hembras, el IGF -I regula los procesos metabólicos y trabaja en conjunto con la insulina, regulando el control del crecimiento, reproducción, metabolismo, división celular, foliculogénesis, oogénesis y la actividad secretora del ovario (Uribe-Velásquez et al., 2009; Meza et al, 2008; Park et al., 2010; Mejía, 2012).

Estudios han demostrado que hay una marcada reducción del desempeño reproductivo cuando hay niveles bajos de este factor (Park et al., 2010); se ha informado de ese plano de la nutrición se relaciona directamente con las concentraciones circulantes de IGF- I en rumiantes.

- **Glucosa**

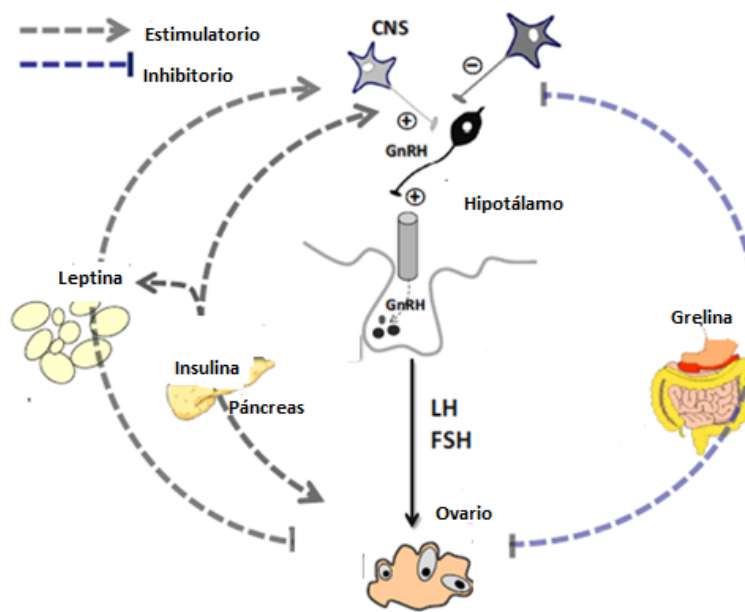
La glucosa es otro metabolito involucrado en la regulación del sistema endocrino y las funciones reproductivas, incluyendo el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Kaminski et al (2015) encontró que en ovejas alimentadas con exceso de dieta afecta las concentraciones séricas de glucosa, pero no el colesterol. Aseguran que los efectos de la dieta sobre las concentraciones de glucosa parecen depender de la duración de los tratamientos dietéticos y raza.

- **Arginina**

Estudios demuestran que la arginina (Arg) como aminoácido, mejora el rendimiento de reproducción y las condiciones uterinas para el mantenimiento de la preñez en ovejas (Kaminski et al 2015). Fisiológicamente la explicación está dada porque la Arg es un precursor del óxido nítrico (ON), que tiene el potencial de afectar la función ovárica, actuando a través del sistema del ON, implicado en numerosos procesos que incluyen la

regulación de la angiogénesis y la función vascular, para la esteroidogénesis, la ovulación y la luteólisis (Kaminski et al 2015).

Figura 1-7 Esquema de la regulación de hormonas metabólicas implicadas en la función reproductiva



Tomado de Kaminski et al 2015

▪ Involución Uterina

Macroscópicamente la involución del útero después del parto se produce entre los 30 a 40 posparto (Gomes et al 2014; Hayder y Ali 2008; Knights et al 2012) y microscópicamente alrededor de los 45 días (Gomes et al 2014). Para ovejas tipo lana se ha reportado a las 3 semanas posparto en climas templados y 4 semanas en zonas de trópico en ovejas tipo pelo (Hayder y Ali 2008). Se señala que factores como la época de parto influyen significativamente en el tiempo de involución uterina si se compara con otros factores como peso y CC, tipo de parto y duración de la lactancia. De la misma manera el estudio de Godfrey et al., (1998) y Sheldon et al., (2003) reporta que no hay efectos consistentes de

factores ambientales sobre la tasa de involución uterina. Hayder y Ali (2008) concluyen con el experimento que la involución uterina no tiene efecto significativo en el tiempo de reactivación ovárica postparto. Adicionalmente el tiempo de la involución uterina puede variar entre razas ovinas y la temporada (Salloum y Rolf, 2005; Hayder, M y Ali A. 2008).

▪ **Señales Socio Sexuales**

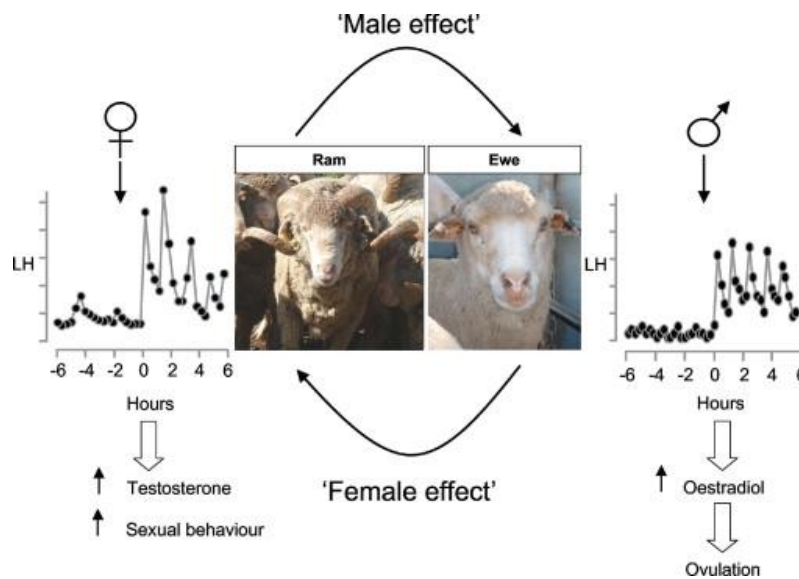
Las señales socio sexuales son aquellas que los animales manifiestan con otros animales del mismo grupo, pueden afectar muchos aspectos reproductivos entre ellos la actividad sexual. Estas señales se presentan en diversas especies y ambos sexos. En las ovejas se ha encontrado en todas las asociaciones de grupos sexuales, es decir: macho-hembra, hembra-hembra y macho-macho (Rosa y Bryant 2002). Sin embargo, los efectos en la reproducción se evidencian por las interacciones sociales donde se regula de la actividad ovárica, provocada por la introducción del macho constituyendo el fenómeno más evidente y conocido como “efecto macho”.

▪ **El efecto macho**

El efecto macho es el proceso en el cual los reproductores son capaces de inducir la ovulación de la hembra ovina y reducir el anestro (Fabre-Nys y Gelez 2007; Rodríguez Iglesias et al 2013; Rosa y Bryant 2002) por tal razón, la presencia continua de un cordero puede cambiar el inicio de la temporada reproductiva en ovejas (Hayder y Ali 2008). Este efecto esta mediado por feromonas, sustancia química ubicada en el vellón del macho y que es secretada dependiendo la concentración de testosterona, típicamente se concentra en mayor cantidad en áreas anatómicas como la cabeza, cuello y tórax (Hawken y Martin 2012). La hembra percibe esta sustancia por medio del sistema olfatorio, desde la mucosa olfativa, bulbo olfatorio y órgano vomeronasal hasta el núcleo olfatorio, activando los centros de control eje hipotálamo- hipófisis- gónadas (Hawken y Martin 2012) como se ilustra en la Figura 1-8. La respuesta endocrina se da por la activación de neuronas de GnRH que permiten el aumento y mantenimiento en la frecuencia de pulsos de LH, paso crítico que conduce al pico preovulatorio de LH y consecuentemente la ovulación con el aumento en la secreción de estradiol; el pico preovulatorio de LH se produce por lo general de 6-52 horas desde el primer contacto con los machos y la ovulación 24 a 48 horas más tarde (Hawken y Beard 2009; Hawken et al 2007; Pellicer-Rubio et al 2013; Rosa y Bryant

2002). Durante la presencia del macho las hembras pueden evidenciar ovulación y mostrar un ciclo corto (Hawken y Beard 2009) o de duración normal, dependiendo del estadio del folículo ovulatorio y el tiempo en el que se introduce el macho (Pellicer-Rubio et al 2013). Estudios demuestran la utilización del “efecto macho” para sincronizar celos y temporada reproductiva, puesto que su efecto puede ser similar a métodos de sincronización hormonal, ya sea con análogos de GnRH e incluso igual a PgF2 α (Meilán y Ungerfeld 2014). Igualmente, ovejas expuestas constantemente a machos mejora la regulación de los ciclos estrales, lo que permite una mejor organización de los apareamientos y una sola temporada de pariciones (Hawken y Beard 2009). Adicionalmente autores (Hawken y Beard 2009) recomiendan las sustituciones de los machos de manera secuencial, puesto que los resultados muestran una marcada respuesta endocrina en la actividad cíclica cuando se compara con el grupo de ovejas que se mantenían con el mismo macho.

Figura 1-8 Señales sociosexuales-



Tomado de Hawken y Beard (2009)

- **El efecto hembra**

Este efecto sucede cuando hay presencia de ovejas cíclicas o se introducen repentinamente ovejas en celo, induciendo y sincronizando la ovulación. Este fenómeno se conoce como “facilitación social” proporcionada por señales sociales- sexuales; Rosa y Bryant (2002) y Hawken y Beard (2009) reportan que las ovejas inician la ciclicidad estral tienen un efecto estimulador en aquellas ovejas anovulatorias, estimulando su actividad cíclica en un 50%.

1.4. Preñez temprana

La vida pre-natal puede dividirse en tres períodos principales: el período de fecundación que termina con la fijación inicial del embrión, período embrionario (día 12 – 34), y el período fetal, (Jainudeen y Hafez, 2000). O'Connell et al., (2013) sugiere que la mayor concentración de progesterona sistémica e incluso uterina tiene una correlación positiva para impedir pérdidas embrionarias durante la preñez temprana.

La preñez temprana inicia con una cascada de cambios morfológicos, funcionales y endocrinos del sistema reproductivo empezando con una exitosa fertilización del oocito. Los niveles de progesterona están relacionados con el establecimiento y mantenimiento de la preñez, la supervivencia del embrión y tasa de concepción. Tabla 1-4 (Fierro S. et al, 2011; Shrestha J. 2004).

1.4.1.Reconocimiento materno de la preñez

El establecimiento de la preñez en ovejas comienza en la fase del blastocisto incluyendo el reconocimiento de la preñez, implantación y placentación. Este proceso fisiológico está mediado por interferón T, secretado por los conceptus entre el día 12 y (Stouffer y Hennebold 2015); cuya función es interrumpir la luteolisis de tal manera que permite que la función del CL pueda continuar.

El interferón- τ actúa sobre el endometrio inhibiendo el desarrollo del mecanismo luteolítico, la inhibición de la transcripción del gen del receptor de estrógeno α en el epitelio luminal y glandular, evita que los estrógenos induzcan a los receptores de oxitocina a la producción de prostaglandina F 2α (deNicolo et al., 2009)). Se ha reportado que dosis de IFN- τ <1 mg / ml inhibe la producción de PGF 2α y PGE 2 , mientras que dosis mayores de IFN- τ (> 1 mg / ml) aumenta la producción de PGE 2 sin afectar los niveles de PGF 2α , recordemos que la PGE 2 es potente luteoprotectante y su producción en el endometrio sirve como mecanismo secundario para el sostenimiento de la función del CL durante la preñez temprana (Costine et al 2007).

A medida que el embrión se desarrolla se forma la placenta, esta es un órgano endocrino y metabólico entre el conceptus en desarrollo y el endometrio uterino. La placenta es una fuente importante de moléculas de señalización capaces de manipular la fisiología de las ovejas preñadas que mantiene un ambiente propicio para una preñez exitosa. Una característica única de la placenta en rumiantes es la población de células binucleadas coriónicas, que en ovejas se hacen evidentes alrededor del día 16 de la preñez, este punto de tiempo corresponde al periodo de fijación del trofoblasto al epitelio uterino. Las células tienen al menos dos funciones principales, la formación de un sincitio híbrido formado entre la oveja y su feto, para la implantación exitosa y el crecimiento subsiguiente del cotiledón a placentoma y la síntesis y secreción de esteroides (progesterona), prostaglandinas (I 2 , E 2) y proteínas (lactógenos placentarios), así como glicoproteínas asociadas a la preñez (deNicolo et al., (2009); Fthenakis G et al, 2012).

Tabla 1-4 Tasa de preñez

Raza	Tasa de concepción %	País	Referencia
Romney Marsh	Otoño: 96,1 % Invierno: 90,9 % Verano : 59,5% Primavera: 53,6	Nueva Zelanda	deNicolò G. 2006 <i>Animal Reproduction Science</i> 103 (3-4):278-289
Corriedale	91.3 % Invierno: 71.8 % 88% Otoño: 88% - 85%	Perú Uruguay India Uruguay	Urviola M. et al, 2005. <i>Rev Inv Vet Perú</i> .16 (2), 103-113 Roman J et al, 1996. <i>Small Ruminant Research</i> 23,157- 162 Ganaie B et al, 2009. <i>Small Ruminant Research</i> .85, 135-141 Fierro S. et al, 2011. <i>Theriogenology</i> .76, 630-639/ Ungerfeld R. 2012. <i>Spanish Journal of Agricultural Research</i> 10(1):62-68.
Suffolk	Invierno: 61. 4% Invierno: 80.7%	Canadá USA	Shrestha J. 2004. <i>Small Ruminant Research</i> . 55, 1-13 Knights M. 2001. <i>Theriogenology</i> . 55, 1181-1191
Merino	Otoño 81.6	Hungría	Aly K. et al, 2003. <i>Theriogenology</i> . 59, 1941-1948
Criolla M Paramuna Black Face	73,12 72,0 64,9	Colombia	Díaz y Grajales, 1993s (Tesis de grado) Universidad Nacional de Colombia

1.5. Métodos de análisis hormonal

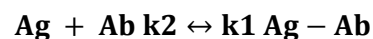
La endocrinología ha buscado la metodología que le permita evaluar la presencia de hormonas en los diferentes tejidos, sangre o suero, fluidos corporales, secreciones; todo esto basados en la especificidad de las interacciones antígeno- anticuerpo, a través de una variedad de ensayos inmunológicos. Hay diferentes métodos para evaluar las hormonas, la mayoría de estas constituyen técnicas inmunológicas como inmunoensayos enzimáticos- ELISA y el radioinmunoensayo- RIA (Brown et al., 2008). Universalmente son ampliamente utilizadas para detectar y cuantificar sustancias específicas como las hormonas, basadas en la evaluación de la formación del complejo antígeno-anticuerpo de la reacción. Los inmunoensayos tienen dos tipos de evaluación. Evaluación cuantitativa, se basan en la medida de la reacción bioquímica y Cualitativo, la hormona positiva o negativa en la muestra, se utilizan para detectar antígenos específicos considerados que un antígeno marcado se liga específicamente a un anticuerpo (Brown, 2008). Actualmente, los esteroides como la progesterona con frecuencia se miden utilizando radioinmunoensayo (RIA) y ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA),

debido a la eficiencia en el procesamiento de muestras gracias a su sensibilidad y especificidad.

1.5.1. Principios de inmunoensayos

Es fundamental conocer que un inmunoensayo es la competencia entre dos elementos, un antígeno (trazador) y el anticuerpo (hormona específica en la muestra de suero) que reaccionan químicamente y cuya interacción biomolecular es similar a una reacción enzima-sustrato no reversible.

Estos tipos de inmunoensayos siguen la ley de acción de masas, donde la distribución entre la fase consolidada y no-consolidada está directamente relacionada con la cantidad total de antígeno (Ag) en presencia de una cantidad fija de anticuerpo (Ab); esta asociación entre un sitio de unión de un anticuerpo con un antígeno no covalente se describe en la ley de la ecuación de masa. La relación entre la velocidad de reacción y la concentración molar de las sustancias reaccionantes, a una temperatura dada, indica que la velocidad de reacción es directamente proporcional al producto de las concentraciones molares de los reactivos. La concentración molar del reactivo también se llama masa activa.



Tener clara la esencia de inmunoensayo es fundamental para comprender adecuadamente todos los términos utilizados en estas técnicas. Por esta razón el primer término de explicar es el anticuerpo que se produce contra un antígeno específico mediante la recogida de suero inmune en este caso suero de oveja.

1.5.2. Técnica de Radioinmunoanálisis RIA

El radioinmunoanálisis (RIA) es quizás el más importante medio en las mediciones biológicas, propuesta por Yalow (1959) y Berson, de los últimos 40 años y un invaluable instrumento para la utilización de los radioisótopos. Esta técnica se basa en una reacción antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos deben ser específicos contra la sustancia que se

va a determinar, y deben tener gran afinidad. La cantidad de anticuerpo añadida es limitada, e inferior a la cantidad de antígeno total (saturante).

Uno de los principios de esta técnica se basa en el hecho de que un antígeno se puede vincular a una molécula correspondiente a isótopos radioactivos, el más común e implementado es Yodo= 125 , que implica la unión competitiva del antígeno radio-marcador y el antígeno no marcado a un alto anticuerpo de afinidad. El antígeno marcado se mezcla con el anticuerpo a una concentración que satura los sitios de unión al antígeno del anticuerpo. Los dos tipos de antígenos van a competir, en igualdad de condiciones por unirse con el anticuerpo disponible. Cuanto mayor sea la cantidad de antígeno en la muestra, este desplazará al antígeno marcado y por tanto se fijarán al anticuerpo cantidades menores de antígeno marcadas. Debido a que el anticuerpo no distingue antígenos marcados o no, los dos tipos diferentes de antígenos están compitiendo por los sitios de unión disponibles del anticuerpo a continuación, en esencia, durante esta técnica, cuando la concentración de los aumentos de antígeno sin marcar, el antígeno más marcado será desplazado a partir de los sitios de unión (Hadeef et al 2014).

En Medicina Veterinaria y en particular en la evaluación de los niveles de hormonas, la técnica RIA en fase sólida se utiliza para medir las hormonas esteroideas y ha sido ampliamente utilizado en el ganado ovino.

- **Fase sólida:**

Consiste en inmovilizar al anticuerpo a un soporte sólido, que puede ser la propia pared del tubo (polímero). La separación se consigue simplemente aspirando el medio de incubación. Este método tiende cada vez más a utilizarse por ser sencillo, práctico, corto y requiere menos manipulación.

1.5.3. Técnica de enzimo- inmuno análisis (ELISA)

El método de enzimo-inmunoanálisis hormonal ELISA se basa en la interacción de la hormona de la muestra y un conjugado enzimático – hormonal por una limitada cantidad de anticuerpos (anti- hormona) inmovilizados. Por eso la cantidad de conjugado enzimático - hormonal ligada es inversamente proporcional a la concentración de progesterona de la muestra. En esta técnica el antígeno se vincula a una enzima de tal manera que retiene la actividad inmunológica y enzimática, al reaccionar con el conjugado y el sustrato incoloro

(cromogénico) genera un producto de reacción de color. Este método ELISA también es conocido como análisis de inmunoabsorción enzimática (EIA), donde incluyen diversas enzimas fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, y peroxidasa de tal manera que la enzima retiene la actividad.

El primer paso para desarrollar un EIA comienza con la determinación de títulos de anticuerpos que resulta en el cambio de color adecuado conservando una buena sensibilidad; cualitativamente cuando la concentración enzimática de anticuerpos aumenta, el color disminuye indicando una mayor concentración de anticuerpos. Después de la incubación de la muestra, el conjugado hormonal-enzimático es eliminado por el lavador del conjugado no ligado. Con la adición de la solución sustrato se desarrolla un color azul que luego se transforma en amarillo con la solución de parada. El segundo paso es la determinación de dilución de conjugado de la enzima, siendo una combinación apropiada de anticuerpo y la enzima a conjugar el resultado de la intensidad del color adecuado, con alta sensibilidad del ensayo. Tercer paso para cualquier procedimiento ELISA es preparar una curva estándar sobre la base de concentraciones conocidas de anticuerpo o antígeno, de la que la concentración desconocida de las muestras se puede determinar. Cuarto paso se refiere a tiempo y temperatura de incubación que puede afectar a la unión del anticuerpo-antígeno y/o conjugado de sustrato de la enzima; altas temperaturas pueden disminuir esta actividad de unión. La absorbancia de los calibradores y las muestras se determina con el lector de ELISA.

- **ELISA competitiva**

Esta prueba se basa en la competencia entre un antígeno y conjugado enzima-anticuerpo secundario (trazador) para un número limitado de sitios de unión de antisuero. El antígeno reaccionado (unido) se separa luego del material libre, y su actividad enzimática se calcula mediante la adición de sustrato; en algunos casos previamente el antígeno y el anticuerpo primario se incuban antes de añadirlo al pozo y esta mezcla se añade a la microtitulación recubierta de antígeno también. Antígeno marcado de la enzima se mezcla con el antígeno de la muestra, compitiendo por una cantidad limitada de anticuerpo (Voller et al., 1978)

La cantidad de antígeno-hormonal presente en la muestra compete con el trazador (conjugado enzimático) para unirse al antisuero de la hormona específica. La concentración del antígeno- hormonal varía mientras tanto la concentración del trazador es constante, y luego la cantidad de trazador capaz de unirse al antisuero específico. El antígeno será inversamente proporcional a la concentración de la hormona (Voller. et al., 1978, Kuby et al, 2007; Brown et al, 2008). La reacción enzimática presenta un color determinado espectrofotométricamente proporcional a la cantidad de hormona libre presente en los pozos durante la incubación. Cuando la concentración de la hormona en las muestras es alta, baja será la absorbancia (Kuby et al., 2007)

Un ensayo hormonal debe cumplir varios criterios: ser validado para ser de utilidad y debe ser calibrado con un nivel de actividad conocida; un gráfico de la respuesta en el ensayo frente a la concentración normal que se conoce como una curva estándar. Suficientes repeticiones se deben hacer para demostrar la repetibilidad; esto está determinado por un bajo coeficiente de variación ($CV = \text{desviación} / \text{media estándar}$). El ensayo debe ser sensible, por lo general en el rango de picogramos a nanogramos por hormonas plasmáticas (Squires, 2007).

- **Desarrollo de la curva estándar**

El desarrollo de una curva estándar se prepara al mismo tiempo que las muestras a analizar, aplicando en una serie de tubos o pozos, cantidades conocidas de la hormona a determinar (patrón de antígeno no marcado), las mismas cantidades de antígeno marcado y de anticuerpo que se usan en el análisis. Estos puntos gráficos indican la relación entre el porcentaje de trazador unido y la masa relativa de estándar, donde hay una relación inversa entre el porcentaje de unión del trazador al anticuerpo, masa de la hormona y la cantidad de antígeno en la mezcla de ensayo para determinar con precisión la concentración hormonal.

Referencias

- 1) Abi Salloum B, Claus R. 2005. Interaction between lactation, photoperiodism and male effect in German Merino ewes. *Theriogenology* 63(8):2181-2193.
- 2) Acosta TJ, Miyamoto A. 2004. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Animal Reproduction Science* 82–83(0):127-140.
- 3) Alcaraz Romero RA, Quintal Franco JA, Hernandez Sánchez D, Sánchez Torres T, Villagómez Amezcua E, Ramon Ugalde J, Baeza Rodríguez J, Bores Quintero R, Cantón Castillo JG. 2012. Ovarian activity in F1 prepubertal ewe lambs under tropical conditions. *Livestock Science* 143(1):24-28.
- 4) 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.
- 5) Araujo RC, Pires AV, Susin I, Mendes CQ, Rodrigues GH, Urano FS, Ribeiro MF, Oliveira CA, Viau P, Day ML. 2009. Postpartum ovarian activity of Santa Inês lactating ewes fed diets containing soybean hulls as a replacement for coastcross (*Cynodon* sp.) hay. *Small Ruminant Research* 81(2–3):126-131.
- 6) Arroyo J. 2011. Reproductive seasonality of sheep in Mexico. *Trop. subtrop. agroecosyst.* p. 829-845.
- 7) Ascari IJ, Alves AC, Pérez JRO, Lima RR, Garcia IFF, Nogueira GP, Junqueira FB, Castro TR, Aziani WLB, Alves NG. 2013. Nursing regimens: Effects on body condition, return to postpartum ovarian cyclicity in Santa Ines ewes, and performance of lambs. *Animal Reproduction Science* 140(3–4):153-163.
- 8) Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science* 124(3–4):259-268.
- 9) Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. 1999. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Animal Reproduction Science* 57(1–2):51-66.
- 10) Bartlewski PM, Vanderpol J, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC. 2000. Ovarian antral follicular dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins and ovarian steroids in anoestrous Finnish Landrace ewes. *Animal Reproduction Science* 58(3–4):273-291.
- 11) Bedrosian TA, Herring KL, Walton JC, Fonken LK, Weil ZM, Nelson RJ. 2013. Evidence for feedback control of pineal melatonin secretion. *Neuroscience Letters* 542(0):123-125.
- 12) Berisha B, Schams D. 2005. Ovarian function in ruminants. *Domestic Animal Endocrinology* 29(2):305-317.
- 13) Bocquier F, Kann G, Thimonier J. 1993. Effects of body composition variations on the duration of the postpartum anovulatory period in milked ewes submitted to two different photoperiods. *Reproduction, nutrition, development* 33(4):395-403.
- 14) Brown. *Manual of Endocrinology* 2008
- 15) Chagas e Silva J, Lopes da Costa L, Cidadão R, Robalo Silva J. 2003. Plasma progesterone profiles, ovulation rate, donor embryo yield and recipient embryo survival in native Saloia sheep in the fall and spring breeding seasons. *Theriogenology* 60(3):521-532

- 16) Christensen ACM, Haresign W, Khalid M. 2012. Progesterone exposure of the preovulatory follicle in the seasonally anestrus ewe alters the expression of angiogenic growth factors in the early corpus luteum. *Theriogenology* 77(8):1648-1660.
- 17) Christensen ACM, Haresign W, Khalid M. 2014. Progesterone exposure of seasonally anoestrous ewes alters the expression of angiogenic growth factors in preovulatory follicles. *Theriogenology* 81(2):358-367.
- 18) Ciechanowska M, Łapot M, Mateusiak K, Przekop F. 2010. Neuroendocrine regulation of GnRH release and expression of GnRH and GnRH receptor genes in the hypothalamus-pituitary unit in different physiological states. *Reproductive Biology* 10(2):85-124.
- 19) Clarke IJ, Pompolo S. 2005. Synthesis and secretion of GnRH. *Animal Reproduction Science* 88(1–2):29-55.
- 20) Contreras-Solis I, Diaz T, Lopez G, Caigua A, Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes 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.
- 21) Corner-Thomas RA, Back PJ, Kenyon PR, Hickson RE, Ridler AL, Stafford KJ, Morris ST. 2015a. Ad libitum Pasture Feeding in Late Pregnancy Does Not Improve the Performance of Twin-bearing Ewes and Their Lambs. *Asian Australas. J. Anim. Sci* 28(3):360-368.
- 22) Corner-Thomas RA, Ridler AL, Morris ST, Kenyon PR. 2015b. Ewe lamb live weight and body condition scores affect reproductive rates in commercial flocks. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 58(1):26-34.
- 23) Costine BA, Inskeep EK, Blemings KP, Flores JA, Wilson ME. 2007. Mechanisms of reduced luteal sensitivity to prostaglandin F₂α during maternal recognition of pregnancy in ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 32(2):106-121.
- 24) deNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH. 2006. Effect of weaning pre- or post-mating on performance of spring-mated ewes and their lambs in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 49(3):255-260.
- 25) deNicolo G, Parkinson TJ, Kenyon PR, Morel PCH, Morris ST. 2009. Plasma progesterone concentrations during early pregnancy in spring- and autumn-bred ewes. *Animal Reproduction Science* 111(2–4):279-288
- 26) El-Sherry TM, Senosy W, Mahmoud GB, Wasfy SI. 2013. Effect of dinoprost and cloprostenol on serum nitric oxide and corpus luteum blood flow during luteolysis in ewes. *Theriogenology* 80(5):513-518.
- 27) Evans ACO. 2003. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal Reproduction Science* 78(3–4):289-306.
- 28) Fabre-Nys C, Gelez H. 2007. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. *Hormones and Behavior* 52(1):18-25.
- 29) Fierro S, Olivera-Muzante J, Gil J, Viñoles C. 2011. Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology* 76(4):630-639.
- 30) Fethenakis GC, Arsenos G, Brozos C, Fragkou IA, Giadinis ND, Giannenas I, Mavrogianni VS, Papadopoulos E, Valasi I. 2012. Health management of ewes during pregnancy. *Animal Reproduction Science* 130(3–4):198-212.
- 31) Foster, D.L., Jackson, L.M., 2006. Puberty in Sheep, in: Neill, J., (Eds.), *Physiology of Reproduction*. Third edition, Elsevier. pp. 2127-2177
- 32) Grajales, H. 2001. Comportamiento reproductivo de grupos raciales bovinos en el trópico calido-húmedo colombiano: Pubertad, ciclo estral, preñez temprana, postparto. Niveles de

hormonas esferoidales y su relación con la eficiencia reproductiva (tesis de doctorado). Universidad Nacional de Colombia.

- 33) Goff KJ, Knight JW, Pelzer KD, Akers RM, Notter DR. 2013. Circannual changes in progesterone secretion in intact ewes, luteinizing hormone secretion in ovariectomized estradiol-implanted ewes, and prolactin secretion in three sheep breeds anticipated to differ in seasonality of reproduction. *Animal Reproduction Science* 138(3–4):194-202.
- 34) Gomes MGT, Macedo-Júnior GL, Ferreira MIC, Borges I, Varago FC, Lago LA, Henry M. 2014. Some aspects of the puerperium after singleton and twin parturitions in Santa Inês ewes submitted to energy restriction during pregnancy. *Small Ruminant Research* 120(2–3):219-223.
- 35) Gonzalez-Bulnes A, Souza CJH, Campbell BK, Baird DT. 2004. Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Animal Reproduction Science* 84(1–2):107-119.
- 36) Greaves RF, Jevalikar G, Hewitt JK, Zacharin MR. 2014. A guide to understanding the steroid pathway: New insights and diagnostic implications. *Clinical Biochemistry* 47(15):5-15.
- 37) Hadeef A, Miroud K, Kaidi R. 2014. Effects of body condition and anaemia status on postpartum ovarian activity in ewes under two management systems in Algeria. *Livestock Research for Rural Development* 26(12).
- 38) Hashem NM, El-Azrak KM, Nour El-Din ANM, Taha TA, Salem MH. 2015. Effect of GnRH treatment on ovarian activity and reproductive performance of low-prolific Rahmani ewes. *Theriogenology* 83(2):192-198.
- 39) Hawken PAR, Beard AP. 2009. Ram novelty and the duration of ram exposure affects the distribution of mating in ewes exposed to rams during the transition into the breeding season. *Animal Reproduction Science* 111(2–4):249-260.
- 40) Hawken PAR, Beard AP, Esmaili T, Kadokawa H, Evans ACO, Blache D, Martin GB. 2007. The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH secretion in cyclic ewes during the breeding season. *Theriogenology* 68(1):56-66.
- 41) Hawken PAR, Martin GB. 2012. Sociosexual stimuli and gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretion in sheep and goats. *Domestic Animal Endocrinology* 43(2):85-94.
- 42) Hayder M, Ali A. 2008. Factors affecting the postpartum uterine involution and luteal function of sheep in the subtropics. *Small Ruminant Research* 79(2–3):174-178.
- 43) Hazlerigg D, Simonneaux V. 2015. Chapter 34 - Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press. p. 1575-1604.
- 44) Henao A. 1988. Efecto del destete precoz sobre el comportamiento reproductivo en ovinos (tesis de grado). Universidad Nacional de Colombia.
- 45) Herbison AE. 2015. Chapter 11 - Physiology of the Adult Gonadotropin-Releasing Hormone Neuronal Network. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press. p. 399-467.

- 46) Herrera GI, López JRA, Burgos AA, González-Bulnes A. 2010. Effect of body condition and season of the year on estrous cycle, estrous, follicular development and ovulation rate in Pelibuey ewes under tropical conditions. *Veterinaria Mexico* 41(3):167-175.
- 47) Huang H, Wang Z, Weng S-J, Sun X-H, Yang X-L. 2013. Neuromodulatory role of melatonin in retinal information processing. *Progress in Retinal and Eye Research* 32(0):64-87.
- 48) IDEAM. 2013. Reporte del clima 2013 Febrero - Diciembre. <http://institucional.ideam.gov.co>.
- 49) Kaminski SL, Redmer DA, Bass CS, Keisler DH, Carlson LS, Vonnahme KA, Dorsam ST, Grazul-Bilska AT. 2015. The effects of diet and arginine treatment on serum metabolites and selected hormones during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 83(5):808-816.
- 50) Kandiel MMM, El-Khaiat HM, Mahmoud KGM. 2016. Changes in some hematobiochemical and hormonal profile in Barki sheep with various reproductive statuses. *Small Ruminant Research* 136:87-95.
- 51) Knights M, Siew N, Ramgattie R, Singh-Knights D, Bourne G. 2012. Effect of time of weaning on the reproductive performance of Barbados Blackbelly ewes and lamb growth reared in the tropics. *Small Ruminant Research* 103(2-3):205-210.
- 52) Kuby 2007 *Inmunología*. Sexta edición McGrawHill
- 53) Lozano H. 2015. Study of sexual characteristics of male and female sheep under high altitude conditions in Colombia (thesis PhD). University the Namur, Belgium.
- 54) Martinez MF, McLeod B, Tattersfield G, Smaill B, Quirke LD, Juengel JL. 2015. *Animal Reproduction Science* 155(0):28-35.
- 55) Meilán J, Ungerfeld R. 2014. Does introduction of rams during the late luteal phase promote the estrus response in cyclic ewes? *Small Ruminant Research* 120(1):116-120.
- 56) O'Connell AR, Hurst PR, Davis GH, McNatty KP, Taylor SL, Juengel JL. 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.
- 57) Oliveira MEF, Sousa HLL, Moura ACB, Vicente WRR, Rodrigues LFS, Araújo AA. 2013. The effects of parturition season and suckling mode on the puerperium of Santa Ines ewes and on the weight gain of lambs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 65:857-864.
- 58) Opsomer, G. 1998. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reproduction in Domestic Animals*. 33:193-204.
- 59) Padmanabhan V, Sharma TP. 2001. Neuroendocrine vs. Paracrine Control of Follicle-Stimulating Hormone. *Archives of Medical Research* 32(6):533-543.
- 60) Pangas SA, Rajkovic A. 2015. Chapter 21 - Follicular Development: Mouse, Sheep, and Human Models. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press. p. 947-995.
- 61) Pangas SA, Woodruff TK. 2000. Activin Signal Transduction Pathways. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 11(8):309-314.
- 62) Pellicer-Rubio M-T, Touzé J-L, Baril G, Malpoux B. 2013. The luteal outcome of anoestrus ewes induced to ovulate by the male effect is not related to the population of ovarian antral follicles before male exposure. *Animal Reproduction Science* 137(1-2):23-30.
- 63) Peter AT, Vos PLAM, Ambrose DJ. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* 71(9):1333-1342.

- 64) Pevsner, D. A., Iglesias, R. R., & Ciccioli, N. H. 2010. Ram-induced oestrus and ovulation in lactating and weaned Corriedale ewes. *animal*, 4(03), 472-479.
- 65) Ramírez F, Grajales L. 1993. Edad y peso a la pubertad y comportamiento reproductivo en ovejas mestizas y criollas en trópico alto colombiano. (tesis de grado): Universidad Nacional de Colombia.
- 66) Richards JS, Liu Z, Shimada M. 2015. Chapter 22 - Ovulation. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition). San Diego: Academic Press. p. 997-1021.
- 67) Rodríguez Iglesias RM, Ciccioli NH, Ferrería J, Pevsner DA, Rosas CA, Rodríguez MM, Pedrueza JR. 2013. Short-lived corpora lutea syndrome in anoestrous ewes following 17 β -oestradiol or MAP treatments applied before an allogenic sexual stimulation with rams and oestrous ewes. *Animal Reproduction Science* 136(4):268-279.
- 68) Ronquillo JCC, Martínez AP, Pérez CMB, Sandoval BF, Martín GB, Valencia J, Gallegos Sánchez J. 2008. Prevention of suckling improves postpartum reproductive responses to hormone treatments in Pelibuey ewes. *Animal Reproduction Science* 107(1-2):85-93.
- 69) Rosa HJD, Bryant MJ. 2002. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small Ruminant Research* 45(1):1-16.
- 70) Rubianes E, de Castro T, Kmaid S. 1998. Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. *Theriogenology* 49(1):356.
- 71) Rubianes E, Castro Td, Carbajal B. 1996. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Canadian Journal of Animal Science* 76(3):473-475
- 72) Sangha GK, Sharma RK, Guraya SS. 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research* 43(1):53-64.
- 73) Schirar A, Meusnier C, Paly J, Levasseur MC, Martinet J. 1989. Resumption of ovarian activity in post-partum ewes: Role of the uterus. *Animal Reproduction Science* 19(1-2):79-89.
- 74) Seekallu SV, Toosi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, Rawlings NC. 2010a. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology* 73(5):670-680.
- 75) Seekallu SV, Toosi BM, Ziegler A, Reeves JJ, Rawlings NC. 2010b. Pulsed GnRH secretion and the FSH secretory peaks that initiate ovarian antral follicular wave emergence in anestrous ewes. *Animal Reproduction Science* 120(1-4):56-64.
- 76) Shabankareh HK, Habibizad J, Torki M. 2009. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. *Animal Reproduction Science* 114(4):362-369.
- 77) Shabankareh HK, Habibizad J, Sarsaifi K, Cheghamirza K, Jasemi VK. 2010. The effect of the absence or presence of a corpus luteum on the ovarian follicular population and serum oestradiol concentrations during the estrous cycle in Sanjabi ewes. *Small Ruminant Research* 93(2-3):180-185.
- 78) Shrestha, H.K., Nakao, T., Higaki, T., Suzuki, T. and Akita, M. 2004. Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high producing Holstein cows. *Theriogenology*, Volume 61, 4. 637-649.

- 79) Smith JT. 2012. The role of kisspeptin and gonadotropin inhibitory hormone in the seasonal regulation of reproduction in sheep. *Domestic Animal Endocrinology* 43(2):75-84.
- 80) Stouffer RL, Hennebold JD. 2015. Chapter 23 - Structure, Function, and Regulation of the Corpus Luteum. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press. p. 1023-1076.
- 81) Uribe-Velásquez, L. F., Correa-Orozco, A. y Osorio, J. H. 2011. Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. *Revista de Medicina Veterinaria*, 22
- 82) Valasi I, Theodosiadou E, Fthenakis GC, Papanikolaou T, Deligiannis C, Kalogiannis D, Chadio S, Amiridis GS. 2013. Endocrinological profile and follicular development in cyclic ewes subjected to repeated ovum pick-up. *Animal Reproduction Science* 138(3-4):180-187.
- 83) Vanimisetti HB, Notter DR. 2012. Opportunities for genetic evaluation of reproductive performance in accelerated lambing systems. *Livestock Science* 148(1-2):134-145.
- 84) Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51(7):1351-1361.
- 85) Weems PW, Goodman RL, Lehman MN. 2015. Neural mechanisms controlling seasonal reproduction: Principles derived from the sheep model and its comparison with hamsters. *Frontiers in Neuroendocrinology*.
- 86) Wei S, Gong Z, Dong J, Ouyang X, Wei M, Xie K, Li Q, Zhang F, Sun J. 2012. Effect of a GnRH agonist on the FSH receptors in prepubertal ewes. *Small Ruminant Research* 105(1-3):237-243.

2. Reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano

¹Alvarado García P. ^{a,b,c}; Grajales H. ^{a,b,c} //

paalvaradog@unal.edu.co - hagrajalesl@unal.edu.co

^a Departamento de Ciencias para la Producción Animal; ^b Laboratorio de Reproducción - Centro de Investigación Desarrollo Tecnológico y Extensión Ovino- CIDTEO. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. ^c Grupo de investigación: Gestión Tecnológica e Innovación en Sistemas Pecuarios - SIGETEC

Abstract

The aim of this research was to investigate about the reactivation and resumption of postpartum ovarian activity. Adult sheep (n=32) of the breeds biotypes: Criolla Colombiana, Romney Marsh, Hampshire, and Corriedale were followed from lambing (single or multiple) until they showed estrous cyclicity. During the experimental period, blood samples were collected three times a week, and a teaser ram was used to detect heats. Data of body weight and body condition were collected once a month. Immunoassay (ELISA) technique was selected to assess plasma progesterone levels with 95% certainty and a coefficient of variation inter-assay and intra-assay were 4.2 and 3.5 respectively. An analysis of variance with a factorial structure using the statistical program SAS (2011). Postpartum ovarian reactivation time was $31,8 \pm 14,1$ days on mean without presenting significant differences within the evaluated groups. 78,13% (n=25) sheep resume ovarian activity postpartum day 35 before considering how early and demonstrating that multiple birth rate slows down and affects the resumption. 68.7% (n=22) sheep presented short life luteal corpus of

subsequent to the first ovulation postpartum, with a duration of $5,3 \pm 0.6$ days promoting stabilize your activity and present a type of normal ovarian reactivation classified as normal media (type 1-b). Creole ewe presented an 87.5% ($n=7$) resumption of ovarian as normal rated (type 1) representing an efficient performance in early ovarian recovery. In contrast, the Corriedale group presented a 25% ($n=2$) profiles classified as long anovulation (type 4) and introducing greater heterogeneity in the variables of postpartum ovarian resumption. The influence of tropical high in the biotypes evaluated evidenced by observing the outstanding behavior of individuals, in particular, involving long-term population adaptations, natural selection, which allows the animal to express physiological and behavioral responses sufficient to survive and produce appropriately.

Keywords:

Ewe, tropic high, progesterone, type lambing

Resumen

El objetivo fue investigar acerca de la reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto. Ovejas adultas ($n=32$) de los biotipos raciales: Criolla Colombiana, Romney Marsh, Hampshire y Corriedale se siguieron a partir del parto (simple o múltiple) hasta que mostraron ciclicidad estral. Durante el periodo experimental se recolectaron muestras de sangre tres veces por semana y se detectaron estros con la ayuda de un macho vasectomizado provisto de arnés. Datos de peso y condición corporal se tomaron una vez al mes. Se utilizó la técnica de inmunoensayo (ELISA) para evaluar la concentración plasmática de progesterona con un 95% de certeza y un coeficiente de variación inter-ensayo e intra-ensayo de 4.2 y 3.5 respectivamente. El análisis estadístico se realizó con el modelo de estructura factorial usando el paquete estadístico SAS (2011). El tiempo de reactivación ovárica posparto fue de $31,8 \pm 14,1$ días en promedio sin presentar diferencias significativas dentro de los grupos evaluados. El 78,13% ($n=25$) de las ovejas reasumen la actividad ovárica posparto antes del día 35 considerándose como temprana y evidenciando que el tipo de parto múltiple retrasa y afecta la reanudación. En el 68,7% ($n=22$) de las ovejas presentaron cuerpo luteos de corta vida posterior a la primera ovulación posparto,

con una duración de $5,3 \pm 0,6$ días promoviendo estabilizar su ciclicidad posterior y presentar un tipo de reactivación ovárica normal clasificada como normal media (Tipo 1-b). Las hembras Criollas presentaron un 87,5% (n=7) de reanudación ovárica clasificada como normal (Tipo 1) representando un eficiente desempeño en la recuperación ovárica temprana. En contraste, el grupo Corriedale presentó un 25% (n=2) de perfiles clasificados como anovulaciones prolongadas (Tipo 4) y presentando mayor heterogeneidad en las variables de reanudación ovárica posparto. Se evidencia la influencia del trópico alto en los biotipos evaluados, observando el comportamiento sobresaliente de individuos en particular que implican adaptaciones poblacionales a largo plazo, por selección natural, que le permiten al animal manifestar respuestas fisiológicas y de comportamiento suficientes para sobrevivir y producir en forma adecuada.

Palabras claves:

Hembra ovina, trópico alto, progesterona, tipo de parto, anestro posparto

2.1. Introducción

Los conocimientos de los parámetros reproductivos son fundamentales para evaluar la productividad de un rebaño constituyendo una herramienta determinante para proyectar la capacidad de abastecer la creciente demanda de carne ovina. El anestro posparto constituye un factor bio-económico importante puesto que involucra el periodo de tiempo comprendido entre el parto, la reactivación y reanudación de la actividad ovárica con capacidad de fecundación, determinando la frecuencia de partos y la vida productiva de la oveja. Uno de los propósitos en los sistemas de producción ovina en Colombia es garantizar una buena eficiencia reproductiva buscando reducir el intervalo entre partos (IEP) a ocho meses con el objetivo de obtener tres crías (1,5 partos/año/oveja) cada dos años (Martínez-Rojero et al 2011; SIGETEC 2008).

La anovulación en posparto se atribuye al bloqueo del pulso generador de hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) puesto que existe el efecto de retroalimentación

negativa al estradiol (E_2), que esta determinado por la baja sensibilidad de los gonadotropos hipofisarios (Ciechanowska et al., 2010; Goff et al., 2013). Durante este periodo la hormona luteinizante (LH) y el ovario no están completamente inactivos. Los pulsos de secreción de LH son infrecuentes lo que impide hacer el pico preovulatorio con la subsecuente falta de maduración folicular, aunque los folículos siguen en crecimiento, evidenciado con el desarrollo de ondas foliculares por la acción de la hormona folículo estimulante (FSH), pero con la posterior regresión (Bartlewski et al 1999b; Bartlewski et al 2000; Wei et al 2012; Wise 1990; Rhodes et al., 2003).

El proceso de reactivación ovárica consiste en la reanudación de la liberación pulsátil y sostenida de GnRH, basándose en el restablecimiento y coordinación del eje hipotálamo - hipofisis - ovario – útero (Ascari et al 2013). Los cambios en la secreción de LH generan la maduración del folículo, la ovulación y la consecuente formación del cuerpo lúteo (CL) (Clarke y Pompolo 2005). El CL es una glándula endocrina transitoria que secreta progesterona (P_4), considerado el esteroide ovárico más importante, cuya secreción determina la vida reproductiva de la hembra ovina y es esencial para la regulación de la función reproductiva normal (Skinner et al 2000). Durante la transición del periodo anovulatorio a la reanudación de la actividad ovárica posparto se presentan fases luteas de corta vida y ovulaciones silenciosas (Rodríguez Iglesias et al 2013; Skinner et al 2000; Schirar et al 1989), en donde existe la formación morfológica de un CL (Bartlewski et al 1999b) con una luteolisis anticipada alrededor del día 3-7 por efectos de la sensibilidad de $PGF_{2\alpha}$ uterina (Christensen et al 2012; Pellicer-Rubio et al 2013; Rodríguez Iglesias et al 2013). Este evento ha sido reportado también en etapas fisiológicas de la hembra como: la pubertad (Alcaraz Romero et al 2012), reactivación ovárica (Ronquillo et al 2008), periodo de transición del anestro estacional a época reproductiva (deNicolo et al., 2009) y por el efecto macho (Pellicer-Rubio et al 2013; Rosa y Bryant 2002) evidenciado en un 50 a 70% de las ovejas (Rodríguez Iglesias et al 2013; Álvarez-Rodríguez et al 2009).

En la hembra ovina, la reactivación y reanudación de la actividad ovárica son influenciados por numerosos factores como: época de parto y estacionalidad, raza (prolificidad), lactancia (Hernández et al., 2009), balance energético (nutrición), involución uterina y señales socio-sexuales (Abi Salloum y Claus 2005; Vanimisetti y Notter 2012), decisivos para reactivar nuevamente el mecanismo reproductivo del eje hipotálamo - hipofisis –

ovarios. Diversos experimentos realizados en época reproductiva han demostrado que las ovejas reasumen la actividad ovárica antes de los 35 días posparto (Araujo et al., 2009; Rodríguez Iglesias et al., 2013; Santiago-Moreno et al., 2000; Ungerfeld y Sanchez-Davila 2012); siendo esencial que las ovulaciones estén acompañadas de comportamiento estral como indicativo de restablecimiento de la actividad ovárica. Autores como Araujo et al., (2009); Hadeef et al., (2014); Quirke et al., (1983) sugieren que ovejas con buena condición corporal y pérdida ligeras de peso en el posparto pueden manifestar el primer estro observado dentro de los 50 días.

El objetivo de este trabajo fue investigar acerca de la reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto, determinando el efecto del tipo de parto, clasificado por el número de crías (simple o múltiple) en cuatro tipos raciales ovinos, bajo condiciones particulares del trópico alto colombiano. Con lo anterior, el conocimiento de este evento debe ser útil para mejorar las prácticas de manejo reproductivo de la población racial más representativa, que corresponde a las razas: Criolla tipo lana y tres razas foráneas adaptadas por más de 60 años al país (Corriedale, Hampshire y Romney Marsh).

2.2. Hipótesis

Al menos uno de los tipos raciales presenta una reactivación y reanudación de la actividad ovárica diferente en el posparto.

El tipo de parto (simple o múltiple) influye en la reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo General

Investigar acerca de la reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones particulares del trópico alto colombiano.

2.3.2. Objetivos Específicos

Determinar los efectos del tipo racial y tipo de parto sobre la reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto.

Caracterizar los tipos de actividad ovárica durante la reactivación y la reanudación de la actividad ovárica posparto.

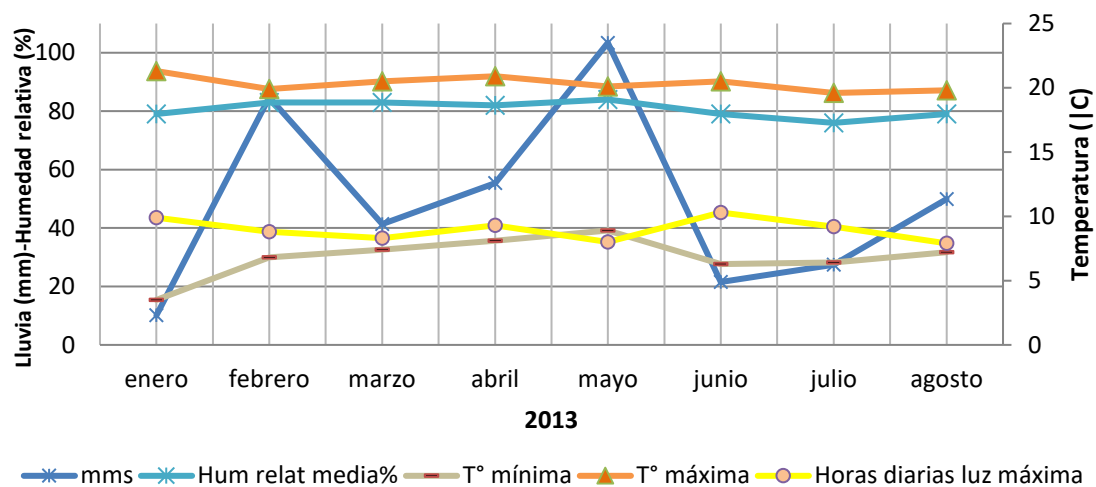
Relacionar la condición corporal de los animales con la reactivación y la reanudación de la actividad ovárica posparto.

2.4. Materiales y métodos

2.4.1. Localización

El experimento se ejecutó durante enero a agosto de 2013, en El Centro de Investigación, Desarrollo Tecnológico y Extensión Ovino (CIDTEO), ubicado en el Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia en Mosquera Cundinamarca, a 4° 42' de latitud norte y 74° 12' de longitud oeste, altitud de 2650 msnm, temperatura variable entre 6,4° C y 20,9 ° C, humedad relativa de 80% a 87% y la precipitación oscilo entre 21,5 mm y 104 mm (en época de sequía o lluvia respectivamente). La intensidad lumínica se mantuvo constante durante el periodo, encontrando una variación menor a 0,5 horas/día (IDEAM 2013) Ver Figura 2-1 correspondiente a las variables ambientales.

Figura 2-1 Variables ambientales durante el periodo experimental



Parámetros ambientales: Lluvia, humedad relativa, temperatura y horas luz.

IDEAM, 2013.

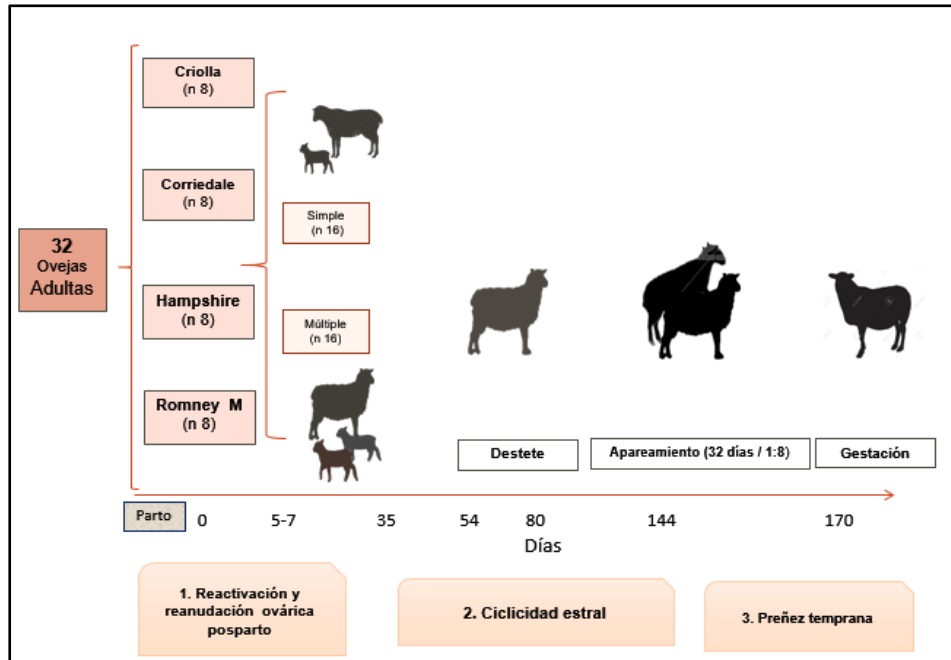
2.4.2. Diseño experimental

▪ Animales experimentales

Se incluyeron 32 ovejas adultas de la misma temporada de partos, las cuales completaban entre 2 a 3 partos y estaban clínicamente sanas. Ocho hembras conformaron cada biotipo racial (n=8): Criolla Colombiana, Corriedale, Hampshire y Romney Marsh. De acuerdo al tipo de parto, simple o múltiple, se formaron 2 subgrupos dentro de cada raza para un (n=4).

Todos los animales fueron manejados en potreros con sistema de cría libre y praderas compuestas principalmente kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) y ray-grass italiano (*L. multiflorum*) en una proporción 70/30 respectivamente. Adicionalmente fueron suplementadas con: 500 gramos de concentrado, 300 g de silo de maíz, 6ml glicerol, 10 g de sal y con agua a disposición, para mantener el cubrimiento de las necesidades nutricionales de los animales y procurar durante todo el periodo de evaluación un comportamiento fisiológico normal.

Figura 2-2 Esquema diseño experimental



Diseño experimental: involucra el experimento 1. Reactivación y reanudación de la actividad ovárica posparto. 2. Comportamiento sexual y ciclo estral y 3. Preñez temprana.

- **Peso y condición corporal**

Los datos de peso y condición corporal (CC) (escala de 1= emaciada a 5= obesa) (Corner-Thomas et al 2015b; Álvarez-Rodríguez et al 2009) fueron registrados mensualmente durante todo el experimento.

El destete se aplicó a los 74 días en promedio. Las crías fueron separadas a más de 500 metros para evitar el contacto físico, visual y olfativo con la cría (Camacho et al, 2008).

- **Protocolo de muestreo**

Se tomaron muestras de sangre, tres (3) veces por semana a la misma hora (8:00 a 10:00), mediante la técnica de venopunción de la yugular (5 ml), en tubos vacutainer con heparina

(Becton Dickinson®, Rutherford, NJ, USA) para evaluar los niveles séricos de progesterona a partir del día 5-7 posparto durante la reactivación y reanudación de la actividad ovárica cíclica. Figura 2-2. Las muestras debidamente rotuladas, se llevaron inicialmente al Laboratorio de apoyo del Centro de investigación CIDTEO en donde se centrifugaron a 1200 x g durante 10 minutos para obtener el plasma sanguíneo, se dividieron en dos alícuotas (A y B) y se almacenaron en viales debidamente marcados a una temperatura de (-70 ° C) hasta su traslado al Laboratorio de Hormonas, en donde se realizó la cuantificación de los niveles de progesterona.

- **Detección de estros por observación (Comportamiento sexual)**

La detección de estros se realizó con ayuda de un macho adulto vasectomizado provisto con un arnés y tizas marcadoras de diferentes colores. El macho estuvo permanentemente con todas las hembras del experimento y la tiza de color se cambió semanalmente. Las montas se registraron diariamente para obtener una fecha aproximada del estro.

- **Ensayo Hormonal**

La concentración de progesterona fue medida con el kit comercial ELISA inmunoensayo (DSI® RH-351, Italy), en el Laboratorio de Hormonas de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. El kit fue seleccionado para evaluar los niveles de progesterona de las muestras del experimento en duplicado mediante una curva lineal de calibración que contiene un rango de calibradores entre entre 0,1 a 3,5 ng/ml de progesterona en plasma. El calibrador 4 del kit y el calibrador 0 fueron utilizados como control positivo y negativo respectivamente. El ensayo conto con el 95% de certeza, un límite inferior de sensibilidad de 0,1 ng/ml y un coeficiente de variación inter- ensayo e intraensayo de 4,2 y 3,6 respectivamente.

2.5. Criterios para el manejo de variables

Se consideró anestro posparto cuando los niveles de progesterona basales no excedieron 1ng/ml; mientras que la reactivación ovárica se manifestó con el incremento que excedió 1ng/ml en los niveles séricos de progesterona, en dos o más muestreos consecutivos. La ovulación cuando la concentración de progesterona se encuentra en niveles menores a 0,5 ng/ml y se evidencia un aumento en la concentración de P₄ mayor a 1 ng/ml en mínimo dos siguientes muestreos. El CL de corta vida como la presencia de actividad lúteal durante 4 a 7. El primer ciclo regular se define como la presencia de actividad lúteal durante más de tres muestreos consecutivos con niveles de progesterona mayores a 1ng/ml y completando un estro con 14-20 días de duración (Hadeb et al 2014) y el restablecimiento de la ciclicidad se logra en el punto de tiempo cuando se presentan mínimo tres ciclos estrales regulares seguidos (Bartlewski et al 1999a).

Con fines del análisis se definió el día 35 como promedio de días a la primera ovulación postparto, el cual fue utilizado como punto de corte para definir la clasificación de la actividad ovárica posparto, usando como referente el modelo de secreción de progesterona hecha por Opsomer et al. (1998) y Grajales (1998), y ajustado a la hembra ovina (Hayder y Ali 2008; Álvarez-Rodríguez et al 2009) como primera aproximación de la reactivación ovárica en ésta especie. Tabla 2-4, definiéndose de la siguiente manera:

2.5.1. Normal alta (Tipo 1-a)

El primer incremento de progesterona se presenta antes del día 35 posparto, dándose una actividad lúteal normal, la cual es producida luego de la respectiva ovulación. Es posible que más del 90% de los casos el servicio que recibe la hembra en el primer estro regular sea efectivo y se produzca la concepción con la capacidad de mantener la preñez.

2.5.2. Normal media (Tipo 1-b)

El primer incremento de progesterona se presenta antes del día 35 posparto, pudiendo obedecer a un cuerpo luteo de vida corta y/o “estro silencioso” no conducente a una actividad luteal normal. Las hembras posiblemente requieren de uno o dos servicios antes

de lograr una concepción efectiva (entre el día 35 a 70 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

2.5.3. Media (Tipo 2)

El primer incremento de progesterona se presenta hacia el día 45 posparto (Hayder y Ali 2008), pudiendo obedecer a un cuerpo luteo de corta vida y/o “estro silencioso”, no conducente a una actividad luteal normal. Las hembras reciben dos, tres o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 70 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

2.5.4. Interrupción de la ciclicidad (Tipo 3)

Los primeros incrementos de progesterona se presentan generalmente hacia el día 35 posparto, pudiendo obedecer a una actividad lútea normal, cuerpo luteo de corta vida y/o “estro silencioso”, la cual es producida luego de la respectiva ovulación. Hay interrupción de la actividad ovárica por un periodo mayor de 14 días. Las hembras al reiniciar la ciclicidad pueden posiblemente deben recibir dos o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 70 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

2.5.5. Anovulación prolongada (Tipo 4)

Puede presentar esporádicamente cuerpo luteo de corta vida y/o “estro silencioso”, no conducente a una actividad luteal normal, la cual es seguida por una interrupción de la actividad ovárica hasta después del día 100 posparto, cuando se presenta el reinicio de la ciclicidad. Las hembras pueden lograr una concepción efectiva después del día 100 posparto con capacidad para el mantenimiento de la preñez.

2.6. Aval del comité de ética para la experimentación animal

El trabajo se realizó bajo el concepto aprobatorio del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia – UNAL Bogotá emitido el 1° de noviembre de 2012 (Acta 10).

2.7. Análisis estadístico

Los perfiles de progesterona fueron analizados inicialmente por estadística descriptiva, medidas de tendencia central y de dispersión. Los diferentes tipos de actividad ovárica posparto se expresaron en porcentaje. Con base en el conocimiento fisiológico y a las gráficas individuales de los perfiles endocrinos, se determinó el dato de las variables a evaluar, incluyendo: el inicio de la actividad ovárica, primera ovulación, Intervalo parto primer incremento de progesterona (IPP₄), intervalo parto primer estro observado (IP1O), Intervalo parto primer estro regular (IP1ER) e Inicio de la ciclicidad.

Las variables cuantitativas fueron analizadas con un diseño factorial 4 (razas) x 2 (tipo de parto) ANAVA (SAS 2011).

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + E_{ijk}$$

$$i=1,2,\dots,r \quad j=1,2,\dots,a; \quad k=1,2,\dots,b$$

Y_{ij} = Variables de reactivación ovárica en el anestro pos parto (día) (Número)

μ = La media.

α_j = El efecto de la j-ésima raza

β_k = Efecto del nivel k del tipo de parto.

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Efecto de la combinación del nivel j de la raza y el nivel k del tipo de parto. (Efecto de la interacción AB, periodo y condición corporal).

E_{ijk} = Error experimental

La comparación de medias se realizó empleando el método de Tukey

Adicionalmente se utilizó la prueba de Chi Cuadrado para evaluar el tiempo de reanudación de la actividad ovárica (ovulación temprana antes del día 35 posparto) de acuerdo al tipo de parto y todos los resultados fueron expresados como media y error estándar.

Adicionalmente, se realizó regresión lineal para evaluar la reactivación ovárica posparto y su asociación con las variables condición corporal y peso.

2.8. Resultados

2.8.1. Anestro posparto

El valor promedio de progesterona durante el tiempo de inactividad ovárica, dentro de cada grupo racial fue de $0,523 \pm 0,34$ días para la raza Criolla; $0,414 \pm 0,32$ días para la Romney Marsh; $0,454 \pm 0,35$ días para la raza Hampshire y $0,480 \pm 0,24$ d. para la raza Corriedale.

2.8.2. Reactivación ovárica posparto

- **Intervalo parto primer incremento de progesterona posparto (IPP₄)**

El intervalo parto primer incremento de progesterona (IPP₄) fue para el grupo Criolla de $29,0 \pm 9,9$ días, el grupo Corriedale de $40,4 \pm 15,4$ días, para el grupo Hampshire de $26,5 \pm 14,7$ días y para el grupo Romney de $31,5 \pm 14,1$ días (Tabla 2-1). Si bien es cierto, no se encontraron diferencias estadísticas en el modelo en general ($P=0,138$) ni interacción entre el tipo racial y tipo de parto ($P=0,1186$); tal vez, por la variabilidad presentada dentro de los grupos, es notable que el grupo Corriedale requiere más tiempo para mostrar el primer incremento de progesterona, lo que repercute en el inicio de la ciclicidad.

Tabla 2-1 Tiempo de reactivación ovárica posparto

Tipo Racial	Reactivación Ovárica	Tipo de parto		Media
		Simple	Múltiple	
Criolla	PO	20,0±6,9	29,8±10,9	24,8±10,0
	IPP ₄	25,3±7,6	32,8±11,5	29±9,9
Corriedale	PO	30,5±7,0	44,3±19,1	37,4±15,2
	IPP ₄	34,0±8,1	46,8±19,4	40,4±15,4
Hampshire	PO	31,0±3,5	16,5±17,7	23,8±14,1
	IPP ₄	34,5±4,8	18,5±17,7	26,5±14,7
Romney Marsh	PO	22,3±10,5	33,0±14,5	27,6±13,0
	IPP ₄	25,8±10,9	37,3±17,5	31,5±14,1
Primera Ovulación (PO)		25,9±8,3	30,8±17,5	28,4±13,7
Intervalo Parto primer incremento de P ₄ (IPP ₄)		29,9±8,6	33,8±18,1	31,8±14,1

Promedio + Desviación Estándar

▪ **Intervalo parto- primera ovulación**

En el intervalo parto primera ovulación (PPO), que fue de 28,4±13,7 días, no se encontraron diferencias significativas en el modelo en general P=0,098, de acuerdo a los factores evaluados. Tabla 2-1. 25 ovejas (78,13%) se reactivaron antes del día 35 posparto. Se encontró que todas las ovejas (100%) con una sola cría reasumen la actividad ovárica antes de los 35 días a diferencia del parto múltiple (56,25%) P= 0.0028. Tabla 2-2.

Tabla 2-1 Ovejas que reasumen su actividad ovárica antes del día 35 posparto

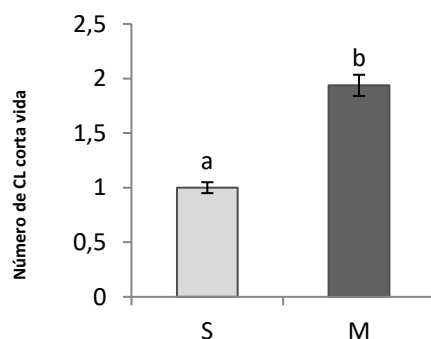
	Criolla		Corriedale		Hampshire		Romney		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Tipo de Parto	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Simple (s)	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100 ^a
Múltiple (m)	3	75	1	25	3	75	2	50	9	56,25 ^b
Total	7	87,5	5	62,5	7	87,5	6	75,0	25	78,13

2.8.3. Reanudación de la actividad ovárica posparto

- **Cuerpo lúteo de corta vida durante la reanudación de la actividad ovárica posparto**

Se presentaron una o dos fases lúteas cortas durante la reanudación de la actividad ovárica con una proporción del 75% (n= 6 por biotipo) en la Criolla, Corriedale y Romney y 50% (n= 4) en la raza Hampshire. Estadísticamente las razas se comportan de manera similar (P=0,610). El CL de corta vida presentó una fase lútea media de $5,92 \pm 1.15$ días. El tipo de parto influye en la presentación de CL de corta vida, pues en el caso de parto múltiple se encontró una media de 1,97 CL de corta vida, comparado con las ovejas de una sola cría que presentaron únicamente 0,93 CL cortos, presentando diferencias significativas (P=0,036) Figura 2-3.

Figura 2-3 Presentación de CL de corta vida durante el posparto en los grupos evaluados

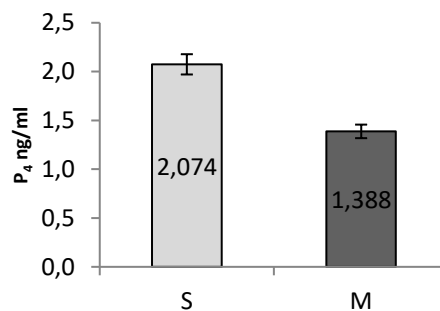


- **Niveles máximos del primer incremento de progesterona (NMPPIP)**

El tipo de parto mostró un efecto significativo (P= 0.012) sobre la variable niveles máximos de progesterona durante el primer incremento de P₄. Los resultados evidencian que, para el tipo de parto simple, los niveles son más altos ($2,074 \pm 0,8$ ng/ml) si se comparan con los niveles de las ovejas con tipo de parto múltiple ($1,388 \pm 0,4$ ng/ml) Figura 2-4.

Debido a que existe mayor presentación de fases luteas cortas por parte de aquellas ovejas con parto múltiple, es de esperarse que estos secreten menores niveles de P_4 . En comparación con el grupo de ovejas de parto simple quienes mostraron CL con duración normal (>8 días) y acompañados de mayores niveles de P_4 , representando mejor función luteal.

Figura 2-4 Niveles máximos de progesterona durante el primer incremento posparto según el tipo de parto.



▪ Clasificación de la actividad ovárica posparto

El presente estudio mostró concentración plasmática de progesterona dentro del rango de 0,2- 3,5ng/ml. Una vez los animales fueron clasificados de acuerdo al tiempo de reactivación ovárica y con base en este promedio más la desviación estándar temprana (>35 días posparto) o tardía (<45 días posparto); se tipificaron los diferentes perfiles de P_4 en donde fueron evidentes comportamientos diferentes entre ellos. La clasificación es la primera aproximación realizada para la especie ovina basada en el modelo de Opsomer G (1998) descrito para las vacas.

▪ Perfiles de progesterona durante el posparto

De las 32 ovejas, 12 (37,5%) tuvieron reactivación ovárica normal (alta y media) mientras que 10 (31,3%) presentaron periodos de interrupción de la ciclicidad. La actividad media tipo 2 (reactivación después de los 45 días posparto) se presentó en 6 ovejas (18,8%) todas de parto múltiple, indicando reanudación de la actividad ovárica tardía y 4 ovejas, también de parto múltiple, presentaron periodos de anovulación (12,5).

En cuanto al tipo de parto se observa que el grupo de una sola cría presenta mayor porcentaje en actividad normal, aunque se evidencia de igual manera una alta presentación de actividad ovárica con interrupción clasificada como tipo 3. En contraste, el grupo con crías múltiples evidencia mayor heterogeneidad en su actividad ovárica posparto, presentando actividad tipo 2, actividad tipo 3 y el total de las anovulaciones representadas en la actividad tipo 4; solamente 3 ovejas (18,8%) presentaron actividad ovárica normal media tipo 1b. El grupo de la raza Criolla tipo lana presentó actividad ovárica constante y cíclica, clasificada como normal (tipo 1) con un 87,54% y 12,5 % con actividad media (tipo 2). El grupo Hampshire mostro un aceptable desempeño respecto a los perfiles de P₄ con un 37,5% de actividad ovárica normal alta (tipo 1-a), 25% de actividad media (tipo 2), 25 % de interrupción de la ciclicidad (tipo 3) y un 12,5% de anovulación prolongada (tipo 4). El grupo Romney Marsh mostraron un alto porcentaje de 62,5% de actividad ovárica tipo 3 y un 12,5 % de actividad tipo 4 y el grupo Corriedale presentó el mayor porcentaje de anovulación prolongada tipo 4 (25%) y un elevado porcentaje de actividad ovárica tipo 3 (37,5%).

Tabla 2-2 Tipo de actividad ovárica posparto (%) presentada por grupos raciales ovinos en el trópico alto – colombiano

Tipo de actividad ovárica posparto		Grupo Racial								Tipo de Parto			
		Criolla		Corriedale		Hampshire		Romney		simple		Múltiple	
		%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Tipo 1-a	Normal Alta	25	2	12,5	1	37,5	3	0	0	37,5	6	0	0
Tipo 1-b	Normal Media	62,5	5	0	0	0	0	12,5	1	18,75	3	18,75	3
Tipo 2	Media	12,5	1	25	2	25	2	12,5	1	0	0	37,5	6
Tipo 3	Interrupción de la ciclicidad	0	0	37,5	3	25	2	62,5	5	43,75	7	18,75	3
Tipo 4	Anovulación prolongada	0	0	25	2	12,5	1	12,5	1	0	0	25	4
Total		100	8	100	8	100	8	100	8	100	16	100	16

Figura 2-5 Actividad ovárica normal alta (tipo 1-a)

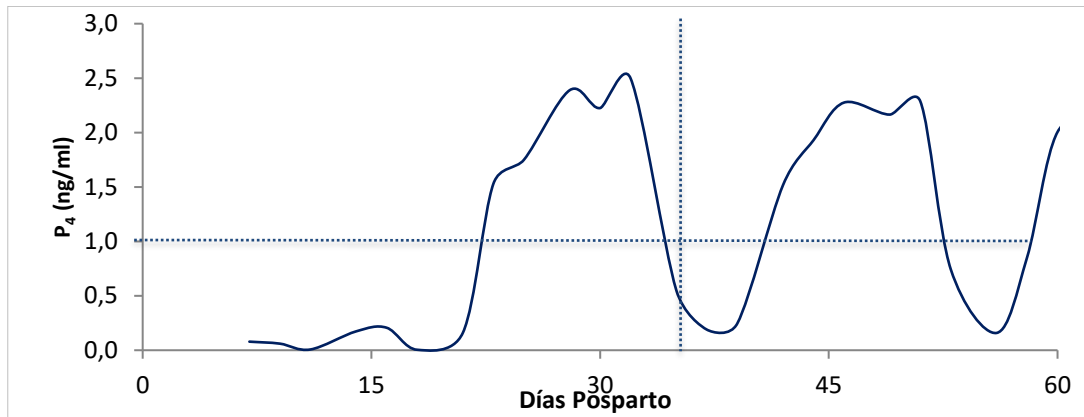


Figura 2-6 Actividad ovárica normal media (Tipo 1-b)

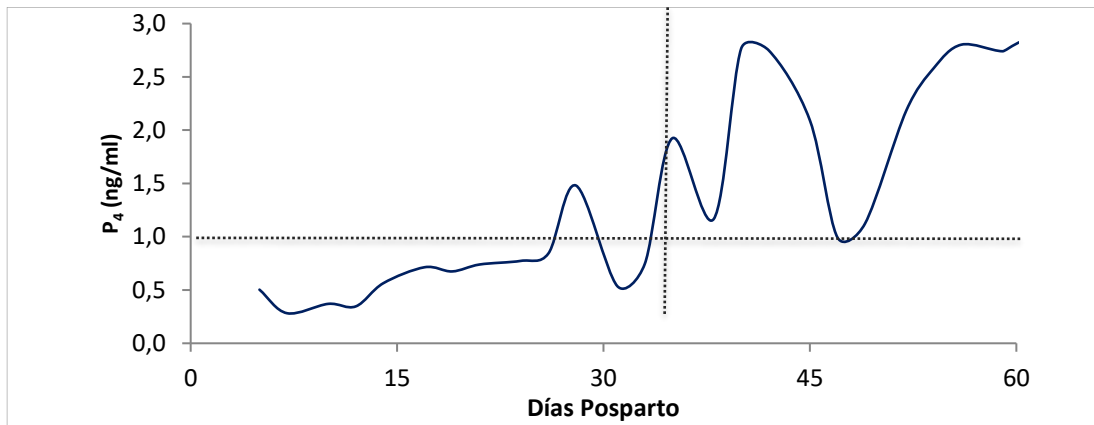


Figura 2-7 Actividad ovárica media (tipo 2)

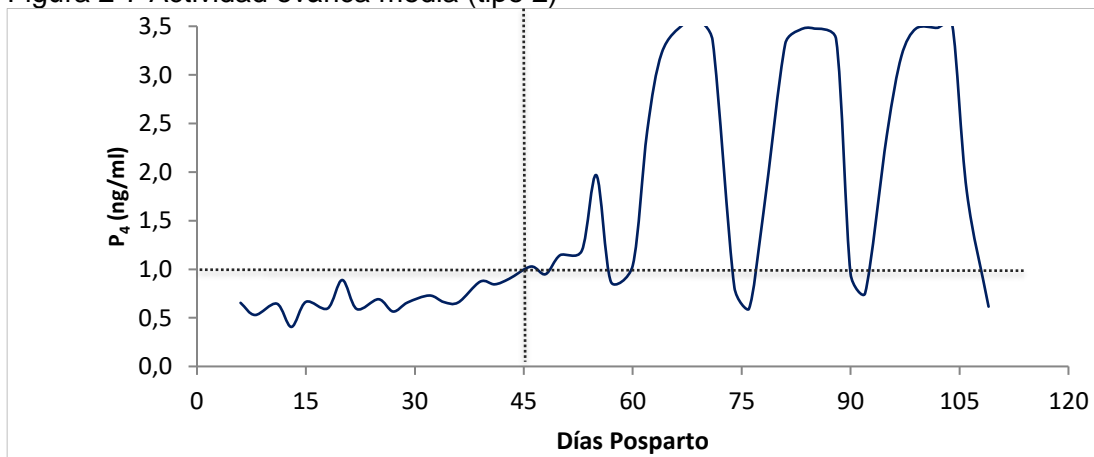


Figura 2-8 Interrupción de la ciclicidad (tipo 3)

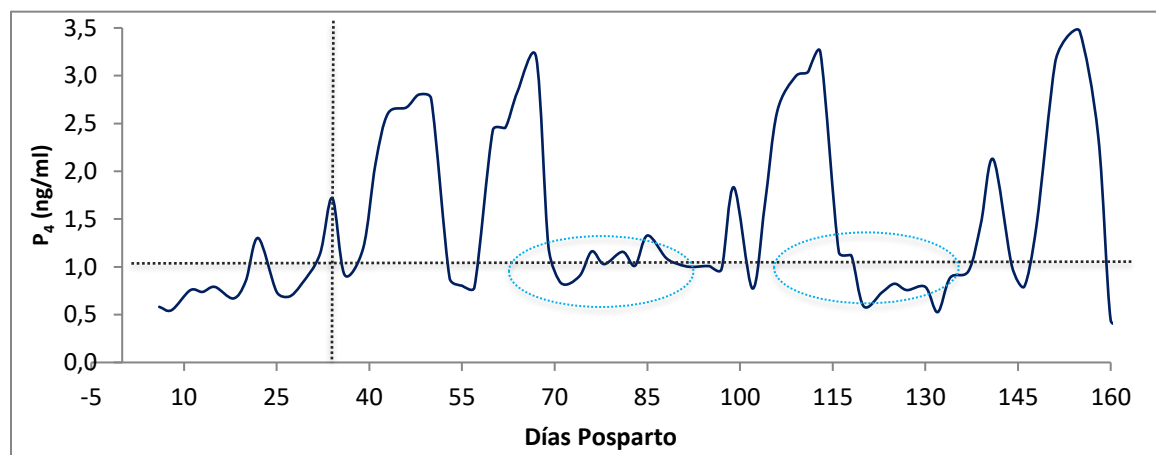
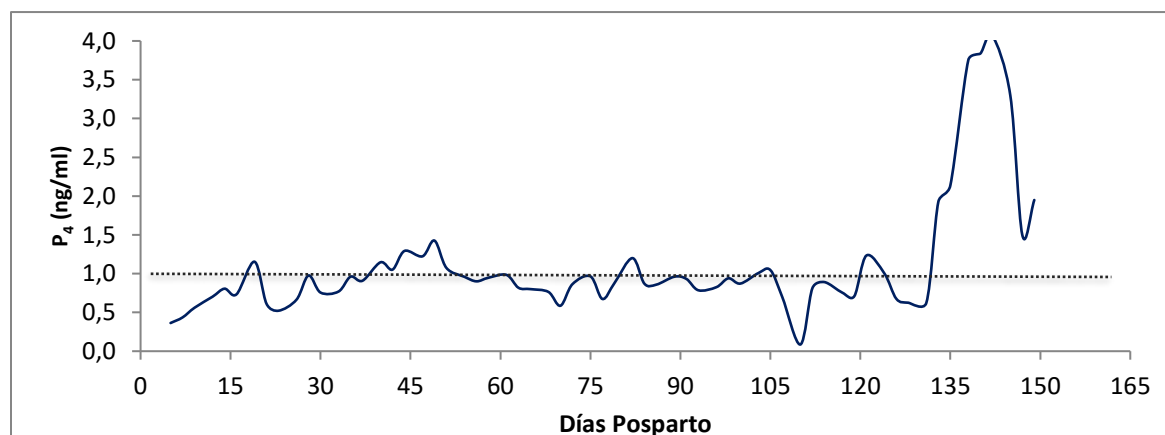


Figura 2-9 Anovulación prolongada (tipo 4)



▪ **Intervalo parto primer estro observado (IP1O)**

Esta investigación arroja un $52,50 \pm 22,18$ días en la variable intervalo primer estro observado IP1O para los grupos en general. Tabla 2-3. Se presentaron diferencias significativas con un $P= 0.0146$ en el modelo. Donde el efecto dado por el tipo de parto es

altamente significativo ($P= 0.006$), pese a que la interacción tipo de parto* Raza no fue estadísticamente significativa ($P=0.983$).

Tabla 2-3 Primer estro observado, Primer ciclo regular e Inicio de la ciclicidad (días).

Variable respuesta	Biotipo racial	Tipo de Parto		Media	Valor P
		Simple	Múltiple		
Primer Estro Observado	Criolla	38,0±9,5	49,0±7,6	43,5±10,2	0.983
	Corriedale	41,5±9,8	61,5±17,1	51,5±17,2	
	Hampshire	38,5±6,2	64,3±9,2	51,4±15,1	
	Romney Marsh	49,8±12,5	77,5±40,1	63,6±32,8	
Primer Ciclo Regular	Criolla	34,0±12,1	43,8±11,4	38,9±12,7	0.658
	Corriedale	49,5±26,3	86,3±27,7	67,9±32,7	
	Hampshire	38,8±15,4	65,3±26,0	52,0±25,1	
	Romney Marsh	35,3±11,8	76,8±39,9	56,0±36,0	
Inicio de la Ciclicidad	Criolla	31,5±9,8	38,8±14,3	35,1±12,5	0.091
	Corriedale	55,5±24,8	92,5±28,2	74,0±34,6	
	Hampshire	46,3±28,3	78,8±24,9	62,5±33,3	
	Romney Marsh	56,3±35,7	81,8±40,3	69,0±42,92	
Primer Estro Observado		41,9±10,8 ^a	63,1±24,8 ^b	52,5±21,8	0.0146
Primer Ciclo Regular		39,4±18,5 ^a	68,0 ±32,3 ^b	53,7±29,9	0.006
Inicio de la Ciclicidad		47,4±28,2 ^a	72,9±34,9 ^b	60,2±34,7	0.031

▪ **Primer ciclo regular**

La presentación del primer ciclo regular (14-20 días de duración) fue alrededor de los 38,88±12,72 días en las ovejas Criollas; 56,00±35,99 días en la Romney Marsh, 52,00±25,10 días en la raza Hampshire y 67,88±32,68 días en la raza Corriedale. Tabla 2-3. Existe un efecto significativo en la presentación del primer ciclo regular influenciado por el tipo de parto con un $P=0.006$ y aunque no se evidencian diferencias significativas de la interacción tipo racial*tipo de parto ($P=0.658$), los resultados demuestran que las ovejas con parto simple presentan un menor intervalo de tiempo el primer ciclo regular.

- **Inicio de la ciclicidad**

El 100% de las ovejas mostraron reanudación de la ciclicidad durante el seguimiento (32/32). No se encontró diferencias significativas en el modelo en general ($P= 0.108$). El restablecimiento de la actividad ovárica posparto se presentó antes del día $35,12\pm 12,51$ en la raza criolla, mientras que Corriedale fue al $74,00\pm 34,59$ días. Las razas Hampshire y Romney presentaron un intervalo de $62,56\pm 33,35$ días y $69,00\pm 42,94$ días respectivamente. Tabla 2-3.

Al evaluar la interacción tipo de parto*tipo racial no se encontró efecto significativo ($P=0.793$). Al analizar de forma independiente se evidencia que el tipo de parto es altamente significativo con un $P= 0.031$ y la raza muestra una tendencia con un $P= 0.091$. Tabla 2-3.

2.8.4. Relación de la reactivación y reanudación de la actividad ovárica con la condición corporal y peso

- **Condición corporal**

Los valores de condición corporal estuvieron con extremos individuales de 2.0 y 4.0. Se encontró una disminución de la condición corporal posparto (nadir) promedio al día 21 ± 8 . (Figura 2-12 y 2-13).

La recuperación de la CC de las ovejas empezó desde el día 21 para los tipos raciales Romney Marsh y Criolla, a partir del día 54 posparto para el grupo Hampshire y la última en recuperarse corresponden a las hembras Corriedale. Se evidencia que el aumento en la escala de CC se inicia a partir del día 25 posparto.

Con respecto al tipo de parto, las hembras con parto simple presentan un puntaje levemente mayor en la escala de calificación de condición corporal durante la reanudación de la ciclicidad mostrando un comportamiento similar.

Figura 2-10 Evolución de la condición corporal durante el posparto según el tipo racial

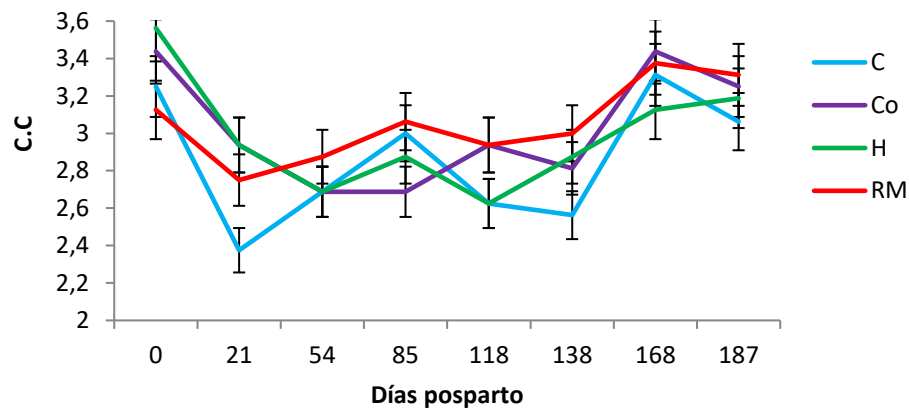
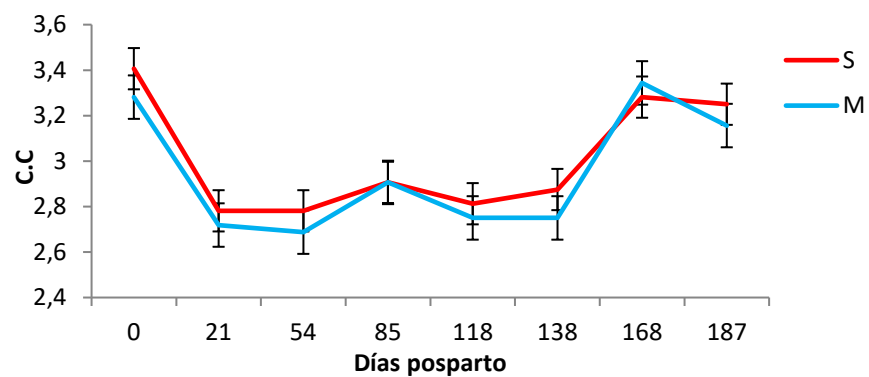


Figura 2-11 Evolución de la condición corporal durante el posparto según el tipo de parto



▪ **Peso**

La pérdida de peso durante el postparto se presentó alrededor de los 21 días, esta disminución se le atribuye a la demanda energética de la lactancia por la demanda de la o las crías.

Figura 2-12 Evolución del peso vivo durante el posparto según el tipo racial

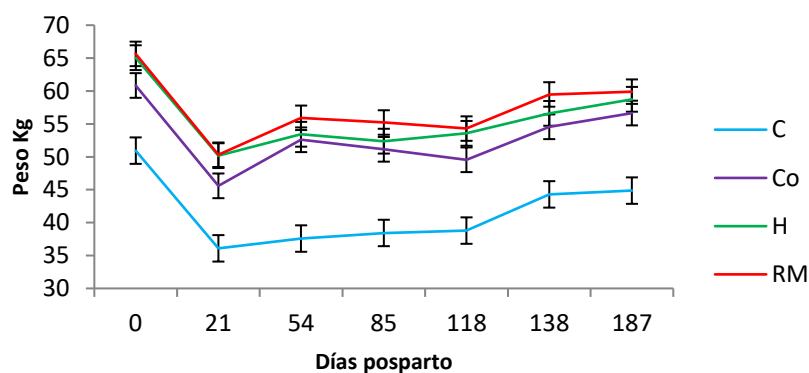
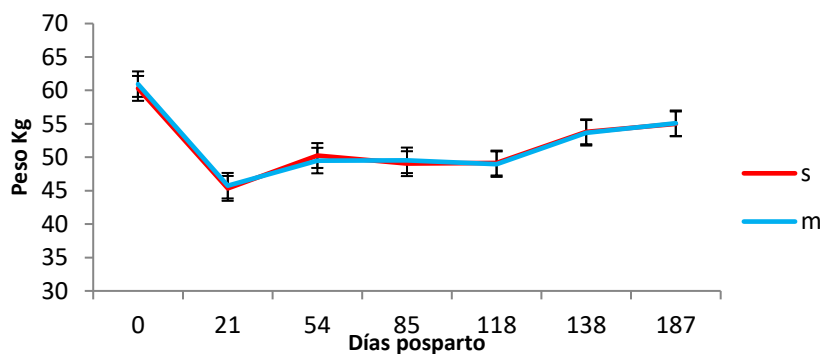


Figura 2-13 Evolución del peso vivo durante el posparto según el tipo de parto



2.9. Discusión

En la presente investigación se encontró que el primer incremento de P_4 sucedió en promedio a los $31,8 \pm 14,1$ días posparto y la primera ovulación a los $28,4 \pm 13,7$ días. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas por los factores evaluados (tipo racial y tipo de parto) por lo que se puede decir que no afecta el tiempo de reactivación ovárica. Los resultados son comparables con investigaciones realizadas en época reproductiva y ovejas tipo lana, reportando un intervalo para la primera ovulación de 22.3 ± 1.1 días (Sharpe et al, 1986), 26 ± 2 días (Schirar et al, 1989) y 23.4 ± 1.4 días (Quirke et al, 1983). EL estudio de Santiago-Moreno et al (2000) reporta 25.0 ± 1.8 días posparto en razas nativas, semejante al tiempo de reactivación presentado en la raza Criolla colombiana ($24,8 \pm 10,0$ días) y la raza Hampshire ($23,8 \pm 14,1$ días). La investigación de Ungerfeld y Rubianes (1999) en ovejas Corriedale en Uruguay, indican que el tiempo de reactivación es de $30,0 \pm 4,3$ días y Nicolo (2006) demostró que las ovejas Romney Marsh con parto simple, se reactivan alrededor de los $31,0 \pm 1,2$ días posparto en condiciones similares a la del presente trabajo. Diversas investigaciones en la hembra ovina sujetas a condiciones de época reproductiva, demuestran que el primer incremento de progesterona se presenta antes del día 35 y lo clasifican como reactivación ovárica temprana (Bartlewski et al 1999a; Castillo y Maldonado 2013; Hayder y Ali 2008; Santiago-Moreno et al 2000; Sharpe et al 1986), lo cual coincide con los resultados obtenidos en este ensayo experimental evidenciando que existen factores intrínsecos al animal (tipo de parto) y/o al grupo racial que influyen en el tipo de actividad ovárica durante la reanudación de la ciclicidad posparto.

Según Lauderdale et al (1986), los CL de corta vida se presentan en un 70% de las ovejas durante el posparto, con fases luteas de 2 a 4 días, posteriormente (25 días) se presentaría la subsecuente reanudación de la actividad ovárica cíclica. La fase lutea corta previo a la reanudación de la actividad ovárica es comparable con lo reportado por Abi Salloum y Claus (2005) con una duración de $5,3 \pm 0,6$ días y Pearce et al (1985) quienes reportan un rango de 5 a 6 días. Pearce et al (1985) demostró que los CL con duración normal presentan niveles de P_4 dentro del rango 1,5 a 2,0 ng/ml, similar a lo obtenido en el presente ensayo, igualmente reportó que la concentración media de progesterona es menor para el CL de corta vida debido al menor tamaño.

La capacidad de esteroidogénesis del CL corto es limitada debido a la baja secreción de P_4 , posiblemente por la angiogénesis defectuosa (Álvarez-Rodríguez et al 2009) con la limitada capacidad de esteroideogénesis; la cual depende de la proliferación de las células de la granulosa y de la teca que se diferencian en células luteales grandes y pequeñas, respectivamente. El reciente estudio de Jiang et al., (2016), describe cambios ultraestructurales del CL durante las etapas del ciclo estral, describe que la angiogénesis está presente en la fase lutea temprana del desarrollo del CL con las expresiones de los factores de crecimiento endotelio vascular (VEGF); y en la fase lutea media y tardía lo conforman únicamente células endoteliales maduras. Igualmente demostró que las células lúteales grandes tienen mayor capacidad esteroideogénica posiblemente porque contienen canales que facilitan el suministro de lipoproteínas. Adicionalmente las células luteas grandes tienen mayor eficiencia en el retículo endoplasmático útil para el almacenamiento, transporte del colesterol y hidroxilación final de la síntesis de progesterona. Y por último contienen más mitocondrias que podrían considerarse precursores en el proceso para mejorar la actividad esteroideogénica sobretodo en la fase lutea temprana. Basados en estos indicios se sugiere para que las próximas investigaciones incluyan morfohistología estructural ovárica en la especie ovina.

Investigaciones de Bartlewski et al (1999a) demuestran que el inicio de la ciclicidad posparto es precedida generalmente por la formación de CL de corta vida. Las concentraciones circulantes de P_4 previas no alteran el crecimiento folicular, pero son indispensables para la inducción del pico preovulatorio de LH, el comportamiento estral y la prevención de la luteolisis prematura. ¿Pero cómo los niveles de P_4 , del CL de corta vida, pueden inducir la liberación de GnRH? Mucho se ha especulado sobre la acción de la progesterona secretada por ese CL corto, posiblemente esta hormona altera el umbral de sensibilidad causada por los bajos niveles de E_2 a nivel hipotalámico, debido al aumento en el número de receptores de E_2 indicando efecto de acción neural; las pequeñas cantidades de estradiol secretadas por los folículos son capaces de reestablecer el sistema de retroalimentación positiva induciendo el pico pre-ovulatorio de GnRH/LH. Adicionalmente la progesterona de la fase lutea corta regula la secreción de $PGF_2\alpha$ a nivel uterino, lo que sugiere que la presencia de P_4 en los primeros ciclos juegue un rol crítico

en impedir el mecanismo responsable de la luteólisis avanzada como episodio de pre-exposición mínima durante un tiempo suficiente para garantizar la duración normal del siguiente ciclo estral. Con lo anterior, la presencia de un CL corto permite una subsecuente fase lútea normal (Bartlewski et al 1999a; Rodríguez Iglesias et al 2013) y se sugiere que la presentación de CL previo a las siguientes ovulaciones es indicativo de una buena eficiencia reproductiva.

Varias investigaciones informan la acción de los opioides en la traducción de los efectos inhibidores sobre la secreción de GnRH y la inhibición del pico preovulatorio de LH, afectando la producción de progesterona debido a que muchos de estos efectos son mediados por la enzima 3β hidroxisteroide desodrogenasa (HSD) esencial para la biosíntesis de estrógenos y progesterona (Pedrana et al., 2016). Igualmente, la involución uterina juega un papel importante en la reactivación; pues Rodríguez-Piñón et al., (2000) concluyen que al día 30 posparto se expresan más receptores de E_2 y P_4 a nivel uterino y del cérvix, asociándolos con la reanudación de la actividad ovárica en hembras Corriedale.

Los niveles de progesterona cuantificados estuvieron dentro del rango de 0,2- 3,5ng/ml, lo que concuerdan con los reportes de la literatura en las ovejas evaluadas en latitudes similares (Araujo et al 2009) y/o bajo época reproductiva Bartlewski et al 2000. Sobre la base del muestreo utilizado para los perfiles de P_4 , se puede inferir que el rebaño estudiado tiene las características de reproducirse en cualquier época del año representado en la ciclicidad regular durante el periodo evaluado (Normal tipo 1a y1b). Figura 2-5 y Figura 2-6 respectivamente, corroborando un bajo o inexistente grado de estacionalidad reproductiva en condiciones de trópico (Lozano 2014; Rosa y Bryant 2002). Sin embargo, existen diferencias intrínsecas dentro de los grupos raciales Tabla 2-3.

El tipo de actividad ovárica clasificada como normal media (tipo 1b) evidencian la acción de la P_4 en los primeros ciclos cortos como episodio de pre-exposición mínima suficiente para garantizar la normalidad de la regularidad del ciclo estral. Skinner et al (2000) demostró que la amplitud de los niveles de progesterona durante la fase lútea tienen efectos significativos en la inducción del pico de LH; considerando que la P_4 actúa de forma compleja, no solo con presencia o ausencia, sino que las concentraciones modulan

la liberación de GnRH y permiten que respondan a los estrógenos. Los hallazgos en esta investigación permiten afirmar que la pre exposición mínima de P_4 está relacionada con la fertilidad, pues la ausencia de este episodio retrasaría la presentación del pico de LH y por lo tanto hay falta de maduración folicular, retraso en la ovulación, fallas en la fertilización, inadecuada función luteal y a nivel uterino afectaría la implantación.

Los tipos de actividad ovárica 3 y 4 muestran un modelo que se puede considerar como de baja eficiencia reproductiva en el periodo posparto y puede asociarse a problemas de adaptación debido a que fisiológicamente un perfil de P_4 inadecuado conduce a alteración de la dinámica folicular ovárica y pobre desempeño reproductivo (Fierro et al., 2011). No obstante, en las razas estudiadas no se considera un periodo de anestro estacional como tal, ya que es de corta duración en algunos casos y durante el mismo no todas las hembras dejan de ciclar. Autores señalan que razas adaptadas a condiciones tropicales, generalmente no son estacionales, aunque algunas pueden exhibir estacionalidad débil o marcada en la reproducción como en este caso la Corriedale e incluso la Romney Marsh. Las hembras de estas razas ovulan y presentan comportamiento estral casi todo el año, a pesar de que algunas exhiben cortos períodos de anovulación y anestro (Lozano 2014). Las razas originadas en altas latitudes y climas fríos tienden a tener época restringida para la reproducción a diferencia de aquellas de origen o adaptadas cerca al trópico. Con lo anterior, el fotoperiodo es generalmente aceptado como la principal señal ambiental que influye en la actividad reproductiva de la hembra ovina, demostrando claramente que existe una base genética de sensibilidad al mismo.

En Colombia la selección genética por varias décadas ha permitido producir razas ovinas adaptadas al trópico que posiblemente son capaces de reproducirse durante todo el año, pero pueden presentar una importante variación racial en la reanudación de la actividad ovárica posparto. Por ejemplo, Goff et al (2013) demostró en condiciones ecuatoriales, donde la duración de la intensidad lumínica está alrededor de 12 horas diarias con temperatura moderada, las razas ovinas europeas como la Suffolk puede mostrar intervalos irregulares en la actividad ovárica sin evidencia clara de anestro estacional.

La primera ovulación generalmente comprende estros silenciosos, lo que puede estar asociado a CL de corta vida presentes durante el periodo posparto. La segunda y tercera ovulación generalmente presenta signos de estro. Los resultados similares fueron reportados por Quirke et al (1983), donde el primer estro observado corresponde a la segunda o tercera ovulación en tres razas tipo lana con un promedio de 51.1 ± 2.4 días; particularmente reportaron un intervalo de 53.0 ± 3.4 días en la raza Rambouillet 51.0 ± 2.7 días en la Dorset y 49.7 ± 5.9 días en Finnish Landrace semejante a las razas evaluadas en este ensayo. Nicolo et al., (2006) indica un rango de 68 a 73 días en la presentación del primer ciclo regular capaz de mantener una preñez en hembras Romney Marsh. Rodríguez Iglesias et al (2013) reporta un intervalo primer estro regular a los 45.00 ± 3.87 días mientras que Hashem et al (2011) reportan 61,3 días para ejercer el primer estro posparto resultados semejantes a los obtenidos en este ensayo experimental. Fase luteas con niveles de progesterona de amplitud y duración adecuada son necesarias para la reproducción exitosa, capaz de mantener una preñez.

En cuanto a la lactancia son muchas las investigaciones realizadas evaluando tiempos de destete (temprano o tardío) y amamantamiento controlado. Algunas investigaciones concluyen que el destete tardío no influye en la reactivación ovárica posparto (Hashem et al 2011; Rosa et al 2007; Álvarez-Rodríguez et al 2009), resultados similares a lo encontrado en este estudio, puesto que la reactivación ovárica se presentó a los $28,4 \pm 13,7$ días en general y la aplicación del destete se llevó a cabo hasta los 74 días en promedio. Por lo tanto, se puede concluir que el retraso del destete puede ser útil para aumentar el peso del cordero sin afectar el comportamiento reproductivo en la oveja. Sin embargo, otros estudios demuestran que el destete temprano influye en el tiempo de reactivación ovárica presentándose con intervalos más cortos ($26,55 \pm 3,25$ días) a diferencia del amamantamiento continuo ($38,0 \pm 3,59$ días), en ovejas no estacionales y condiciones de trópico (Ascari et al., 2013).

Esta investigación mostró una disminución significativa en el puntaje de condición corporal (CC) evidenciándose por debajo de 2,5 puntos (escala 1 a 5) y disminución del peso durante el posparto (Figura 2-11- 2-14), principalmente en el primer mes mostrando un balance energético negativo (BEN). Investigaciones de (Araujo et al 2009) reportan que el pico de la lactancia se da entre dos a tres semanas posparto, por lo que el peso y la

condición se ven disminuidas justo durante ese periodo; debido a las demandas de nutrientes como soporte esencial para la producción de leche, mantenimiento de la cría y una rápida reactivación ovárica posparto. La CC influye en el rendimiento de la lactancia, la supervivencia y el crecimiento de los corderos al destete (Hayder y Ali 2008; Hossamo et al, 1986; Everett-Hincks y Dodds, 2009; Thompson et al., 2011) indicando que cuando no hay disponibilidad de forraje de buena calidad, las ovejas tienen que recurrir a las reservas corporales para asegurar adecuada producción de leche; por lo que un consumo de nutrientes por debajo de las necesidades nutricionales predispone a que aquellas ovejas con mayor índice de reservas corporales a tener mejor capacidad de amortiguar el déficit nutricional y lograr mayor rendimiento si se comparan con hembras de pobre CC. Hernández et al (2009) igualmente resalta la importancia de la nutrición adecuada durante el período posparto para evitar que se prolongue el anestro.

La recuperación de la CC de las ovejas empezó hacia el día 25 en los tipos raciales Criolla y Romney Marsh, hacia el día 54 en la Hampshire y la última en recuperarse corresponde al grupo Corriedale. De acuerdo a los resultados, la recuperación de la condición corporal estuvo relacionada con la reanudación de la actividad ovárica, la presentación del primer ciclo regular y la presentación del primer estro observado; estos resultados concuerdan con la revisión donde resaltan que un alto puntaje de CC como indicativo de reservas corporales puede permitir superar el anestro y recuperar la ovárica posparto (Álvarez-Rodríguez et al 2009). Cabe destacar que el experimento procuró mantener los niveles nutricionales adecuados para evaluar el estado fisiológico durante el posparto Figura 2-10 y 2-11 aunque exista la posibilidad que para el grupo Corriedale no se haya controlado de la manera correcta, por lo que se ve afectada la recuperación de CC y con está la reanudación de la actividad ovárica posparto. Al comparar estos resultados con la literatura se ha reportado por Araujo et al (2009) que la CC aumenta al día 56 posparto cuando se suplementa y fisiológicamente la hembra empieza a almacenar reservas energéticas, de igual manera Álvarez-Rodríguez et al (2009) reportan que la recuperación de la condición corporal se dio alrededor del día 54 posparto.

Los resultados evidencian la disminución del peso durante el primer mes posparto. Figura 2-13; resaltando que la hembra criolla tiene mayor capacidad para amortiguar un balance energético negativo y responder a procesos adaptativos evidenciados en una mejor respuesta reproductiva. En contraste, los tipos de actividad ovárica tipo 3 y 4 presentes en los biotipos raciales de las hembras foráneas podrían sugerir que estas requieren una mayor disponibilidad de forraje puesto que demandan grandes exigencias para la lactancia y mantenimiento. Resultados similares a los reportados por Ungerfeld, y Sanchez (2012), con un 24,4 % de hembras Corriedale que no mostraron perfiles de progesterona durante los 65 días posparto bajo época reproductiva; afirmando que en esta raza se ve ampliamente afectada la respuesta reproductiva como consecuencia del bajo peso corporal durante el periodo. Respecto a las condiciones ambientales y época de año, las concentraciones de progesterona plasmática muestran periodo de anestro en los meses de junio y julio que pueden estar asociados a la menor disponibilidad de alimento y recuperación energética influyendo en la estacionalidad reproductiva en esta latitud (Lozano 2014).

El incremento en el peso después de los 21 días posparto en los grupos de parto simple y múltiple se comportó de manera semejante al reporte de Nicolo et al (2006) evaluando ovejas Romney Marsh las cuales no presentaron diferencias significativas en el peso y la condición corporal de acuerdo al tipo de parto (simple y doble). A los 21 días reportan pesos de 51.9 ± 0.6 kg y 53.9 ± 0.6 kg y a los 73 días posparto 54.4 ± 1.1 kg y 51.0 ± 2.7 kg respectivamente, resultados semejantes a los obtenidos en nuestro experimento en la misma raza y bajo condiciones de trópico alto Colombiano.

La pronta reanudación de la ciclicidad ovárica posparto es un punto definitivo, pues entre mayor sea el tiempo de recuperación ovárica más se afectará negativamente las tasas de concepción debido a que habrá disfunción de los cuerpos lúteos subsecuentes y por lo tanto un mayor intervalo parto- concepción.

2.10 Conclusiones

El tiempo de reactivación ovárica posparto (IPP₄) fue de 31,8±14,1 días en promedio sin presentar diferencias significativas dentro de los grupos evaluados. El 78,13% (n25) de las ovejas reasumen la actividad ovárica posparto antes del día 35, evidenciándose que el tipo de parto múltiple retrasa y afecta la reanudación.

El tipo de parto (simple o múltiple) influye en la reanudación de la ciclicidad ovárica posparto. Las variables respuestas más influenciadas corresponden a los intervalos: Parto primer ciclo regular, Primer estro observado e Inicio de la Ciclicidad. Con lo anterior se confirma la hipótesis de que en las hembras múltiparas se retrasa la actividad reproductiva, sobre todo en las razas Romney Marsh y Corriedale.

La raza Criolla presentó un 87,5% de reanudación ovárica clasificada como normal tipo 1 representando un eficiente desempeño en la recuperación ovárica temprana. El grupo Corriedale presentó un 25% de perfiles clasificados como anovulaciones prolongadas (tipo 4) y presentando mayor heterogeneidad en las variables de reanudación ovárica posparto.

La clasificación de la actividad ovárica posparto permitió establecer que la raza Criolla presentó una recuperación ovárica temprana, constante y cíclica con una mayor proporción en la clasificada como normal tipo 1. El grupo de la raza Hampshire mostro un aceptable desempeño respecto a la reactivación ovárica posparto representada en actividades normal tipo 1 y media tipo 2. Los grupos de la Corriedale y Romney Marsh presentaron un menor desempeño en la recuperación ovárica presentando perfiles de cesación de la ciclicidad (tipo 3) e incluso anovulaciones prolongadas (tipo4).

El tipo de parto múltiple retrasa el tiempo de reanudación de la ciclicidad, mostrando una mayor proporción de ovejas con actividad ovárica media (tipo2). Ninguna de las ovejas de este grupo inicio su recuperación ovárica con ciclos regulares antes del día 35 (normal alta tipo 1- a) y se presentó el total de anovulaciones prolongadas (tipo 4).

En el 68,7% de las ovejas presentaron cuerpo luteos de corta vida posterior a la primera ovulación posparto, con una duración de $5,3 \pm 0,6$ días. La presentación del primer ciclo corto promueve en la mayoría de animales, estabilizar su ciclicidad posterior y presentar un tipo de reactivación ovárica normal clasificada como normal media (Tipo 1-b).

La condición corporal y el peso en los animales disminuyó luego del parto alcanzando un nadir al día 21 ± 8 , posteriormente al mes posparto se evidencio la recuperación de la CC lo que facilito la reanudación de la actividad ovárica posparto.

La identificación de estos patrones fisiológicos en estos genotipos en particular, es una base de información importante que sirve como punto de partida para nuevas investigaciones que permitan ampliar el conocimiento de los factores que afectan el periodo de restablecimiento de la actividad ovárica posparto en el trópico alto colombiano. Se requiere que los próximos estudios incluyan dinámica folicular, seguimiento de la ovulación y evaluación del cuerpo luteo (volumen y tamaño) para así pode relacionar los hallazgos con la dinámica hormonal.

2.11.Referencias

- 1) 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.
- 2) Abi Salloum B, Claus R. 2005. Interaction between lactation, photoperiodism and male effect in German Merino ewes. *Theriogenology* 63(8):2181-2193.
- 3) Alcaraz Romero RA, Quintal Franco JA, Hernandez Sánchez D, Sánchez Torres T, Villagómez Amezcua E, Ramon Ugalde J, Baeza Rodríguez J, Bores Quintero R, Cantón Castillo JG. 2012. Ovarian activity in F1 prepubertal ewe lambs under tropical conditions. *Livestock Science* 143(1):24-28.
- 4) Araujo RC, Pires AV, Susin I, Mendes CQ, Rodrigues GH, Urano FS, Ribeiro MF, Oliveira CA, Viau P, Day ML. 2009. Postpartum ovarian activity of Santa Inês lactating ewes fed diets containing soybean hulls as a replacement for coastcross (*Cynodon* sp.) hay. *Small Ruminant Research* 81(2–3):126-131.
- 5) Ascari IJ, Alves AC, Pérez JRO, Lima RR, Garcia IFF, Nogueira GP, Junqueira FB, Castro TR, Aziani WLB, Alves NG. 2013. Nursing regimens: Effects on body condition, return to postpartum ovarian cyclicity in Santa Ines ewes, and performance of lambs. *Animal Reproduction Science* 140(3–4):153-163.

- 6) Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. 1999a. Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. *Animal Reproduction Science* 57(1–2):67-88.
- 7) Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. 1999b. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Animal Reproduction Science* 57(1–2):51-66.
- 8) Bartlewski PM, Vanderpol J, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC. 2000. Ovarian antral follicular dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins and ovarian steroids in anoestrous Finnish Landrace ewes. *Animal Reproduction Science* 58(3–4):273-291.
- 9) CASTILLO-MALDONADO PPea. 2013. Restablecimiento de la actividad reproductiva posparto en ovejas de pelo. *Arch. zootec.* [online].ISSN 0004-0592. <http://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922013000300010>.
- 10) Chemineau P. 2004. Seasonal ovulatory activity exists in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a temperate photoperiod. In: Agnès Daveau YC, Gilles Aumont, and, Chesneau D, editors. *BMC Physiology*.
- 11) Christensen ACM, Haresign W, Khalid M. 2012. Progesterone exposure of the preovulatory follicle in the seasonally anestrous ewe alters the expression of angiogenic growth factors in the early corpus luteum. *Theriogenology* 77(8):1648-1660.
- 12) Ciechanowska M, Łapot M, Mateusiak K, Przekop F. 2010. Neuroendocrine regulation of GnRH release and expression of GnRH and GnRH receptor genes in the hypothalamus-pituitary unit in different physiological states. *Reproductive Biology* 10(2):85-124.
- 13) Clarke IJ, Pompolo S. 2005. Synthesis and secretion of GnRH. *Animal Reproduction Science* 88(1–2):29-55.
- 14) Corner-Thomas RA, Back PJ, Kenyon PR, Hickson RE, Ridler AL, Stafford KJ, Morris ST. 2015a. Ad libitum Pasture Feeding in Late Pregnancy Does Not Improve the Performance of Twin-bearing Ewes and Their Lambs. *Asian Australas. J. Anim. Sci* 28(3):360-368.
- 15) Corner-Thomas RA, Ridler AL, Morris ST, Kenyon PR. 2015b. Ewe lamb live weight and body condition scores affect reproductive rates in commercial flocks. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 58(1):26-34.
- 16) deNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH. 2006. Effect of weaning pre- or post-mating on performance of spring-mated ewes and their lambs in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 49(3):255-260.
- 17) deNicolo G, Parkinson TJ, Kenyon PR, Morel PCH, Morris ST. 2009. Plasma progesterone concentrations during early pregnancy in spring- and autumn-bred ewes. *Animal Reproduction Science* 111(2–4):279-288.
- 18) Goff KJ, Knight JW, Pelzer KD, Akers RM, Notter DR. 2013. Circannual changes in progesterone secretion in intact ewes, luteinizing hormone secretion in ovariectomized estradiol-implanted ewes, and prolactin secretion in three sheep breeds anticipated to differ in seasonality of reproduction. *Animal Reproduction Science* 138(3–4):194-202.
- 19) Grajales H. 1998. Fisiología reproductiva de grupos raciales bovinos en el trópico cálido – húmedo colombiano: pubertad ciclo estral, preñez temprana, posparto, niveles de hormonas esteroideas y su relación con la eficiencia reproductiva. [Bogotá]: Universidad Nacional de Colombia.

-
- 20) H G. 1998. Fisiología reproductiva de grupos raciales bovinos en el trópico cálido – húmedo colombiano: pubertad ciclo estral, preñez temprana, posparto, niveles de hormonas esteroideas y su relación con la eficiencia reproductiva. [Bogotá]: Universidad Nacional de Colombia.
 - 21) Hadeef A, Miroud K, Kaidi R. 2014. Effects of body condition and anaemia status on postpartum ovarian activity in ewes under two management systems in Algeria. *Livestock Research for Rural Development* 26(12).
 - 22) Hashem NM, El-Zarkouny SZ, Taha TA, Abo-Elezz ZR. 2011. Effect of season, month of parturition and lactation on estrus behavior and ovarian activity in Barki x Rahmani crossbred ewes under subtropical conditions. *Theriogenology* 75(7):1327-1335.
 - 23) Hayder M, Ali A. 2008. Factors affecting the postpartum uterine involution and luteal function of sheep in the subtropics. *Small Ruminant Research* 79(2–3):174-178.
 - 24) Hernández PP, Valdez VMH, Sandoval BF, Hernández GT, Rivera PD, Sánchez JG. 2009. Effect of suckling type on ovarian activity of postpartum Pelibuey ewes, and lamb growing rate during the first 90 days after birth. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia* 19(4):343-349.
 - 25) Hoefler WC, Hallford DM. 1987. Influence of suckling status and type of birth on serum hormone profiles and return to estrus in early-postpartum spring-lambing ewes. *Theriogenology* 27(6):887-895.
 - 26) IDEAM. 2013. Reporte del clima 2013 Febrero - Diciembre. <http://institucional.ideam.gov.co>.
 - 27) Jiang Y-F, Hsu M-C, Cheng C-H, Tsui K-H, Chiu C-H. 2016. Ultrastructural changes of goat corpus luteum during the estrous cycle. *Animal Reproduction Science*.
 - 28) Lauderdale JW. 1986. A review of patterns of change in luteal function. *J Anim Sci.* 2 79-91. PMID: 3533878.
 - 29) Lozano H. 2014. Study of sexual characteristics of male and female sheep under high altitude conditions in Colombia (Thesis PhD). University the Namur, Belgium.
 - 30) Martínez-Rojero RD, Santamaría LR, Hernández GT, Lagunas AAM, Aceves ACM. 2011. Evaluation of fertility and prolificacy in reproductive cycles each eight months during three seasons in pelibuey ewes from the dry Mexican tropic. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia* 21(5):383-387.
 - 31) Mekoya A, Oosting SJ, Fernandez-Rivera S, Tamminga S, Van der Zijpp AJ. 2009. Effect of supplementation of *Sesbania sesban* to lactating ewes on milk yield and growth rate of lambs. *Livestock Science* 121(1):126-131.
 - 32) O'Connell AR, Hurst PR, Davis GH, McNatty KP, Taylor SL, Juengel JL. 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.
 - 33) Opsomer G, Gröhn YT, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. *Theriogenology* 53(4):841-857.
 - 34) Osorio, M. y López, A. M. (1993). Evaluación de parámetros productivos y reproductivos en los cruces de cuatro razas ovinas (Tesis de grado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
 - 35) Pedrana G, Viotti H, Lombide P, Sanguinetti G, Pino C, Cavestany D, Sloboda M and Martin G. 2016. In utero betamethasone affects 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase and inhibin- α immunoexpression during testis development. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, available on CJO2016. doi:10.1017/S2040174416000118

- 36) Pellicer-Rubio M-T, Touzé J-L, Baril G, Malpau B. 2013. The luteal outcome of anoestrus ewes induced to ovulate by the male effect is not related to the population of ovarian antral follicles before male exposure. *Animal Reproduction Science* 137(1–2):23-30.
- 37) Quirke JF, Stabenfeldt GH, Bradford GE. 1983. Resumption of ovarian function in autumn lambing Dorset, Rambouillet and Finnish Landrace ewes. *Theriogenology* 19(2):243-248.
- 38) Rodríguez Iglesias RM, Ciccioli NH, Ferrería J, Pevsner DA, Rosas CA, Rodríguez MM, Pedrueza JR. 2013. Short-lived corpora lutea syndrome in anoestrous ewes following 17 β -oestradiol or MAP treatments applied before an allogenic sexual stimulation with rams and oestrous ewes. *Animal Reproduction Science* 136(4):268-279.
- 39) Ronquillo JCC, Martínez AP, Pérez CMB, Sandoval BF, Martin GB, Valencia J, Gallegos Sánchez J. 2008. Prevention of suckling improves postpartum reproductive responses to hormone treatments in Pelibuey ewes. *Animal Reproduction Science* 107(1–2):85-93.
- 40) Rosa HJD, Bryant MJ. 2002. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small Ruminant Research* 45(1):1-16.
- 41) Rosa HJD, Ventura PFM, Sousa JT, Moreira D, Borba AES, Rego OA. 2007. Productive and reproductive performance of Romney Marsh and Merino Branco sheep in the Azores under different feeding regimens. *Small Ruminant Research* 67(2–3):296-301.
- 42) Santiago-Moreno J, González de Bulnes A, Gómez Brunet A, López Sebastián A. 2000. Effect of season on the resumption of postpartum cyclic ovarian activity in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega sheep (*Ovis aries*). *Small Ruminant Research* 36(1):69-74.
- 43) Schirar A, Meusnier C, Paly J, Levasseur MC, Martinet J. 1989. Resumption of ovarian activity in post-partum ewes: Role of the uterus. *Animal Reproduction Science* 19(1–2):79-89.
- 44) Skinner, D. C., Harris, T. G., & Evans, N. P. (2000). Duration and amplitude of the luteal phase progesterone increment times the estradiol-induced luteinizing hormone surge in ewes. *Biology of reproduction*, 63(4), 1135-1142.
- 45) Sharpe PH, McKibbin PE, Murphy BD, Manns JG. 1986. First postpartum ovulations and corpora lutea in ewes which lamb in the breeding season. *Animal Reproduction Science* 10(1):61-74.
- 46) SIGETEC. 2008. Tecnológica en los Sistemas de Producción de la Cadena Ovino- Caprina para el mejoramiento de su competitividad SIGETEC. Programa de Investigación – Universidad Nacional de Colombia – Universidad de La Salle, Corpoica, ANCO. MADR – Programa Transición de la Agricultura. In: Grajales H, Ospina O, editors.: Desarrollo e implementación de un Sistema de Gestión Bogotá, Enero 2007 –
- 47) Ungerfeld R, Sanchez-Davila F. 2012. Oestrus synchronization in postpartum autumn-lambing ewes: Effect of postpartum time, parity, and early weaning. *Spanish Journal of Agricultural Research* 10(1):62-68.
- 48) Wei S, Gong Z, Dong J, Ouyang X, Wei M, Xie K, Li Q, Zhang F, Sun J. 2012. Effect of a GnRH agonist on the FSH receptors in prepubertal ewes. *Small Ruminant Research* 105(1–3):237-243.

3. Comportamiento sexual, duración y niveles de progesterona durante el ciclo estral en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano

Paola Alvarado- García¹/ Harvey Lozano- Márquez²/Henry A. Grajales-Lombana³

Abstract

The objective of evaluating the sexual behavior, duration progesterone levels during the estrous cycles in ewe (n=32) of four breeds types, after the reestablishment of postpartum ovarian activity. Monitoring in the secretion of progesterone was performed by blood sampling and additionally assessed sexual behavior. The hormonal analysis was assessed with Immunoassay. This experiment used an analysis of variance factorial structure and repeated measures using the statistical program SAS 2011. A total of 242 estrous were evaluated. The detection rate was 64,88%. The results showed 60.6% of regular estrous cycles, 34.2% of short cycles and 5,3 % of long cycles; the high presentation of irregular cycles corresponds to females of breeds types Corriedale and Romney Marsh being a factor that influences the reproductive performance. Regular estrous cycle length averaged

¹ Médica veterinaria, MSc. en Producción Animal. Programa de posgrados, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. paalvaradog@unal.edu.co

² Médico veterinario. MSc. en Reproducción Animal. PhD en Reproducción Animal. Profesor asociado, Departamento de Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. hlozanoma@unal.edu.co

³ Zootecnista, MSc, PhD. Ciencias Veterinarias. Profesor asociado, Departamento de Ciencias para la Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. hagrajalesl@unal.edu.co

16,8±0,89 days. The group Romney had levels of progesterone at 1,82±0,58 ng/ml during the early luteal phase, being low in reference to that expressed by females Creole 2,18 ±0,55 ng/ml. In the middle luteal phase, the levels remained high and constant in all groups (2,75±0,57 ng/ml). The Corriedale and Romney groups presented lower levels of P₄ during the late phase lutea (2,36 ±0,86 ng/ml) than in the Creole and Hampshire females (2,84±0,64 ng/ml), suggesting a lower capacity of activity luteal as factor of modulation of the estrous cycle and endocrine model that determine the reproductive efficiency.

Keywords:

Estrous cycle, detection of estrus, progesterone profiles, ewe, tropic high.

Resumen

El objetivo fue evaluar la expresión sexual, duración y niveles de progesterona durante el ciclo estral en ovejas adultas (n=32) de cuatro tipos raciales a partir del inicio de la ciclicidad posparto. El monitoreo de la secreción de progesterona se realizó mediante muestreo sanguíneo y adicionalmente se evaluó el comportamiento sexual. El análisis hormonal se valoró mediante la técnica de enzimo-inmuno análisis. El análisis estadístico usó un modelo unifactorial y medidas repetidas en el tiempo (SAS 2011). Un total de 242 estros fueron analizados. El porcentaje de detección fue de 64,88 %. Los resultados evidenciaron el 60,6 % de ciclos estrales regulares, 34,2% de ciclos cortos y 5,3 % a ciclos largos; la mayor presentación de ciclos irregulares corresponde a las hembras Romney y Corriedale, siendo un factor que influye en el desempeño reproductivo. El promedio de duración del ciclo estral regular fue de 16,8±0,89 días. El grupo Romney presenta niveles de progesterona en 1,82±0,58 ng/ml durante la fase luteal temprana, siendo bajos en referencia a lo expresado por las Criollas 2,18 ±0,55 ng/ml. En la fase luteal media los niveles se mantienen altos y constantes en todos los grupos (2,75±0,57 ng/ml). Las hembras Corriedale y Romney presentaron menores niveles de P₄ en la fase luteal tardía (2,36 ±0,86 ng/ml) en contraste con lo presentado por las Criollas y Hampshire (2,84±0,64 ng/ml), lo que sugiere una menor capacidad de actividad luteal como factor de modulación del ciclo estral y del modelo endocrino que determinan la eficiencia reproductiva.

Palabras claves:

Ciclo estral, detección de estro, progesterona, hembra ovina, trópico alto.

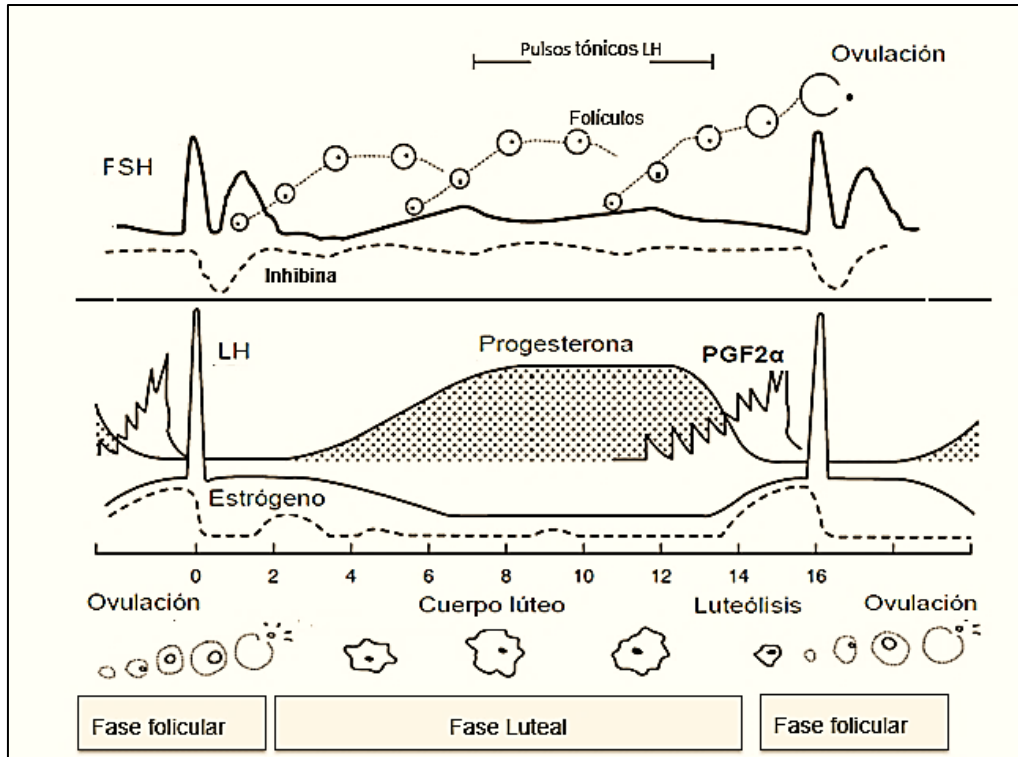
3.1. Introducción

El ciclo estral es definido como el periodo comprendido entre la aparición de un estro fisiológico y el comienzo del siguiente, constituyendo un punto importante para maximizar la fertilidad en las ovejas (Bartlewski et al., 2011); este evento se caracteriza por presentarse de manera rítmica y tiene una duración de 17 días en promedio (Bartlewski et al., 2011; Bartlewski et al., 2016; Rodríguez Iglesias et al., 2013). Alrededor del 77% de las hembras ovinas adultas cíclicas presentan ciclos estrales regulares (14 a 20 días de duración), el 14% presentan ciclos cortos (8 a 13 días) y el 9% ciclos largos (>20 días) (Lozano 2015; Rodríguez Iglesias et al., 2013), evidenciándose diferencias por raza, estacionalidad y edad (Bartlewski et al., 2011; Rodríguez Iglesias et al., 2013).

Tradicionalmente el ciclo estral está dividido en dos fases: la fase folicular de 2 a 3 días y la fase lútea de 12 a 14 días de duración (Fatet et al., 2011; Stouffer y Hennebold 2015). La diferenciación entre estas fases está dada por la ovulación [Figura 3-1]. La fase folicular (proestro y estro) es el período que involucra la receptividad al macho hasta la ovulación, se caracteriza por el aumento en la concentración de estrógenos (E2) (Bartlewski et al., 2011; Skinner et al., 2000). La fase lútea (metaestro y diestro) es el periodo donde se forma el cuerpo lúteo (CL), considerado como una glándula endocrina transitoria que secreta progesterona (P₄), y culmina con la luteólisis (Sangha et al. 2002).

La progesterona es el esteroide ovárico más importante durante la vida productiva de la oveja y es fundamental para regular el ciclo estral (Bartlewski et al., 2016; Gonzalez-Bulnes et al., 2004; Stouffer y Hennebold 2015). La presencia de altas concentraciones de P₄ reduce los pulsos de GnRH a nivel hipotalámico (Rodríguez Iglesias et al., 2013). Durante la fase folicular, se inicia una disminución de las concentraciones de P₄ posterior a la luteólisis, caracterizándose por el aumento de las gonadotropinas y la secreción de estrógenos (Caraty et al., 2002; Gonzalez-Bulnes et al., 2004; Skinner et al., 2000).

Figura 3-1 Esquema de la dinámica hormonal durante las fases del ciclo estral



Esquema de la fisiología durante el ciclo estral de la oveja: Incluye dinámica folicular, ciclo ovárico y endocrino. Modificado de (Fatet et al., 2011; Stouffer and Hennebold 2015)

El aumento en la circulación de E_2 durante el proestro, induce el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH) (Stouffer y Hennebold 2015), causado por el continuo y frecuente aumento de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) (Gonzalez-Bulnes and others 2004). Se ha demostrado que la P_4 tienen efectos reguladores sobre el aumento y frecuencia de los pulsos de la LH (Bartlewski et al., 2016) y posiblemente también tenga efectos centrales a largo plazo (Bartlewski et al., 2016; Rodríguez Iglesias et al., 2013), vinculados al comportamiento sexual mediante un sistema de pre-exposición para la expresión de estrógenos (Caraty et al., 2002). El comportamiento sexual dura entre 24 a 36 horas (Fabre-Nys y Gelez 2007) y el porcentaje de detección de calores está dentro del rango de 60 a 90% en las ovejas cíclicas (Araujo et al., 2009; deNicolo et al., 2006). La expresión del estro está influenciada por factores ambientales, nutricionales, interacciones

sociales, estrés, genética y las concentraciones de progesterona (Moonmanee y Yammuen-art 2015; van Lier y others 2003).

El ciclo estral en la hembra ovina es dependiente del útero; puesto que la exposición del endometrio a la progesterona durante el diestro, no solamente prepara al útero para el establecimiento de la preñez (Costine et al., 2007), sino que también activa el mecanismo para la producción endometrial de la PgF2 α luteolítica en el momento que la preñez no sea establecida (14 días del ciclo estral) (Costine et al., 2007; O'Connell et al., 2013). La PGF2 α inicia la luteólisis funcional que consiste en la pérdida de la capacidad de sintetizar P₄ y luteólisis estructural que se completa con la involución del CL (Fatet et al., 2011; Rodríguez Iglesias et al., 2013).

3.2. Hipótesis

El comportamiento sexual y los perfiles de Progesterona se ven afectados por el tipo racial

3.3. Objetivo

EL objetivo de este estudio fue evaluar la expresión de calores, la duración y niveles de progesterona durante el ciclo estral en cuatro tipos raciales ovinos, bajo condiciones de trópico alto colombiano, a partir del reinicio de la ciclicidad posparto.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Localización

El experimento se desarrolló en El Centro de Investigación, Desarrollo Tecnológico y Extensión Ovino (CIDTEO), ubicado en el Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia en Mosquera Cundinamarca, a 4° 42' de latitud norte y 74° 12' de longitud oeste, altitud de 2650 msnm temperatura variable entre 6,4° C y 20,9° C, humedad relativa de 80% a 87% y la precipitación oscilo entre 21,5 mm y 104 mm (en época de sequía o lluvia respectivamente). La intensidad lumínica se mantuvo constante durante el

periodo, encontrando una variación menor a 0,5 horas/día (IDEAM 2013). Gráfica variables ambientales 2-1.

3.4.2. Diseño experimental

▪ Animales experimentales y manejo

Treinta y dos ovejas adultas fueron seleccionadas para el experimento; las cuales completaban entre 2 a 3 partos y estaban clínicamente sanas. Ocho animales conformaron cada biotipo racial (Criolla Colombiana, Romney Marsh, Hampshire y Corriedale). El seguimiento completo de la investigación se realizó desde el momento del parto (primera temporada de partos del año) comprendiendo los experimentos: 1. reactivación y reanudación ovárica posparto, 2: comportamiento sexual y ciclicidad estral y 3: preñez temprana Figura 2-2. El presente artículo constituye el experimento número 2, el cual evaluó las hembras a partir de la determinación del inicio de la ciclicidad ovárica posparto mediante la valoración del primer estro observado y durante los tres primeros ciclos estrales consecutivos confirmados con los perfiles de progesterona. La detección de estros se realizó con ayuda de un macho adulto vasectomizado provisto con un arnés y tizas marcadoras de diferentes colores (la tiza de color se cambió semanalmente). El macho permaneció con las hembras durante todo el seguimiento y las montas se observaron diariamente para obtener una fecha aproximada del estro.

▪ Obtención de muestras y ensayo hormonal

A partir del día 5-7 posparto y durante todo el seguimiento [Figura 2- 2] se realizó la toma de muestras de sangre, tres veces por semana a la misma hora (8:00 a 10:00 am), mediante la técnica de venopunción de la yugular (5 ml) en tubos vacutainer con heparina (Becton Dickinson® Rutherford, NJ, USA) para evaluar los niveles séricos de progesterona. Las muestras debidamente rotuladas se llevaron inicialmente al laboratorio de apoyo del Centro de investigación CIDTEO, se centrifugaron a 1200 x g durante 10 minutos para obtener el plasma sanguíneo, el cual se dividió en dos alícuotas (A y B) y finalmente se almacenó en viales debidamente marcados a una temperatura de (-70 ° C). Las concentraciones de progesterona se determinaron con el kit comercial ELISA inmunoensayo DSI-EIA-STEROID-PROGESTERONE®RH/351-Italy, en el Laboratorio de

Hormonas de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia- sede Bogotá. Las muestras del experimento se analizaron en duplicado mediante una curva lineal de calibración con un rango de calibradores entre 0,1 a 3,5 ng/ml de progesterona en plasma. El calibrador 4 del kit y el calibrador 0 fueron utilizados como control positivo y negativo respectivamente. El ensayo contó con el 95% de certeza, un límite inferior de sensibilidad de 0,1 ng/ml y un coeficiente de variación inter-ensayo de 4,2% e intraensayo de 3,6%. El trabajo se realizó bajo el concepto aprobatorio del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia – UNAL Bogotá emitido el 1° de noviembre de 2012 (Acta 10).

3.5. Criterios para el manejo de variables

Las variables respuestas fueron: Inicio de la ciclicidad y primer estro observado, Eficiencia en la detección de calores. Clasificación de los tipos de ciclo estral según la longitud. Duración y niveles de progesterona durante el ciclo estral. El ciclo estral se consideró cuando los niveles de progesterona se encontraban por debajo de 1 ng/ml con o sin manifestación de calor observado, respaldado por una función luteal basada en el mantenimiento de P₄ por encima de 1ng/ml durante al menos tres muestreos consecutivos (Bartlewski et al., 2016; Fierro et al., 2016). La Clasificación de tipos de ciclos estrales según la longitud se realizó de la siguiente manera: ciclo corto de 8 a13 días, regular de 14 a 20 días, largo de 21 a 26 días y los ciclos extra largo mayor a 27 días (Lozano 2015; Rodríguez Iglesias et al., 2013).

3.6. Análisis estadístico

Utilizando estadística descriptiva se analizó el comportamiento de las variables dentro y entre biotipos raciales. Las variables cuantitativas se expresaron como medias (\pm EEM) y fueron probadas con análisis unifactorial (4 biotipos raciales) mediante el procedimiento ANOVA; se utilizó la prueba-*t* para comparar las medias.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + E_{ijk}$$

$i=1,2,\dots,r$ $j=1,2,\dots,a$; $k=1,2,\dots,b$

Y_{ij} = Variables de reactivación ovárica en el anestro pos parto (día) (Número)

μ = La media.

α_j = El efecto de la j-ésima raza

β_k = Efecto del nivel k del tipo de parto.

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Efecto de la combinación del nivel j de la raza y el nivel k del tipo de parto. (Efecto de la interacción AB, periodo y condición corporal).

E_{ijk} = Error experimental.

La comparación de medias se realizó empleando el método de Tukey

▪ **Modelo de dinámica de progesterona**

Los perfiles de P_4 durante el ciclo estral se analizaron en función del grupo racial; los datos fueron normalizados por ovulación (día 0) y posteriormente analizados usando medidas repetidas General Linear Model (PROC GLM) procedimiento SAS (2011).

$$y_{ijk} = \mu + R_j + J(R)_{ij} + D_k + (R * D)_{jk} + e_{ijk}$$

y_{ijk} = Es la medición del animal i, en el día k, anidado la raza j

μ = El promedio

R_j = El efecto de la j-ésima raza

$(R)_{ij}$ = El efecto de la i-ésima hembra anidada en la j-ésima raza.

D_k = El efecto del k-ésimo día de medición

$(R*D)_{jk}$ = El efecto de la interacción entre la j-ésima raza y el k-ésimo día.

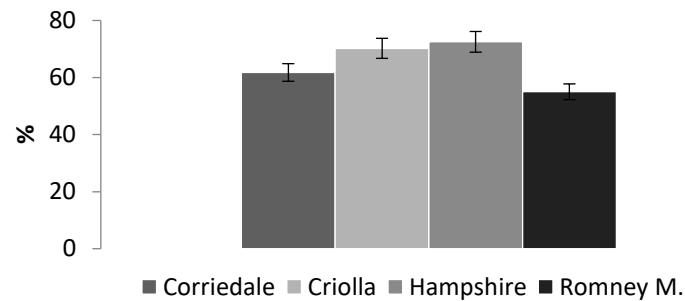
e_{ijk} = El error

3.7. Resultados

3.7.1. Eficiencia en la detección de estros por observación

El porcentaje de detección de estros por observación fue de 64,88%. Particularmente en las hembras Hampshire la detección de calores fue de 72,52% y en las Criollas de 72,24%. El menor valor corresponde al grupo Romney Marsh con 55,01% y el grupo intermedio Corriedale con 61,78% [Figura 3-2]. Sin embargo, estadísticamente no se evidenciaron diferencias significativas por biotipo racial ($P= 0.115$).

Figura 3-2 Estros detectados por observación según el biotipo racial



Porcentaje de detección de estros por observación, no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre grupos raciales.

3.7.2. Clasificación de los tipos de ciclos estrales según la longitud

El porcentaje y número de ciclos estrales clasificados según la longitud se relaciona en la [Tabla 3-1]. El análisis estadístico mostró diferencias en la presentación de ciclos regulares con respecto a los biotipos raciales ($P= 0.016$), representando la mayor proporción.

Tabla 3-1 Clasificación de los tipos de ciclo estral

Biotipo racial	Número de estros	Tipos de ciclo (duración)							
		Corto		Regular		Largo		Extra-largo	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Criolla	60	21,23	13	76,98 ^a	46	0,00	0	1,79	1
Corriedale	62	42,26	27	47,45 ^b	33	8,21	2	2,08	0
Hampshire	61	29,46	19	65,10 ^{ab}	39	3,65	2	1,79	1
Romney Marsh	59	43,50	26	53,03 ^b	27	3,47	5	2,08	1
Total	242	34,11	85	60,64	145	3,83	9	1,41	3

Clasificación de los tipos de ciclos estral según la longitud: ciclo corto (>8 y <13 días), regular (14-20 días), largo (21 a 26 días) y los ciclos extra largo (mayor a 27 días). ^{a,b} Diferencias ($P < 0,05$) entre biotipo racial.

3.7.3. Duración del ciclo estral

El promedio de duración del ciclo estral en condiciones de trópico alto fue de $16,79 \pm 0,88$ días. En la [Tabla 3-2] se presenta la duración del ciclo estral regular para cada biotipo racial; estadísticamente no se evidencian diferencias significativas ($P = 0.129$).

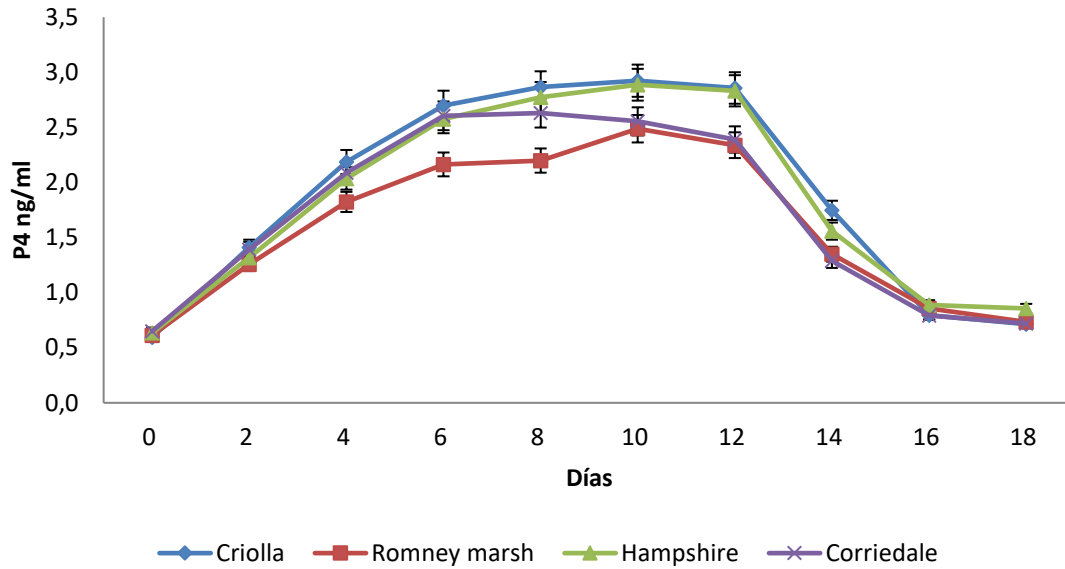
Tabla 3-2 Duración del ciclo estral en cuatro tipos raciales ovinos

Biotipo Racial	Duración del ciclo estral (días)
Criolla	$17,4 \pm 0,9$
Corriedale	$16,7 \pm 0,8$
Hampshire	$16,7 \pm 0,3$
Romney Marsh	$16,3 \pm 1,1$
Media	$16,8 \pm 0,9$
Valor P	0.129

3.7.4. Niveles de progesterona durante el ciclo estral

Los valores obtenidos en la cuantificación sérica de P_4 a través del ciclo estral regular aparecen en la [Figura 3-3]. Las lecturas de los niveles de progesterona oscilaron desde 0,01 ng/ml en la ovulación hasta de 3.23 ng/ml en la fase luteal tardía. Entre el día 2 y 14 del ciclo estral, los valores de P_4 fueron superiores a 2 ng/ml. Los resultados evidencian un incremento entre los 3 a 5 días del ciclo estral, manteniéndose en niveles altos y constantes hasta el día 11 con una concentración promedio de $P_4 = 2.75 \pm 0.57$ ng/ml, luego evidencian la disminución alrededor del día 14 a 1.92 ± 0.28 ng/ml, hacia el día 15 disminuyen a 0.62 ± 0.28 ng/ml y finalmente decaen a 0.10 ± 0.04 ng/ml. No se encontraron diferencias significativas en la concentración de progesterona entre los días 6 al 8 y del 10 al 13 ($P > 0,05$).

Figura 3-3 Niveles de progesterona durante el ciclo estral en los biotipos evaluados. Día 0 representa el inicio del estro



Media y desviación estándar de las concentraciones de progesterona durante el ciclo estral regular de hembras ovinas adultas tipo lana en trópico alto. Día 0 representa la ovulación.

Tabla 3-3. La media (\pm DS) en las concentraciones plasmáticas de progesterona durante el ciclo estral en las cuatro razas evaluadas. Día 0 representa la ovulación.

Raza	Criolla		Corriedale		Hampshire		Romney		Total		
Día	P4 ng/ml	DS	P4 ng/ml	DS	P4 ng/ml	DS	P4 ng/ml	DS	P4 ng/ml	DS	Pr > F
0	0,596	0,226	0,650	0,230	0,634	0,203	0,612	0,233	0,622 ^f	0,219	0,9134
2	1,410	0,395	1,392	0,350	1,317	0,535	1,258	0,437	1,346 ^d	0,440	0,5210
4	2,185	0,551	2,086	0,590	2,037	0,624	1,823 ^{**}	0,585	2,046 ^c	0,595	0,0650
6	2,698	0,486	2,604	0,554	2,575	0,591	2,163	0,613	2,538 ^b	0,584	0,0013
8	2,865	0,446	2,630	0,762	2,772	0,529	2,198	0,541	2,650 ^{ab}	0,616	0,0002
10	2,923	0,422	2,554	0,752	2,887	0,488	2,487	0,587	2,750 ^a	0,577	0,0060
12	2,857	0,712	2,389	0,888	2,832	0,586	2,338	0,835	2,651 ^{ab}	0,776	0,0002
14	1,747	1,059	1,289	0,708	1,558	0,839	1,349	0,802	1,517 ^d	0,892	0,0115
16	0,796	0,380	0,792	0,358	0,887	0,396	0,856	0,518	0,833 ^e	0,408	0,7929
18	0,713	0,674	0,719	0,328	0,855	0,441	0,733	0,115	0,755 ^{ef}	0,397	0,1244

Media y desviación estándar de las concentraciones de progesterona durante el ciclo estral regular de hembras ovinas adultas tipo lana en trópico alto. Día 0 representa la ovulación. ^{a,b} Diferencias ($P < 0,05$) entre biotipo racial

▪ Entre grupos raciales

Con respecto al biotipo racial, las hembras Criollas, Corriedale y Hampshire presentan perfiles de P_4 similares durante el inicio de la fase luteal. Al analizar el comportamiento de los niveles de progesterona expresados en los tiempos puntuales (día 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 y 18) no se presentan diferencias significativas ($P>0.05$) entre los grupos Criolla y Hampshire; manifestando que los perfiles de P_4 para estos dos grupos son muy parejos. Por el contrario, existen diferencias significativas ($P=0.006$) en las concentraciones séricas de progesterona entre el grupo de hembras Criollas y Romney Marsh durante los días 4, 6 y 8. El grupo Romney presenta niveles de progesterona en $1,82\pm 0,58$ ng/ml durante la fase luteal temprana, siendo bajos en referencia a lo expresado por las Criollas $2,18 \pm 0,55$ ng/ml. Durante la fase luteal media, los perfiles se comportan estables y en niveles máximos en todos los grupos ($2,75\pm 0,57$ ng/ml). Por el contrario, las hembras Corriedale y Romney son las que presentan menor concentración en la fase luteal tardía ($2,36 \pm 0,86$ ng/ml) en contraste a lo presentado por las hembras Criollas y Hampshire ($2,84\pm 0,64$ ng/ml) [Tabla 3- 3].

3.8. Discusión

3.8.3. Eficiencia en la detección de calores

Basados en los niveles de progesterona se totalizaron 242 ciclos estrales [Tabla 3-1] de los cuales fueron confirmados por observación 155, lo que corresponde a una eficiencia de 64,88% en detección de calores [Figura 3-2]. No se encontraron diferencias ($P<0.05$) entre los grupos, aunque cabe destacar mejor expresión de estros en ovejas del grupo Criolla y Hampshire en contraste a los biotipos Romney y Corriedale que expresaron en menor proporción su comportamiento sexual, representando baja intensidad y corta duración, haciendo que su comportamiento sea muy leve y que el macho vasectomizado pase desapercibido a la detección. Autores como (Rodríguez Iglesias et al., 2013) reportaron una proporción de detección de estros del 92,0% en la raza Corriedale, siendo consistentemente alto en comparación de los resultados obtenidos, aunque el ensayo usó sincronización del estro. En contraste, en Uruguay señalan un 35-44% en la misma raza y

con presentación espontánea del estro (Ungerfeld y Rubianes). (Pevsner et al., 2010) demostró en hembras Corriedale lactantes un 66.2% de detección de estros, sugiriendo que la presencia de la cría afecta significativamente el comportamiento sexual. Por lo contrario, investigaciones de (deNicolo et al., 2006) encontraron un 90 % de detección de estros en la raza Romney Marsh en explotaciones de Nueva Zelanda, en sistema de cría libre similar al del desarrollo del presente experimento. Por otra parte, en ovejas tipo pelo de Brasil, se evaluó el comportamiento sexual durante 60 días posparto encontrando un porcentaje de detección de calores dentro del 56,0% al 79,3% (Araujo et al., 2009); resultados que coinciden con los arrojados en esta investigación, pese a la dificultad de detectar calores en esta especie sobretodo en condiciones naturales de apareamiento (Dobson et al., 2012; Fergani et al., 2012). Adicionalmente el estrés pudo tener implicaciones importantes el comportamiento sexual, debido a que la hembra ovina es altamente influenciada por el fenómeno psicosocial (Corner-Thomas et al., 2015; Fergani et al., 2012), en este caso la presencia de la cría, el destete e incluso el muestreo puede inducir estrés afectando la fase luteal tardía del ciclo estral (Pierce et al., 2008), disminuyendo la expresión del estro debido a la interrupción de la señal de retroalimentación positiva hacia la GnRH. (Turner et al., 2002; van Lier et al., 2003) demuestran que las secreciones de esteroides regulan los niveles de cortisol a nivel de las glándulas adrenales, por lo que pueden afectar el eje hipotálamo- hipófisis- adrenal en ovejas.

Se reconoce la importancia de la detección de estros para el mantenimiento de una adecuada eficiencia reproductiva (control de montas o inseminación en el tiempo exacto) y debe implementarse como un indicador clave para evaluar la ciclicidad estral en determinadas épocas y condiciones medioambientales (Moonmanee y Yammuen-art 2015; Oliveira et al., 2016; Zarco et al., 1995); puesto que la reproducción exitosa requiere de la expresión de la conducta sexual dentro de un marco de tiempo ajustado, el cual es evidente siempre y cuando exista un apropiado ritmo endocrino (Fergani et al., 2012). El estradiol es reconocido como la principal hormona que estimula la secreción de GnRH y los subsecuentes eventos causados por el aumento en la frecuencia de secreción de la LH durante la fase folicular del ciclo estral (Pierce et al., 2008); sin embargo (Caraty et al., 2002; Stouffer y Hennebold 2015), enfatizan que la progesterona actúa con un efecto

facilitador para la secreción de E2 – GnRH y/o expresión de receptores de GnRH hipotalámicos, demostrando la importancia del cebado previo de P₄ en concentraciones adecuadas (Rodríguez Iglesias et al., 2013) permitiendo el aumento, en gran medida, de la magnitud de E2 y GnRH lo que se podría relacionar con la mayor expresión de estros en los biotipos Hampshire y Criolla. Con lo anterior, se sugiere que mayor concentración de P₄ en la fase lútea tardía [Figura 3-3] podría estar representando el mejor éxito reproductivo; permitiendo mayor expresión del comportamiento sexual en los biotipos sobresalientes.

3.8.3. Clasificación de los tipos de ciclo estral según la longitud

La variación en la duración de los ciclos estrales permitió la clasificación en ciclos de corta, regular (normal), largo y extra-largo. Los datos en general indican que el 34,1 % corresponde a ciclos cortos, el 60,6% a ciclos regulares y 5,3 % a ciclos largos y extra largos [Tabla 3-1]. Con lo anterior, el ciclo regular representa la mayor proporción, como es característico en ovejas adultas cíclicas (Bartlewski et al., 2011) y adicionalmente se evidenció diferencias significativas entre los tipos raciales. Las hembras Criollas presentaron un 76,98 % de ciclos regulares a diferencia de las hembras Corriedale y Romney Marsh quienes mostraron una menor proporción (53,03% y 47,45% respectivamente). La mayor presentación de ciclos irregulares corresponde a las hembras de los tipos raciales Romney Marsh y Corriedale; lo que sugiere problemas de adaptación incluyendo “estrés térmico” el cual induciría una luteolisis anticipada lo que posiblemente afecta la dinámica hormonal (Bartlewski et al., 2016). En contraste, los resultados de los biotipos Criolla y Hampshire representan mayor tendencia a la normalidad respecto a la duración del ciclo estral, demostrando una mejor regularidad y posible acondicionamiento y adaptación al trópico. Los resultados obtenidos son comparables con lo revisado en sistema de cría libre los cuales reportan un 14 % en ciclos cortos, 77% regulares y 9% largos (Bartlewski et al., 2011); adicionalmente el trabajo de Rodríguez Iglesias et al., 2013 destaca que existe mayor porcentaje de fases lúteas regulares (14 – 20 días de duración) en grupos con el mismo sistema productivo. Sin embargo, las investigaciones a nivel local (Colombia) mostraron que un 43 % de los ciclos estrales son regulares y la mayor proporción corresponde a los ciclos largos con un 45 % (Lozano Márquez 2014; Osorio 1993), experimento realizado en cruces de ovejas tipo lana, cuyos resultados evidencian

que el incremento de los niveles de progesterona en la fase luteal tardía controla el tiempo en el que se produce la luteolisis, alterando la duración del ciclo estral.

3.8.3. Duración del ciclo estral

La Duración del ciclo estral regular fue $16,8 \pm 0,9$ sin presentar diferencias significativas dentro de los grupos evaluados [Tabla 3-2]. Este valor concuerda con el promedio de 17 días reportado por investigadores (Bartlewski et al., 2011; Bartlewski et al., 1999; Goff et al., 2013), bajo época reproductiva, demostrando que el ciclo estral regular en las ovejas es relativamente constante entre y dentro de las razas con sólo una ligera variación de 1-2 (Bartlewski et al., 1999; Seekallu et al., 2010a). Los resultados del presente ensayo evidenciaron que la duración del ciclo estral fue de $16,3 \pm 1,1$ días para el grupo Romney Marsh en condiciones de trópico alto colombiano; resultado compatible a los trabajos previos los cuales indican duraciones de: 17 ± 2.6 días (deNicolo et al., 2008), 16.5 ± 0.2 días (Rodrigues 2007), 17 ± 1.0 días (Ungerfeld R et al.2009) y 16.5 ± 0.2 días (Smith et al., 1976) en la misma raza. En contraste, el estudio colombiano (Vejarano 1993) demostró una longitud de $18,3 \pm 0,83$ días en el estro de las ovejas Romney Marsh en la sabana de Bogotá, lo cual difiere levemente de los resultados obtenidos, aunque está dentro del rango frecuente. Para las hembras Corriedale la longitud del ciclo estral regular fue de $16,7 \pm 0,8$ días, semejante a lo reportado por los experimentos con duraciones de $18,0 \pm 1.8$ y 17.2 ± 0.2 días (Ferreria et al., 2008; Rubianes et al., 2003). En el grupo Hampshire se encontró una duración de $16,7 \pm 0,3$ días similar a lo señalado por (Cárdenas et al., 2004; Ortman 2000) cuyos datos alcanzaron una duración del ciclo estral de 17 ± 1.5 y 16.53 ± 0.03 días. En Colombia, se ha señalado que la duración del ciclo estral fue de $17,13 \pm 3,54$ días (Suárez y Rodríguez 1993), $17,1 \pm 3,5$ d (Osorio 1993) y $17,8 \pm 1,7$ d (Díaz y Grajales 1993) en cruces de Romney Marsh por Criolla, resultados que concuerdan con la duración del ciclo estral en las hembras Criolla tipo lana del presente experimento ($17,4 \pm 0,9$ días).

3.8.4. Niveles de progesterona durante el ciclo estral

Los resultados de cuantificación hormonal se encuentran dentro del rango de los perfiles de progesterona reportado por otras investigaciones en ovejas (Bartlewski et al., 1999; Bartlewski et al., 2016; Fierro et al., 2016; Rubianes et al., 2003; Valasi et al., 2013) y confirma que la técnica de cuantificación hormonal P_4 (ELISA) empleada permitió evaluar correctamente la función lútea. El momento en que las concentraciones de P_4 se encuentran basales coinciden en la mayoría casos con la detección del estro (Stouffer y Hennebold 2015) y corresponden al tiempo estimado de la ovulación (día 0 del ciclo estral), presentando valores promedios de P_4 de $0,622 \pm 0,219$ ng/ml [Figura 3-3]. (Bartlewski et al., 1999) reporta niveles de $0,28 \pm 0,19$ ng/ml al día 0, aunque cabe aclarar que el estudio estuvo acompañado por la evaluación de la dinámica folicular permitiendo establecer el tiempo exacto de la ovulación; a diferencia de este ensayo en el cual únicamente pudo relacionar el día de la ovulación (perfil de P_4) con la manifestación del comportamiento estral. En referencia a los valores durante la luteolisis inducida, (Rubianes et al., 2003) señala niveles de $0,4 \pm 0,3$ ng/ml en hembras Corriedale en condiciones de época reproductiva, valores que se asemejan con los obtenidos en la presente investigación para el biotipo particular y los otros en general. De igual manera, la investigación de (Uribe-Velásquez), la cual evaluó cambios en la secreción de esteroides ováricos en ovejas tipo lana en Brasil, reportó concentraciones de progesterona de $0,20 \pm 0,33$ ng/ml en la fase folicular. Estudios locales en ovejas Criollas, los cuales evaluaron 2 ciclos estrales consecutivos, revelaron que las concentraciones de progesterona fueron de $1,06 \pm 0,71$ ng/ml (Rodríguez et al., 2004), valores que se encuentran por encima si se compra con esta investigación, por lo que se puede inferir que la técnica de detección hormonal posiblemente no alcanzo a detectar niveles basales y/o por qué el muestreo no se acercó al momento del estro. En contraste, estudios en cruces provenientes de ovejas tipo lana en trópico alto, evidencio un nivel promedio de P_4 durante el estro de $0,11 \pm 0,05$ ng/ml (Díaz and Grajales 1993; Suárez Rodríguez 1993), el cual es consistente con los niveles durante este evento fisiológico y específicamente cuando la muestra coincide con la expresión sexual.

Los perfiles de P_4 graficados en la [Figura 3-3] comienzan a aumentar en los dos a tres días después de la ovulación, justo cuando el nuevo cuerpo luteo inicia la actividad

secretora de P_4 , aumentando los niveles gradualmente durante el día 2 al 6 del ciclo estral (Bartlewski et al., 2016) y presentando la mayor variabilidad. Los resultados concuerdan con lo publicado por (Rubianes et al., 2003) con concentraciones medias de P_4 que variaron en los días 2, 3 y 5 del ciclo estral en hembras de raza Corriedale en Uruguay, en condiciones de época de reproducción con aparición de estro espontáneo. Así mismo, los datos obtenidos fueron similares a lo reportado por (Shabankareh et al., 2009; Valasi et al., 2013), los cuales describen un incremento gradual a partir del día 3, posteriormente los niveles se mantienen altos y constantes durante los días 6- 12. Lo anterior se explica fisiológicamente por los cambios en la actividad lútea, que establece diferencias significativas ($P < 0.05$) entre días de la fase lútea temprana (Bartlewski et al., 1999) debido al aumento en el número y tamaño de células esteroideogénicas lúteas. Recordemos que histológicamente el cuerpo lúteo contiene dos tipos de células correspondientes a las células lúteales grandes ($\geq 20 \mu\text{m}$ de diámetro) originadas de las células de la granulosa y células lúteales pequeñas ($< 17 \mu\text{m}$) originadas de la teca (Sangha et al., 2002). Se ha analizado que las células lúteas grandes tienen mayor capacidad de sintetizar esteroides debido a que el transporte mitocondrial del colesterol es mayor; e incluso, las células lúteas pequeñas pueden transformarse en células lútea grandes a medida que la vida media del cuerpo lúteo progresa, este fenómeno implica una mayor diferenciación celular e hipertrofia (Stouffer y Hennebold 2015) que se evidencia en la variación de la secreción de P_4 .

La concentración máxima de progesterona en suero fue al día 11 con niveles de $2,75 \pm 0,57$ ng/ml en promedio. Los niveles son comparables con los reportes en países estacionales, los cuales referencian valores de P_4 de $3,30 \pm 0,08$ ng/ml hacia el día 10 en hembras tipo lana (Shabankareh et al., 2009). Estudios locales evidencian niveles de P_4 correspondientes a $3,63 \pm 1,82$ ng/ml hacia el día 8 (Rodríguez et al.) y alrededor del día 9-12 concentraciones de $3,40 \pm 0,60$ ng/ml (Suárez Rodríguez 1993). En la fase lútea media, el CL se conforma únicamente por células lúteas maduras; por lo que la secreción de progesterona suele presentar menor variación manteniendo los niveles altos y constantes. Hacia el final del ciclo estral cerca al día 12 a 14 empiezan a descender los niveles de P_4 en consecuencia de la luteólisis funcional y estructural (15 a 16 días) que ocurre al final de la fase lútea tardía llegando a niveles > 1 ng/ml (Bartlewski et al., 2016; Shabankareh et al., 2009).

Aunque el presente estudio no incluyó la evaluación de la dinámica folicular, es importante destacar que tiene una alta correlación con la concentración esteroides (Fierro et al., 2016; Skinner et al., 2000). Se reconoce que la disminución en la secreción de progesterona hacia el final del ciclo estral, lleva a una reducción de la retroalimentación negativa ejercida por la P₄ hacia la GnRH/LH (Seekallu et al., 2010b). Con el incremento en la secreción de LH y FSH se lleva a cabo la maduración del folículo preovulatorio y posteriormente con el pico de la LH para la ovulación (Ciechanowska et al., 2010; Skinner et al., 2000). Con la imagen ecográfica es de esperarse encontrar en la oveja adulta cíclica, folículos en crecimiento: pequeños (2-3,5mm de diámetro), medianos (<3,5mm a 5,0 mm) y grandes (> 5mm) desarrollando entre dos a cuatro ondas foliculares (media tres) por ciclo estral (Bartlewski et al., 2011; Seekallu et al., 2010a) y el o los folículos pre ovulatorios del diámetro de 6- 7mm (Bartlewski et al., 2016; Shabankareh et al., 2009; Uribe, 2010) en razas tipo lana y con pesos semejantes (60 Kg). La observación estará dentro del rango de 85% al 100% según lo referenciado por (Uribe 2010). Adicionalmente (Bartlewski et al., 1999), expresa que la progesterona posiblemente sensibiliza los folículos medianos o de Graff (>3mm) para que respondan adecuadamente a las gonadotropinas (LH).

Existe una gran controversia en las investigaciones acerca de la dominancia folicular en la especie; algunos estudios sugieren que la dominancia es evidente durante la fase folicular y la fase luteal temprana del ciclo estral; el folículo más grande puede suprimir el crecimiento de los folículos más pequeños, debido a que grandes folículos segregan altos niveles de inhibina, que a su vez suprimen la secreción de FSH causando atresia (Gonzalez-Bulnes et al., 2004). El folículo dominante posteriormente adquiere una dependencia a la LH. La referencia de (Shabankareh et al., 2009) en hembras tipo lana, afirma que existe una dominancia clara durante la fase folicular, lutea temprana y tardía; pero lo contrario ocurre en la fase luteal media, describiendo la ausencia del efecto dominante durante la fase más activa del cuerpo luteo. Lo anterior es consistente a lo reportado por (Contreras-Solis et al., 2008) en razas tipo pelo; demostrando que la ausencia del efecto dominante a mediados de la fase luteal se asocia a efectos supresores del CL (Gonzalez-Bulnes et al., 2004; Pierce et al., 2008; Stouffer yHennebold 2015).

- **Entre los grupos raciales**

Con respecto a los grupos raciales, los perfiles de progesterona tuvieron el mismo comportamiento en los cuatro grupos evaluados [Figura 3-3] y se ajusta a lo reportado en investigaciones recientes con análisis en genotipos diferentes (Bartlewski et al., 2016; Shabankareh et al., 2009). Particularmente, las hembras Romney Marsh presentaron menor actividad luteal en los días 2 a 6 del ciclo estral, en referencia con el grupo Criolla, evidenciado mayor variación de secreción de P_4 . En contraste, durante la fase luteal media y tardía, los niveles más bajos de P_4 fueron presentados por el grupo Corriedale. Con lo anterior se sugiere que las hembras Criollas y Hampshire pueden tener una mejor relación de los esteroides ováricos en cuanto al momento, tiempo y duración de su acción y de los efectos coordinados que deben regular la expresión de receptores tanto de la misma progesterona, como de los receptores para estrógenos y oxitocina en estas fases; los cuales modulan los pulsos luteolíticos de $PgF2\alpha$ por el endometrio (Cárdenas et al., 2004; Grajales 1998; Ottobre et al., 1980) y conforma el mecanismo conveniente que le permite desempeñarse con mejor eficiencia reproductiva. Por el contrario, los resultados de la hembra Corriedale concuerdan a lo referenciado por (Fierro et al., 2016) específicos para la raza; indicando que las variaciones de los niveles de progesterona durante la fase luteal media y tardía del ciclo estral, conllevan a modificaciones en la dinámica folicular y en la maduración del oocito; reflejándose en un pobre desempeño reproductivo (Corner-Thomas et al., 2015) evidente en la reducción de la fertilidad (Oliveira et al., 2016). Lo anterior, se asocia al menor rendimiento reproductivo de las hembras Corriedale y se relaciona con los perfiles de progesterona. En contraste y basados en el estudio de (Bartlewski et al., 2016), el cual aumento de los niveles de P_4 más allá del diestro (día 12 y 14 del ciclo estral), resultando en la regresión folicular y disminución de la tasa de ovulación debido a la alteración de los niveles de FSH y E_2 ; efectos directos en el ovario que implican alteraciones en el desarrollo folicular y la capacidad de respuesta a efectos gonadotropicos y/o a la biosíntesis de promotores locales para el desarrollo folicular antral. En síntesis, se enfatiza el ciclo estral está regulado por una serie de eventos endocrinos en donde la vida media del cuerpo lúteo está controlada por factores luteotropicos de la adenohipófisis

(GnRH/LH) y factores luteolíticos del útero $\text{PGF2}\alpha$; ambos factores modulados por la progesterona (Ottobre et al., 1980) en el momento, tiempo y concentraciones adecuadas.

Las concentraciones séricas de progesterona están correlacionadas positivamente con el volumen total de tejido luteal (Rodríguez Iglesias et al., 2013; Shabankareh et al., 2009) y varían entre razas prolíficas y no prolíficas de ovejas (Bartlewski et al., 2011; Bartlewski et al., 2016; Shabankareh et al., 2009). En este sentido, y basados en la investigación de (Shabankareh et al., 2009) la cual analizó el efecto de ovulaciones simples y dobles sobre la función luteal y concentración de progesterona durante el ciclo estral en ovejas tipo lana en época reproductiva, manifestaron que ovejas con ovulaciones dobles tenían mayor concentración de progesterona en los días 1- 16 ($P < 0,001$); referencias que pueden explicar las concentraciones de progesterona mayores para los biotipos Criolla y Hampshire debido a su mayor prolificidad ($1,35 \pm 0,6a$ y $1,41 \pm 0,5a$) en contraste los biotipos Romney y Corriedale ($1,20 \pm 0,4b$ y $1,17 \pm 0,5b$) (Cuéllar et al., 2015), pese a que nuestra investigación no contemplo la evaluación de la ovulación ecográficamente. Adicionalmente se ha reportado que ovejas tipo lana tienen el folículo pre-ovulatorio y el cuerpo luteo más grandes si se compara con ovejas tipo pelo (Contreras-Solis et al., 2008). También hay que tener en cuenta que el volumen del cuerpo luteo puede estar relacionado con la edad y el tamaño corporal (Shabankareh et al., 2009). La imagen ecográfica debe arrojar un CI del diámetro de 6 a 8mm durante la fase lutea temprana, posteriormente alrededor del día 6 a 9 del ciclo estral el CL alcanzaría el mayor diámetro correspondiente a 11-14 mm (Shabankareh et al., 2009; Stouffer y Hennebold 2015). Ecográficamente el CI puede visibilizarse a partir del día 4- 5 del ciclo estral con un 88% de certeza, cuando ya hay formación estructural del mismo (Pangas y Rajkovic 2015; Rodríguez Iglesias et al., 2013).

3.9. Conclusiones

El inicio de la ciclicidad se presentó a los $60,2 \pm 34,7$ días posparto. La raza Criolla mostró un rápido restablecimiento de la ciclicidad ($35,1 \pm 12,5$ días) con respecto a los demás biotipos evaluados. El porcentaje de detección de calores fue de 64,88%. Los resultados evidencian el 60,6 % de ciclos estrales regulares y un 34,2% de ciclos cortos, presentando diferencias significativas por raza que posiblemente se relaciona con el desempeño

reproductivo. El promedio de duración del ciclo estral regular fue de $16,8 \pm 0,89$ días. El grupo Romney presenta bajos niveles de P_4 durante la fase lutea temprana en comparación con las hembras Criollas. El grupo Corriedale y Romney presentaron menores niveles en la fase lutea tardía, sugiriendo una menor capacidad de actividad luteal como factor de modulación del ciclo estral, del desarrollo folicular y del modelo endocrino que determinan la eficiencia reproductiva. Los resultados evidencian el 60,6 % de ciclos estrales regulares y un 34,2% de ciclos cortos. Se encontraron diferencias significativas en la presentación de ciclos regulares por tipo racial, que posiblemente se relaciona con el desempeño reproductivo. El promedio de duración del ciclo estral regular fue de $16,8 \pm 0,89$ días sin presentar diferencias significativas entre tipo racial.

3.10. Referencias

- 1) 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.
- 2) Araujo RC, Pires AV, Susin I, Mendes CQ, Rodrigues GH, Urano FS, Ribeiro MF, Oliveira CA, Viau P, Day ML. 2009. Postpartum ovarian activity of Santa Inês lactating ewes fed diets containing soybean hulls as a replacement for coastcross (*Cynodon* sp.) hay. *Small Ruminant Research* 81(2-3):126-131.
- 3) Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science* 124(3-4):259-268.
- 4) Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. 1999. Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. *Animal Reproduction Science* 57(1-2):67-88.
- 5) Bartlewski PM, Sohal J, Paravinja V, Baby T, Oliveira ME, Murawski M, Schwarz T, Zieba DA, Keisler DH. 2016. Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep? *Domest Anim Endocrinol* 58:30-38.
- 6) Caraty A, Delaleu B, Chesneau D, Fabre-Nys C. 2002. Sequential role of e2 and GnRH for the expression of estrous behavior in ewes. *Endocrinology* 143(1):139-45.
- 7) Ciechanowska M, Łapot M, Mateusiak K, Przekop F. 2010. Neuroendocrine regulation of GnRH release and expression of GnRH and GnRH receptor genes in the hypothalamus-pituitary unit in different physiological states. *Reproductive Biology* 10(2):85-124.
- 8) Contreras-Solis I, Diaz T, Lopez G, Caigua A, Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes 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.
- 9) Corner-Thomas RA, Ridler AL, Morris ST, Kenyon PR. 2015. Ewe lamb live weight and body condition scores affect reproductive rates in commercial flocks. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 58(1):26-34.
- 10) Costine BA, Inskeep EK, Blemings KP, Flores JA, Wilson ME. 2007. Mechanisms of reduced luteal sensitivity to prostaglandin $F_{2\alpha}$ during maternal recognition of pregnancy in ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 32(2):106-121.
- 11) Cuéllar-Gamboa G.A, Jimenez Robayo L.M, Grajales-Lombana HA, Mendoza Morales L.F, Sánchez-Isaza CA. Factores que influncian la prolificidad en ovinos del Centro Agropecuario Marengo. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal. AICA* 6 (2015) 460-465

- 12) Cárdenas H, Wiley TM, Pope WF. 2004. Prostaglandin F2 α -induced estrus in ewes exhibiting estrous cycles of different duration. *Theriogenology* 62(1-2):123-129.
- 13) deNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH. 2006. Effect of weaning pre- or post-mating on performance of spring-mated ewes and their lambs in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 49(3):255-260.
- 14) deNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH, Parkinson TJ. 2008. Induced seasonal reproductive performance in two breeds of sheep. *Animal Reproduction Science* 103(3-4):278-289.
- 15) Dobson H, Fergani C, Routly JE, Smith RF. 2012. Effects of stress on reproduction in ewes. *Animal Reproduction Science* 130(3-4):135-140.
- 16) Díaz F, Grajales H. Fertilidad y características del ciclo estral de ovejas en el trópico alto colombiano. [tesis de grado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 1993
- 17) Fabre-Nys C, Gelez H. 2007. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. *Hormones and Behavior* 52(1):18-25.
- 18) Fatet A, Pellicer-Rubio M-T, Leboeuf B. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science* 124(3-4):211-219.
- 19) Fergani C, Saifullizam AK, Routly JE, Smith RF, Dobson H. 2012. Estrous behavior, luteinizing hormone and estradiol profiles of intact ewes treated with insulin or endotoxin. *Physiology & Behavior* 105(3):757-765.
- 20) Ferreria J, Rodriguez Iglesias RM, Pevsner DA, Aba MA, Rodriguez MM, Pedrueza JR. 2008. LH response of seasonally anovular Corriedale ewes acutely exposed to rams and estrous ewes. *Anim Reprod Sci* 103(1-2):172-8.
- 21) Fierro S, Viñoles C, Olivera-Muzante J. 2016. Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized with different prostaglandin-based protocols. *Animal Reproduction Science* 167:74-82.
- 22) Goff KJ, Knight JW, Pelzer KD, Akers RM, Notter DR. 2013. Circannual changes in progesterone secretion in intact ewes, luteinizing hormone secretion in ovariectomized estradiol-implanted ewes, and prolactin secretion in three sheep breeds anticipated to differ in seasonality of reproduction. *Animal Reproduction Science* 138(3-4):194-202.
- 23) Gonzalez-Bulnes A, Souza CJH, Campbell BK, Baird DT. 2004. Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Animal Reproduction Science* 84(1-2):107-119.
- 24) Grajales, H. Comportamiento reproductivo de grupos raciales bovinos en el trópico calido-húmedo colombiano: Pubertad, ciclo estral, preñez temprana, posparto. Niveles de hormonas esferoidales y su relación con la eficiencia reproductiva. [tesis de doctorado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2001
- 25) Lozano H. Study of sexual characteristics of male and female sheep under high altitude conditions in Colombia. [thesis PhD] Belgium: University the Namur; 2015. and female sheep under high altitude conditions in Colombia. [thesis PhD] Belgium:
- 26) IDEAM. Reporte del clima febrero - diciembre. 2013. Disponible en <http://institucional.ideam.gov.co>
- 27) Lozano Márquez H. 2014. Reproducción ovina en Colombia. *Revista Ciencia Animal*.
- 28) Moonmanee T, Yammuen-art S. 2015. Relationships among Feed Intake, Blood Metabolites, Follicle Size and Progesterone Concentration in Ewes Exhibiting or Not Exhibiting Estrus after Estrous Synchronization in the Tropics. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 5:151-158.
- 29) O'Connell AR, Hurst PR, Davis GH, McNatty KP, Taylor SL, Juengel JL. 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.
- 30) Oliveira ME, Ayres H, Oliveira LG, Barros FF, Oba E, Bicudo SD, Bartlewski PM, Fonseca JF, Vicente WR. 2016. Effects of season and ovarian status on the outcome of long-term progesterone-based estrus synchronization protocols and ovulatory follicle development in Santa Ines ewes under subtropical conditions. *Theriogenology* 85(3):452-60.

- 31) Ortman R. 2000. Monitoring of estrous cycle of ewes by ram-seeking behavior. *Small Ruminant Research* 37(1–2):73-84.
- 32) Osorio, M. y López, A. M. Evaluación de parámetros productivos y reproductivos en los cruces de cuatro razas ovinas. [tesis de grado]. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia; 1993.
- 33) Ottobre JS, Lewis CS, Thayne WV, Inskeep EK. 1980. Mechanism by Which Progesterone Shortens the Estrous Cycle of the Ewe. *Biology of Reproduction* 23(5):1046-1053.
- 34) Pangas SA, Rajkovic A. 2015. Chapter 21 - Follicular Development: Mouse, Sheep, and Human Models. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press. p. 947-995.
- 35) Pevsner DA, Rodriguez Iglesias RM, Ciccioli NH. 2010. Ram-induced oestrus and ovulation in lactating and weaned Corriedale ewes. *Animal* 4(3):472-9.
- 36) Pierce BN, Hemsworth PH, Rivalland ETA, Wagenmaker ER, Morrissey AD, Papargiris MM, Clarke IJ, Karsch FJ, Turner AI, Tilbrook AJ. 2008. Psychosocial stress suppresses attractivity, proceptivity and pulsatile LH secretion in the ewe. *Hormones and Behavior* 54(3):424-434.
- 37) Quirke JF, Stabenfeldt GH, Bradford GE. 1983. Resumption of ovarian function in autumn lambing Dorset, Rambouillet and Finnish Landrace ewes. *Theriogenology* 19(2):243-248.
- 38) Rodrigues Paula, Coelho L, Keico N, Aya S, Carvalho J y Ramos E. Annual characteristics of estrous activity in wool and hair ewe lambs under subtropical conditions. *Scientia Agricola*. 2007; 64(5):468-475.
- 39) Rodríguez, O. 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]. Bogotá: Universidad de La Salle, Colombia; 2004.
- 40) Rodríguez Iglesias RM, Ciccioli NH, Ferrería J, Pevsner DA, Rosas CA, Rodríguez MM, Pedrueza JR. 2013. Short-lived corpora lutea syndrome in anoestrous ewes following 17 β -oestradiol or MAP treatments applied before an allogenic sexual stimulation with rams and oestrous ewes. *Animal Reproduction Science* 136(4):268-279.
- 41) Ronquillo JCC, Martínez AP, Pérez CMB, Sandoval BF, Martin GB, Valencia J, Gallegos Sánchez J. 2008. Prevention of suckling improves postpartum reproductive responses to hormone treatments in Pelibuey ewes. *Animal Reproduction Science* 107(1–2):85-93.
- 42) Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. 2003. Response of the 1–5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 α . *Animal Reproduction Science* 78(1–2):47-55.
- 43) Sangha GK, Sharma RK, Guraya SS. 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research* 43(1):53-64.
- 44) Seekallu SV, Toosi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, Rawlings NC. 2010a. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology* 73(5):670-680.
- 45) Seekallu SV, Toosi BM, Ziegler A, Reeves JJ, Rawlings NC. 2010b. Pulsed GnRH secretion and the FSH secretory peaks that initiate ovarian antral follicular wave emergence in anestrous ewes. *Animal Reproduction Science* 120(1–4):56-64.
- 46) Shabankareh HK, Habibizad J, Torki M. 2009. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. *Animal Reproduction Science* 114(4):362-369.
- 47) Skinner DC, Harris TG, Evans NP. 2000. Duration and Amplitude of the Luteal Phase Progesterone Increment Times the Estradiol-Induced Luteinizing Hormone Surge in Ewes. *Biology of Reproduction* 63(4):1135-1142.
- 48) Smith JF, Drost H, Fairclough RJ, Peterson AJ, Tervit HR. 1976. Effect of age on peripheral levels of progesterone and oestradiol-17 β , and duration of oestrus in Romney Marsh ewes. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 19(3):277-280.
- 49) Stouffer RL, Hennebold JD. 2015. Chapter 23 - Structure, Function, and Regulation of the Corpus Luteum. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press. p. 1023-1076.

- 50) Suárez Rodríguez R. Edad y peso a la pubertad y comportamiento reproductivo en ovejas mestizas y criollas. [tesis de grado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 1993.
- 51) Turner AI, Canny BJ, Hobbs RJ, Bond JD, Clarke IJ, Tilbrook AJ. 2002. Influence of sex and gonadal status of sheep on cortisol secretion in response to ACTH and on cortisol and LH secretion in response to stress: importance of different stressors. *J Endocrinol* 173(1):113-22.
- 52) Ungerfeld R, Rubianes E. Effectiveness of short progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim Sci.* 1999; (68): 349-353.
- 53) Ungerfeld R, Rubianes E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research* 46(1):63-66.
- 54) Uribe-Velásquez, Luis Fernando; Restrepo-Cadavid, Ramiro y Osorio, José Henry. Cambios en la secreción de los esteroides ováricos y de la hormona luteinizante durante el ciclo estral en la oveja. *Biosalud.* 2010; 9(1): 64-78 Valasi I, Theodosiadou E, Fthenakis GC, Papanikolaou T, Deligiannis C, Kalogiannis D, Chadio S, Amiridis GS. 2013. Endocrinological profile and follicular development in cyclic ewes subjected to repeated ovum pick-up. *Animal Reproduction Science* 138(3–4):180-187.
- 55) van Lier E, Pérez-Clariget R, Forsberg M. 2003. Sex differences in cortisol secretion after administration of an ACTH analogue in sheep during the breeding and non-breeding season. *Animal Reproduction Science* 79(1–2):81-92.
- 56) Vejarano OA. 1993. Cuantificación de líneas celulares de defensa en sangre y endometrio y su relación con niveles séricos de progesterona durante el ciclo estral en ovejas [Bogotá]: Universidad Nacional de Colombia.
- 57) Zarco L, Rodríguez EF, Angulo MRB, Valencia J. 1995. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Animal Reproduction Science* 39(4):251-258.

4. Secuencia de cambios de progesterona sérica durante el ciclo estra normal, preñez temprana y hembra repetidora en ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano.

¹Alvarado García P. ^{a,b,c} ; Grajales H. ^{a,b,c} //
paalvaradog@unal.edu.co - hagrajalesl@unal.edu.co

^a Departamento de Ciencias para la Producción Animal; ^bLaboratorio de Reproducción - Centro de Investigación Desarrollo Tecnológico y Extensión Ovino- CIDTEO. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. ^cGrupo de investigación: Gestión Tecnológica e Innovación en Sistemas Pecuarios - SIGETEC

Abstract

The levels of progesterone (P₄) of the normal estrous cycle (CN) were compared with those of early pregnancy (CPñ) and female Repeater (CR). Adult (n=32) Creole, Corriedale, Hampshire and Romney Marsh ewe were followed during estrous cycle, mating, and pregnancy. Blood sampling was collected three times a week, recording the day of mating. P₄ quantification analysis (ELISA) was performed by enzyme-immuno and P₄ profiles were analyzed using a statistical model of repeated (GLM, SAS 2011) time measurements. No significant differences were found (P>0,05) in the levels of P₄ between CPñ and CN for 12-14 days post-ovulation. Profile of CR presents variations on luteal function with low levels of P₄; indicating possible early functional luteolysis, which is would anticipate the necessary embryonic signal that gives the maternal recognition of pregnancy, which would lead to early embryonic mortality. Shows that P₄ profiles are lower for the Corriedale and Romney Marsh breeds, in reference to what was observed in ewe Creole, a factor that can be associated with differences in reproductive efficiency between these groups. It should a continued work would allow to under the mechanisms that determine the activity of the corpus luteum, variations in P₄ secretion during the estrous, and how to determine its life time programming (functional luteolysis - structural), determining modulator phenomenon during the maternal recognition of pregnancy, which leads to embryonic survival.

Keywords:

Ewe, pregnancy, embryo survival, luteolysis and tropical high

Resumen

Se compararon los niveles de progesterona (P_4) del ciclo estral normal (CN), con los de preñez temprana (CPñ) y hembra repetidora (CR). Ovejas adultas (n32) Criollas, Corriedale, Hampshire y Romney Marsh se siguieron durante ciclo estral, apareamiento y preñez. El muestreo sanguíneo se realizó tres veces por semana, registrando el día de la monta. La cuantificación de P_4 se realizó por enzimo-inmuno análisis (ELISA) y los perfiles de P_4 se analizaron con modelo estadístico de medidas repetidas en el tiempo (GLM, SAS 2011). No se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) en los niveles de P_4 entre CPñ y CN durante los días 12-14 pos-ovulación. El perfil de CR presenta variaciones en la función lútea con bajos niveles de P_4 , indicando posible luteólisis funcional anticipada, que se anticiparía a la señal embrionaria necesaria para que se dé el reconocimiento materno de la preñez, que conduciría a mortalidad embrionaria temprana. Se observa que los perfiles de P_4 son más bajos en el diestro para la raza Corriedale y Romney Marsh, en referencia a lo observado en las hembras Criollas, factor que puede estar asociado a las diferencias en eficiencia reproductiva entre estos grupos. Se debe seguir trabajando para entender los mecanismos que determinan la actividad del cuerpo lúteo (P_4), sus variaciones en la secreción de P_4 durante el meta-estro y diestro, y en cómo se determina su programación de tiempo de vida (luteólisis funcional – estructural), fenómeno modulador determinante durante el reconocimiento materno de la preñez, que conlleva a la supervivencia embrionaria.

Palabras Claves

Hembra ovina, preñez, supervivencia embrionaria, luteolisis y trópico alto

4.1. Introducción

La eficiencia reproductiva de los rebaños ovinos constituye uno de los principales factores económicos dentro la producción. La selección racial busca mejores características en los parámetros reproductivos como la fertilidad, supervivencia embrionaria (SE), fecundidad, tasas de preñez y prolificidad.

El momento y la extensión de las pérdidas reproductivas se han revisado ampliamente, encontrando que pueden ser influenciadas por la población folicular, la tasa de ovulación y la ocurrencia de pérdidas embrionarias tempranas. Del 5 a 10% lo conforma el fracaso en la fertilización (Quinlivan et al., 1966). Un 30 a 40% lo constituyen pérdidas previo al periodo de implantación, como consecuencia de una inadecuada actividad del embrión para lograr prevenir la luteolisis y mantener la secreción de progesterona (P_4) necesaria para su continuo desarrollo (O'Connell et al 2013). Y del 70 a 80% son pérdidas durante la preñez temprana por fallas debido a problemas de mortalidad embrionaria (Hashem et al 2015).

Numerosos factores endocrinos, celulares y moleculares, determinan el mantenimiento o la pérdida de la preñez en etapas iniciales, donde se evidencia que el mecanismo hormonal interactúa con determinados factores para desencadenar el adecuado desarrollo embrionario. El mecanismo neuroendocrino inicia con el periodo del pico preovulatorio, donde la hormona luteinizante (LH) induce la ovulación y luteinización del folículo, dando lugar a la formación del cuerpo lúteo (CL) (O'Connell et al 2013). El CL es una glándula endocrina transitoria que se caracteriza por secretar progesterona (P_4) hormona esencial para el mantenimiento de la preñez y regulación del estro. El CL está compuesto de dos tipos de células esteroidogénicas: células lúteas grandes y células lúteas pequeñas (Stouffer y Hennebold 2015). Las células lúteas grandes tienen mayor capacidad esteroidogénica porque bioquímicamente la proteína quinasa A (PKA) se encuentra constitutivamente activa, permitiéndole secretar aproximadamente 7 veces más P_4 . Por el contrario, las células lúteas pequeñas contienen más receptores para la LH (Sangha et al 2002).

Durante la fase lútea la P_4 tiene función en la regulación de la expresión de receptores para la oxitocina (OT) en el útero, induciendo la presencia de altos niveles de receptores para P_4 en el endometrio (modulación en alta), con lo cual se inhibe la expresión de los receptores para estrógenos (RE) y para oxitocina (ROT), fenómeno que se conoce como el "bloqueo de la P_4 " (Costine et al 2007; Stouffer y Hennebold 2015). No obstante, la misma P_4 comienza a ejercer gradualmente una regulación para la disminución de la expresión de sus propios receptores (modulación baja) en el epitelio luminal, perdiendo así su habilidad para suprimir la expresión endometrial de los RE y ROT, por lo cual en el caso de existir preñez el embrión debe extender el "bloqueo de la P_4 ", previniendo así la producción pulsátil de prostaglandina F_2 alfa ($PGF_{2\alpha}$) mediante la secreción de IFN- τ (factor luteotrópico) (Stouffer y Hennebold 2015). Con lo anterior, se enfatiza que la P_4 regula el momento de la siguiente luteólisis en el caso que no exista preñez, o actúa en el útero estimulando y manteniendo funciones necesarias para el desarrollo embrionario temprano con la finalidad de llevar a cabo la implantación, placentación y el exitoso desarrollo fetal.

Se puede afirmar que el ciclo estral es dependiente de la acción del endometrio (epitelio luminal y glandular superficial), donde la pérdida de secreción de P_4 al final del ciclo (12 - 14 días), se produce por la acción antiluteal de la $PGF_{2\alpha}$, hormona secretada por el útero y transporta desde el endometrio a través de la vena uterina y arteria ovárica adyacente de la estructura lútea en el ovario en un llamado "sistema de contracorriente" (Costine et al 2007; Sangha et al 2002). La $PGF_{2\alpha}$ inicia la luteólisis funcional, que consiste en la pérdida de la capacidad de sintetizar P_4 , y luteólisis estructural que se completa con la involución del CL. Se ha demostrado que para que se produzca la luteólisis es necesario que el CL se exponga entre 5 a 8 pulsos de $PGF_{2\alpha}$ con intervalos de 6 a 8hs, pulsatilidad que se obtiene en respuesta a la unión de OT con su respectivo receptor en el endometrio uterino. La liberación pulsátil de OT proviene del hipotálamo y su almacenamiento en la neurohipófisis y del CL, mediante un efecto de retroalimentación positiva (O'Connell et al 2013).

Con lo anterior, es ampliamente aceptado que los niveles adecuados de P_4 pos-servicio se requieren para permitir el ambiente uterino y desarrollo del conceptus (O'Connell et al 2013). Este efecto antiluteolítico del IFN- τ , resulta en el mantenimiento estructural y

funcional del CL, por lo tanto, se asegura la secreción de P_4 que es esencial para mantener un ambiente uterino que soporte los acontecimientos críticos para el desarrollo exitoso del concepto (O'Connell et al 2013; Bilby et al., 2004).

La medición de progesterona puede utilizarse para supervisar la preñez y estimar pérdidas embrionarias, pues la P_4 se mantiene en niveles elevados durante toda la gestación (deNicolo et al 2009). Aquellos animales que experimentan pérdidas embrionarias, retornan al estro y este evento suele presentarse antes del día 30 de gestación (deNicolo et al 2009). Además, el CI anormal tiende a secretar bajas concentraciones de progesterona, por lo que la cuantificación de P_4 en sangre es útil para evaluar función lútea. El objetivo de este estudio es generar información de los eventos fisiológicos mediante los niveles de progesterona durante la preñez temprana en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano.

4.2. Hipótesis

La secreción de progesterona durante la preñez temprana varía según el biotipo racial

4.3. Objetivo

Comparar los niveles de progesterona del ciclo estral regular, el ciclo de la hembra preñada y el de la hembra repetidora en los cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones de trópico alto colombiano

4.4. Materiales y métodos

4.4.1. Localización

El experimento se desarrolló en El Centro de Investigación, Desarrollo Tecnológico y Extensión Ovino (CIDTEO), ubicado en el Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia en Mosquera Cundinamarca, a 4° 42' de latitud norte y 74° 12' de longitud oeste, altitud de 2650 msnm temperatura variable entre 6,4° C y 20,9° C, humedad

relativa de 80% a 87% y la precipitación oscilo entre 21,5 mm y 104 mm (en época de sequía o lluvia respectivamente). La intensidad lumínica se mantuvo constante durante el periodo, encontrando una variación menor a 0,5 horas/día (IDEAM 2013) Ver Figura variables ambientales 2-1.

4.4.2. Diseño experimental

- **Animales experimentales y manejo**

32 ovejas adultas fueron seleccionadas para el experimento, 8 animales por cada biotipo racial, comprendiendo las razas: Criolla Colombiana, Romney Marsh, Hampshire y Corriedale. Todos los animales fueron manejados en potreros bajo pastoreo alterno, en sistema de cría libre, con praderas compuestas principalmente Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y ray-grass italiano (*L. multiflorum*) en una proporción 70/30 respectivamente. Adicionalmente fueron suplementadas con: 300 gr de concentrado, 300 gr de silo de maíz, 6ml glicerol, 10 gr de sal y con agua a disposición, para mantener el cubrimiento de las necesidades nutricionales de los animales y procurar durante todo el periodo de evaluación un comportamiento fisiológico normal.

- **Peso y condición corporal**

Datos de peso y condición corporal (escala de 1= emaciada a 5= obesa) (Corner-Thomas et al 2015; Álvarez-Rodríguez et al 2009) fueron registrados mensualmente durante todo el experimento

- **Apareamiento**

Las ovejas estuvieron sujetas a un periodo de apareamiento natural con reproductores previamente probados de acuerdo al tiempo y protocolo que maneja el centro CIDTEO; este consto de 32 días donde el día de la introducción de los reproductores se designó como el día 0 (Pellicer-Rubio et al 2013). Cada macho fue asignado con el mismo número de hembras para eliminar el efecto macho (1 macho por cada raza) (Hashem et al 2015) y estuvieron dotados con un arnés y tizas marcadoras para registrar el servicio.

▪ **Determinación de preñez**

Al final del periodo de estudio y al día 35 pos-servicio aproximadamente se realizó ecografía para determinar preñez, utilizando un ecógrafo Piemedical con transductor lineal de 7.5 MHz.

4.4.3. Protocolo de muestreo

Se tomaron muestras de sangre, tres (3) veces por semana a la misma hora (8:00 a 10:00), mediante la técnica de venopunción de la yugular (5 ml), en tubos vacutainer con heparina (Becton Dickinson®, Rutherford, NJ, USA) para evaluar los niveles séricos de progesterona durante el periodo de apareamiento y preñez temprana constituyendo el experimento 3, Ver Figura 2-2. Las muestras debidamente rotuladas, se llevaron inicialmente al Laboratorio de apoyo del Centro de investigación CIDTEO en donde se centrifugaron a 1200 x g durante 10 minutos para obtener el plasma sanguíneo, se dividieron en dos alícuotas (A y B) y se almacenaron en viales debidamente marcados a una temperatura de (-70 ° C) hasta su traslado al Laboratorio de Hormonas.

4.4.4. Ensayo Hormonal

La concentración de progesterona fue medida con el kit comercial ELISA inmunoensayo (DSI® RH-351, Italy), en el Laboratorio de Hormonas de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. El kit fue seleccionado para evaluar los niveles de progesterona de las muestras del experimento en duplicado mediante una curva lineal de calibración que contiene un rango de calibradores entre entre 0,1 a 3,5 ng/ml de progesterona en plasma. El calibrador 4 del kit y el calibrador 0 fueron utilizados como control positivo y negativo respectivamente . El ensayo conto con el 95% de certeza, un límite inferior de sensibilidad de 0,1 ng/ml y un coeficiente de variación inter-ensayo e intraensayo de 4,2 y 3,6 respectivamente.

4.5. Criterios para el manejo de variables

El ciclo estral regular (CR) se definió como el comportamiento estral con manifestación de estro observado, que estuvo respaldado por una función luteal basada en el mantenimiento de los niveles de progesterona por encima de 1ng/ml presente por un periodo de tiempo determinado.

El ciclo de preñez temprana (CPñ) se definió como el comportamiento estral con manifestación de calor observado durante el cual se realizó un servicio, que estuvo respaldado por una función lútea basada en el mantenimiento de los niveles de progesterona por encima de 1 ng/ml desde los 5 días pos-servicio hasta más allá de los 25 a 30 días, confirmando positivamente una preñez previamente evaluada por ecografía.

4.6. Aval del comité de ética para la experimentación animal

El trabajo se realizó bajo el concepto aprobatorio del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia – UNAL Bogotá emitido el 1° de noviembre de 2012 (Acta 10).

4.7. Análisis estadístico

Utilizando estadística descriptiva se observó y analizó el comportamiento de las variables dentro y entre los grupos raciales

Las variables cuantitativas fueron analizadas con un diseño unifactorial 4 (razas), usando para el análisis el procedimiento ANAVA GLM del programa de análisis estadístico (SAS 2011).

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + E_{ijk}$$

$i=1,2,\dots,r$

$j= 1,2,\dots,a;$

$k= 1,2,\dots,b$

Y_{ij} = Variables de reactivación ovárica en el anestro pos parto (día) (Número)

μ = La media.

α_j = El efecto de la j-ésima raza

β_k = Efecto del nivel k del tipo de parto.

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Efecto de la combinación del nivel j de la raza y el nivel k del tipo de parto. (Efecto de la interacción AB, periodo y condición corporal).

E_{ijk} = Error experimental.

La comparación de medias se realizó empleando el método de Tukey

4.7.1. Modelo de dinámica de progesterona

Los perfiles de P_4 durante el ciclo estral y preñez temprana se analizaron en función de la raza. Los datos fueron normalizados por ovulación (día 0) y posteriormente analizados usando medidas repetidas General Lineal Model (GLM) procedimiento SAS, 2011.

$$y_{ijk} = \mu + R_j + J(R)_{ij} + D_k + (R * D)_{jk} + e_{ijk}$$

y_{ijk} = Es la medición del animal i, en el día k, anidado la raza j

μ = El promedio

R_j = El efecto de la j-ésima raza

$(R)_{ij}$ = El efecto de la i-ésima hembra anidada en la j-ésima raza.

D_k = El efecto del k-ésimo día de medición

$(R*D)_{jk}$ = El efecto de la interacción entre la j-ésima raza y el k-ésimo día.

e_{ijk} = El error

Los valores de tasa de concepción para los diferentes grupos raciales fueron analizados con la prueba no paramétrica.

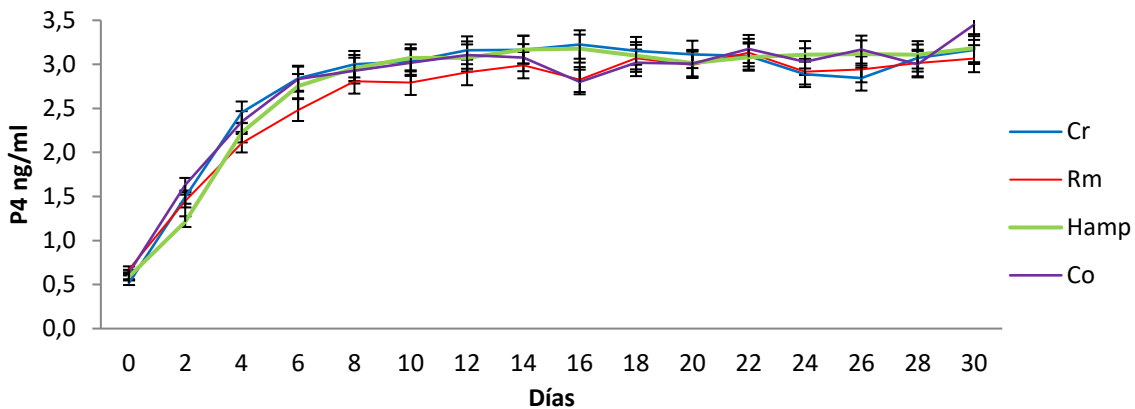
4.8. Resultados

4.8.1. Preñez temprana

Los perfiles de P_4 son similares durante los primeros 12 días para el ciclo regular como en el ciclo de la hembra preñada. Los niveles de P_4 en la hembra preñada, durante la fase folicular están entre $0,54 \pm 0,07$ ng/ml en general; con un aumento gradual de la actividad luteal que se maximiza en la fase lútea tardía, evidenciando hacia el día 10 pos-servicio concentraciones de $2,95 \pm 0,20$ ng/ml. Entre el día 12-14 un leve aumento ($3,08 \pm 0,14$ ng/ml)

es típico y alcanzan el nivel máximo hacia el día 24 -30 ($3,22 \pm 0,17$ ng/ml). No se presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los grupos raciales evaluados.

Figura 4-1. La media de la concentración plasmática de progesterona (P_4) durante la preñez temprana



Media y desviación estándar de las concentraciones de progesterona durante el ciclo de la hembra preñada de cuatro tipos raciales ovinos en trópico alto. Día 0 representa la ovulación.

Al menos una hembra por cada biotipo racial repitió estro durante el periodo de apareamiento. Las hembras repetidoras del grupo Criolla, Romney Marsh, Hampshire y Corriedale (Figuras 4-2 – 4-5 respectivamente) presentaron una caída prematura en las concentraciones de progesterona alrededor del día 11 -12. En comparación con una hembra del biotipo Hampshire que presentó una fase lutea más larga pero que al día 16 cayeron los niveles de progesterona, esta hembra venía realizando ciclos estrales regulares (14-19 días) por lo que puede considerarse una pérdida embrionaria temprana. Por último una hembra del grupo Corriedale se observa altos niveles de P_4 durante la fase lutea temprana y media conduciendo a una alteración del modelo endocrino que conduce a fallas en la preñez.

Figura 4-2 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Criolla.

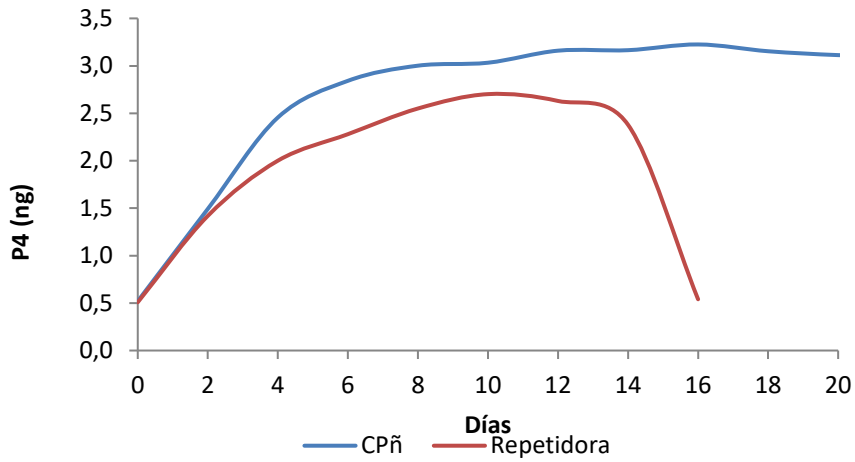


Figura 4-3 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Romney Marsh

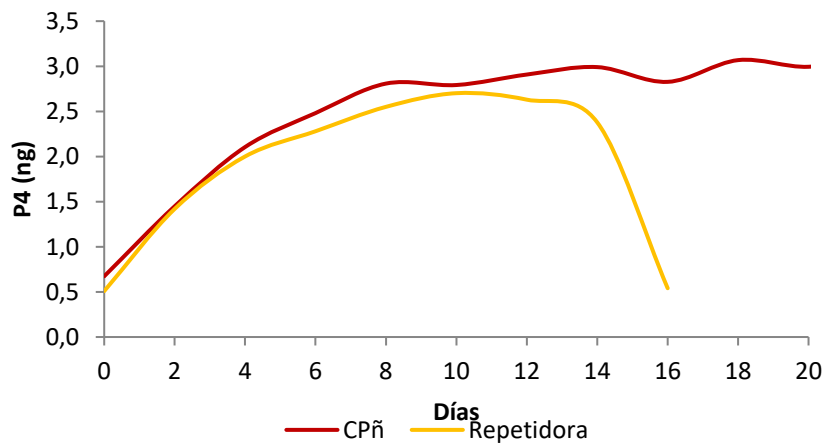


Figura 4-4 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Hampshire

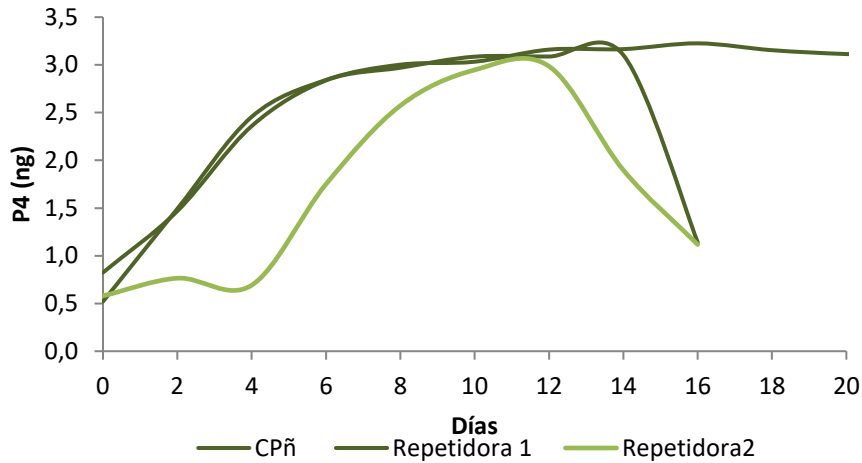
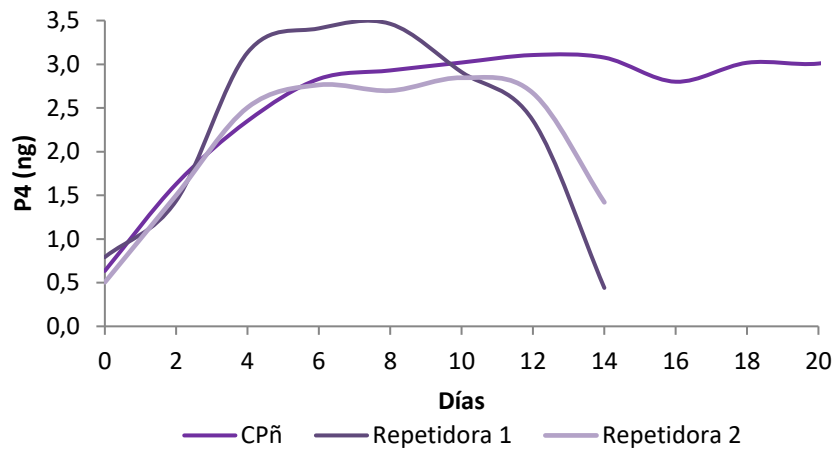


Figura 4-5 Concentración plasmática de progesterona durante la preñez temprana y el ciclo estral de una hembra repetidora en el grupo Corriedale



4.8.2.. Tasa de preñez

A continuación, se presentan las tasas de preñez para cada uno de los grupos raciales evaluados durante un apareamiento de 32 días correspondiente a dos servicios.

Tabla 4-1. Tasa de concepción durante el periodo de apareamiento (32 días) en los grupos raciales evaluados

Biotipo racial	1 Servicio		2 servicio		total	
	n	%	n	%	n	%
Criolla	7	87,5	1	12,5	8	100
Romney Marsh	7	87,5	1	12,5	8	100
Hampshire	6	75	2	25	8	100
Corriedale	6	75	1	12,5	7	87,5

4.9. Discusión

La actividad del CL se determinó mediante los niveles de progesterona a través del ciclo estral de una hembra (CPñ). 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 reflejando mayores porcentajes de preñez; además, autores como Kandiel et al., (2016) 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. La concentración media de P₄ no arroja diferencias significativas respecto al día en los grupos evaluados (P= 0,20) Figura 4-1. Sin embargo, los datos corroboran la importancia de la progesterona como modulador directo o indirecto del mecanismo luteolítico (O'Connell et al 2013). Sobre la base del presente estudio y de acuerdo a la revisión de literatura previa, se deduce que la actividad uterina está directamente influenciada por la acción de la progesterona (O'Connell et al 2013) al controlar el desarrollo de los mecanismos uterino, estimulando la producción de secreciones endometriales necesarias para el desarrollo del embrión que determinan su capacidad para la producción de la señal antiluteolítica del Interferon- Tau.

Al comparar los perfiles de P₄ durante las fases del ciclo estral en la preñez temprana, se presentó un comportamiento típico al reportado durante el ciclo regular con variaciones a partir de la fase lutea 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 (Figura 4-1). Notablemente hacia los días 14 al 16 los niveles de progesterona evidenciaron una leve caída. Los perfiles de P_4 durante la fase lútea son similares en concentración y duración a la referencia de Costine et al (2007), deNicolo et al (2009) y O'Connell et al (2013) permitiendo la supervivencia embrionaria. Se observa mayor variabilidad durante el metaestro (1-5 días); enfatizando con resultados y en base a la investigación deNicolo et al., (2009) que sobre el día 6-8 (concepción) y 12-14 (implantación) existe la mayor variabilidad porque comprende periodos críticos para la supervivencia embrionaria (Figura 4-1) y son etapas donde existe alta relación de la actividad del cuerpo lúteo con el establecimiento o no de la preñez. El establecimiento de la preñez enfrenta un "periodo crítico" muy definido entre los días 12 a 14; se considera 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), bloqueando de esta manera la síntesis de $PGF_{2\alpha}$ producida a nivel endometrial lo que impide la luteosis y garantiza la vida del cuerpo luteo (Costine et al 2007). Adicionalmente, los autores deNicolo et al., (2009) sustentan que durante los días 12 y 20, las ovejas preñadas en temporada reproductiva (otoño), suelen tener concentraciones de P_4 más altas que aquellas ovejas preñadas en primavera, indicando que la época del año afecta los perfiles de progesterona específicamente al día 12 ($P < 0,05$).

Al comparar los niveles de progesterona durante el ciclo temprano de gestación vs. el ciclo estral de la hembra repetidora, se destaca una concentración más alta de P_4 en todos los biotipos raciales durante la fase lútea temprana en el ciclo de la preñez. Figura 4-2 a 4-5. Por consiguiente, las concentraciones de progesterona en ovejas no preñadas fueron menores en la fase lútea temprana y media. Los resultados pueden explicarse por la alteración de la esteroidogénesis (perfiles de la hembra repetidora). Además, se sugiere que el fracaso reproductivo en ovejas con bajos perfiles de P_4 puede estar relacionado con una disminución en la expresión de receptores afectando el rendimiento reproductivo, debido a que las concentraciones de P_4 regulan la expresión de los receptores en el útero y el endometrio, recibiendo la señal antiluteolítica poco adecuada, que no causa el bloqueo de la producción de la $PGF_{2\alpha}$ endometrial, lo que desencadena la lisis del CL, teniendo en

cuenta que el mantenimiento de la preñez es dependiente de la funcionalidad del mismo, afectando el desarrollo embrionario temprano. Las pérdidas embrionarias (Figura 4-4) podrían estar ocurriendo por una señal débil o inadecuada para la inhibición de la síntesis de prostaglandina uterina (Palma, 2008). Investigaciones han demostrado que las ovejas con buena supervivencia embrionaria (SE) presentan mayores concentraciones circulantes de P₄ durante la gestación temprana, al compáralas con aquellas ovejas de historial de SE reducida; indicando que la selección está dada por la diferencia fisiológica de la SE de manera natural en la especie (O'Connell et al 2013) y las variaciones en la actividad luteal entre las fases del ciclo pueden estar asociadas con la tasa de fertilidad en los grupos raciales del estudio. En contraste, para el caso del perfil manifestado por una hembra Corriedale (Figura 4-5), el cual los perfiles de P₄ fueron considerablemente altos durante la fase lutea media y tardía, se puede plantear la hipótesis de que “los niveles suprabasales de progesterona en el periodo estral provocan un retardo de la oleada preovulatoria de hormona luteinizante, promoviendo que el folículo preovulatorio sea más grande y tenga una vida media más larga” lo que ocasiona el excesivo crecimiento del folículo causando un desajuste en la maduración del oocito o alterar el medio ambiente uterino - oviductal debido a la prolongada liberación, afectando la fertilización.

El estudio de O'Connell et al., (2013) demostró que los niveles sistémicos de P₄ son menores a lo encontrado en la vena ovárica. La progesterona por el sistema de contracorriente ingresa a la arteria ovárica la cual se anastomosa con la arteria uterina suministrando progesterona local al oviducto y la región apical del útero facilitando el entorno local para la supervivencia del embrión. Los resultados anteriores se producen por el aumento del flujo sanguíneo de la vena ovárica a la arteria uterina indicando un transporte más activo de progesterona. Adicionalmente, para el caso de ovulaciones unilaterales los niveles de progesterona son mayores en la vena uterina contralateral al ovario que presentó el CL. En las ovulaciones dobles, la mayor exposición de progesterona está en cuerno contralateral al ovario multiovular, lo que posiblemente sea esencial para la implantación exitosa.

Las ovejas del grupo Criolla tuvieron mayores tasas de concepción y de fertilidad después de la detección del estro en comparación con el grupo Corriedale. Las concentraciones

altas de P₄ pueden ser las responsables de mejores tasas de preñez (Fierro et al., 2016). También se puede sugerir que mayores concentraciones de P₄, en los ciclos estrales anteriores a la monta, pueden estar relacionadas con mejores tasas de concepción similar a lo referenciado por deNicolo et al (2009). Con lo anterior, se puede inferir que las tasas de preñez y concepción están altamente influenciadas por los perfiles altos de progesterona y su acción local (útero); que desde el día 5 de gestación O'Connell et al (2013) es asociado a una mejor supervivencia embrionaria sumado a la adecuada esteroidogénesis que puede estar influenciada por la genética y un medio ambiente (adaptación) permitiendo la implantación y supervivencia.

La tasa de concepción en este estudio coincide con los resultados de varias investigaciones, por ejemplo, Martínez-Rojero et al., (2011) encontraron una tasa de fertilidad alta en época reproductiva (94,7%) al igual que (Álvarez-Rodríguez et al 2009), quienes reportan una tasa de concepción del 89%. En contraste (deNicolo et al 2009) reportan una tasa baja de preñez (46,4%) en ovejas apareadas fuera de temporada en comparación con ovejas apareadas en época reproductiva (72,7%) en condiciones de pastoreo (P<0,001). Con respecto al grupo racial (deNicolo et al 2006) reportan un 36 % en la tasa de fertilidad para hembras Romney Marsh en época no reproductiva; mientras que Rosa et al (2007) reporta un 91% y Quinlivan et al., (1966) indicaron de un 91, 1% a 97,5% para la raza Romney en sistemas con monta natural en Nueva Zelanda. Otros estudios evaluaron diferentes métodos de sincronización reportando una tasa de preñez de 43,8% en la raza Romney (Meilán y Ungerfeld 2014) y en la raza Corriedale 41,7 (Fierro et al., 2106) Estudios demuestran que la fertilidad del 90% se alcanza con una condición corporal de 3,5, mientras que las tasas de reproducción alcanzaron un máximo de 100% con un 3.0 de CC; aparente la relación indica que hay un punto en el que no hay beneficios si se excede la C.C sobre todo por encima de 4.0 (Corner-Thomas et al 2015); lo que sugiere en el presente estudio que los animales tenían una óptima CC para el apareamiento (día 140 en promedio- Figura 2-10). Con lo anterior y en referencia con los resultados se puede inferir que no existe efecto estacional marcado en nuestro medio, ya que las tasas de fertilidad pueden ser comparadas con aquellos reportes emitidos bajo épocas reproductivas en países estacionales y considerando que el apareamiento fue realizado en época seca en Colombia IDEAM (2013). Figura 2-1. Además, Lozano

Márquez (2014) sugiere que porcentajes de preñez menores al 80%, para grupos de cría en ambientes tropicales, puede considerarse desfavorables ya que es uno de los criterios (porcentaje de preñez e intervalo entre partos) para indicar la adaptación de una raza a un ambiente determinado.

Se necesitan estudios detallados de morfología y funcionalidad de la calidad de los folículos, oocitos y embriones para determinar las razones de esta función androgénica alterada.

4.10. Conclusiones

Los perfiles de P_4 durante las fases del ciclo estral en la preñez temprana presenta un comportamiento típico y semejante al reportado durante el ciclo regular con diferencias a partir de la fase lútea tardía (día 12- 14 pos-servicio) cuando se hace evidente la persistencia del cuerpo lúteo, que coincide con el fenómeno del reconocimiento temprano de la preñez. Los datos corroboran la importancia de la progesterona como modulador directo o indirecto del mecanismo luteolítico, estimulando la producción de secreciones endometriales necesarias para el desarrollo del embrión.

Los niveles de P_4 en el ciclo de la hembra repetidora varían en la fase lútea temprana y media disminuyendo rápidamente hacia el día 12 indicando la regresión funcional y estructural del cuerpo lúteo. Las ovejas que repitieron estro (hembra repetidora) eran más propensas a presentar luteolisis prematura y un aparentemente un cuerpo lúteo que secreta bajos niveles de progesterona. Las alteraciones en los niveles de P_4 son la causa de las fallas en la preñez destacándose animales con presentación de perfiles de progesterona particulares “individualidad de perfiles hormonales” que contribuyen a aumentar los índices de mortalidad embrionaria (ME), probablemente asociados a una selección natural ineludible, la cual busca la eliminación de genotipos poco competentes.

Con base en estos datos se puede sugerir que la determinación de los niveles de progesterona en la fase lútea podría emplearse como predictores de fertilidad, con objeto de mejorar la eficiencia reproductiva en los sistemas de producción animal. Además, las

razas en general tienen un buen comportamiento reproductivo presentando porcentajes de preñez entre el 75 a 100%, bajo las condiciones propias del experimento, lo que sugiere un porcentaje favorable que indica adaptación a una zona determinada.

4.11.Referencias

1. 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
2. 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.
3. Costine BA, Inskoop EK, Blemings KP, Flores JA, Wilson ME. 2007. Mechanisms of reduced luteal sensitivity to prostaglandin F2 α during maternal recognition of pregnancy in ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 32(2):106-121.
4. deNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH. 2006. Effect of weaning pre- or post-mating on performance of spring-mated ewes and their lambs in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 49(3):255-260.
5. deNicolo G, Parkinson TJ, Kenyon PR, Morel PCH, Morris ST. 2009. Plasma progesterone concentrations during early pregnancy in spring- and autumn-bred ewes. *Animal Reproduction Science* 111(2–4):279-288.
6. Fierro S, Olivera-Muzante J, Gil J, Viñoles C. 2011. Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology* 76(4):630-639.
7. Fierro S, Viñoles C, Olivera-Muzante J. 2016. Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized with different prostaglandin-based protocols. *Animal Reproduction Science* 167:74-82.
8. Hashem NM, El-Azrak KM, Nour El-Din ANM, Taha TA, Salem MH. 2015. Effect of GnRH treatment on ovarian activity and reproductive performance of low-prolific Rahmani ewes. *Theriogenology* 83(2):192-198.
9. IDEAM. 2013. Reporte del clima 2013 Febrero - Diciembre. <http://institucional.ideam.gov.co>.
10. Lozano Márquez H. 2014. Reproducción ovina en Colombia. *Revista Ciencia Animal*.
11. Martínez-Rojero RD, Santamaría LR, Hernández GT, Lagunas AAM, Aceves ACM. 2011. Evaluation of fertility and prolificacy in reproductive cycles each eight months during three seasons in pelibuey ewes from the dry Mexican tropic. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia* 21(5):383-387.

12. Meilán J, Ungerfeld R. 2014. Does introduction of rams during the late luteal phase promote the estrus response in cyclic ewes? *Small Ruminant Research* 120(1):116-120.
13. O'Connell AR, Hurst PR, Davis GH, McNatty KP, Taylor SL, Juengel JL. 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.
14. Pellicer-Rubio M-T, Touzé J-L, Baril G, Malpaux B. 2013. The luteal outcome of anoestrus ewes induced to ovulate by the male effect is not related to the population of ovarian antral follicles before male exposure. *Animal Reproduction Science* 137(1–2):23-30.
15. Rosa HJD, Ventura PFM, Sousa JT, Moreira D, Borba AES, Rego OA. 2007. Productive and reproductive performance of Romney Marsh and Merino Branco sheep in the Azores under different feeding regimens. *Small Ruminant Research* 67(2–3):296-301.
16. Sangha GK, Sharma RK, Guraya SS. 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research* 43(1):53-64.
17. SIGETEC. 2008. Tecnológica en los Sistemas de Producción de la Cadena Ovino- Caprina para el mejoramiento de su competitividad SIGETEC. Programa de Investigación – Universidad Nacional de Colombia – Universidad de La Salle, Corpoica, ANCO. MADR – Programa Transición de la Agricultura. In: Grajales H, Ospina O, editors.: Desarrollo e implementación de un Sistema de Gestión Bogotá, Enero 2007 –
18. Stouffer RL, Hennebold JD. 2015. Chapter 23 - Structure, Function, and Regulation of the Corpus Luteum. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press. p. 1023-1076.
19. Thomas RA, Ridler AL, Morris ST, Kenyon PR. 2015. Ewe lamb live weight and body condition scores affect reproductive rates in commercial flocks. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 58(1):26-34.

Quinlivan TD, Martin CA, Taylor WB, Cairney IM. 1966. Estimates of preand perinatal mortality in the New Zealand Romney Marsh ewe pre- and perinatal mortality in those ewes that conceived to one service. *J Reprod Fertil*55:37–44.

5. Discusión General, Conclusiones y recomendaciones

5.1. Discusión General

Los resultados del presente estudio fueron obtenidos mediante la evaluación y el análisis de los niveles de progesterona durante la fisiología reproductiva en la hembra ovina. El objetivo general fue investigar acerca del anestro posparto, reactivación y reanudación de la actividad ovárica cíclica, ciclo estral y preñez temprana en cuatro tipos raciales ovinos bajo condiciones particulares del trópico alto colombiano.

Con el fin de estudiar las razas más representativas y productivas en condiciones de trópico alto; el proyecto “Apoyo científico a la mejora de la producción ovina en zona tropical de altitud en Colombia – CIDTEO”, seleccionó el recurso genético local Criolla (tipo lana) y otras 3 bases raciales foráneas, adaptadas a condiciones topográficas y medioambientales por más de 60 años (Romney Marsh, Hampshire y Corriedale). Biotipos ovinos provenientes de las diversas regiones de Colombia y seleccionados según los estándares raciales, debido a la ausencia de los libros genealógicos y de identificación trazable de los animales (SIGETEC, 2008). Los experimentos se llevaron a cabo en el Centro de Investigación (CIDTEO) donde los animales se mantuvieron en condiciones homogéneas con alimentación optimizada para mantener sus necesidades fisiológicas. Este enfoque garantizó los requerimientos estándar de investigación, pero interfiere con las consecuencias de los cambios medioambientales (períodos secos y lluvia) en términos de disponibilidad y calidad de nutrientes. Por lo anterior, se sugieren próximos estudios en las producciones ovinas de las regiones de altitud en Colombia, donde existen condiciones naturales que influyen en la capacidad reproductiva, “condiciones de campo reales” más que en condiciones experimentales.

En diversas investigaciones en la hembra ovina sujetas a condiciones de época reproductiva, demuestran la reactivación ovárica posparto (primera ovulación) se presenta antes del día 35 semejante a los resultados de este ensayo y representando una rápida reactivación ovárica posparto.

Los grupos raciales no mostraron diferencias estadísticas en las variables de reactivación y reanudación ovárica posparto. Sin embargo, la clasificación cualitativa del tipo de actividad ovárica durante la reanudación (basada en el modelo para bovinos) permitió identificar que la raza Criolla tipo lana presenta una actividad ovárica constante y cíclica, clasificando su desempeño como normal alta (tipo 1), resultados que concuerda con la investigación previa y reciente bajo las mismas condiciones experimentales en hembras púberes. La raza Hampshire mostro un aceptable desempeño respecto a la actividad ovárica posparto representando adaptabilidad al trópico. Por el contrario, los grupos de la Corriedale y Romney Marsh presentaron mayor variabilidad con interrupción de la ciclicidad e incluso anovulaciones prolongadas; similar a lo demostrado en razas europeas acondicionadas a zonas ecuatoriales (duración de la intensidad lumínica de 12 horas diarias) con resultados de irregularidad de los ciclos estrales e interrupción de la actividad ovárica, sin evidencia clara de anestro estacional. En Colombia la selección natural por varias décadas ha permitido producir razas ovinas adaptadas al trópico que posiblemente son capaces de reproducirse durante todo el año y dos hipótesis principales pueden plantearse para explicar la casi ausencia de estacionalidad: o bien las hembras son insensibles al fotoperiodo por su adaptación y/o la amplitud es demasiado pequeña en Colombia?

Los cuerpos luteos de corta vida, evidenciados durante la reanudación de la actividad ovárica son comparables en duración y presentación a los reportes de referencia, representando una incidencia del 68% y confirmando que este evento fisiológico es indispensable para el proceso de reanudación de la actividad ovárica cíclica. Aunque mucho se ha especulado sobre la acción de la progesterona secretada por el CL de corta vida previos a la iniciación de la ciclicidad. Los resultados y las referencias permiten afirmar que pequeñas cantidades de progesterona secretadas logran alterar el umbral de sensibilidad causada por los bajos niveles de E_2 a nivel hipotalámico, debido al aumento

en el número de receptores de E_2 indicando efecto de acción neural; las pequeñas cantidades de estradiol secretadas por los folículos son capaces de reestablecer el sistema de retroalimentación positiva induciendo el pico pre-ovulatorio de GnRH/LH provocando la ovulación y la siguiente luteinización. La P_4 como episodio de pre- exposición mínima garantiza la normalidad del CL y adecuada función luteal en el ciclo siguiente y se puede observar en los perfiles de P_4 descritos como actividad ovárica normal alta tipo 1-b (Figura 2-6).

En la hembra ovina, la reanudación de la actividad ovárica posparto estuvo influenciada por numerosos factores, demostrando que la lactancia está fuertemente vinculada con el estado nutricional (balance energético) debido a la notable disminución de la condición corporal lo cual afecta la recuperación ovárica posparto. La reactivación ovárica se da a los $31,8 \pm 14,1$ días en general y la aplicación del destete se llevó a cabo hasta los 74 días en promedio, por lo que el tiempo del destete pudo ser útil para aumentar el peso del cordero y mostrar el comportamiento fisiológico en un sistema de cría libre en Colombia, sin afectar el tiempo de reactivación ovárica posparto. El pico de la lactancia se da entre dos a tres semanas posparto, por lo que el peso y la condición se ven disminuidas justo durante ese periodo debido a la demanda de nutrientes como soporte esencial para la producción de leche, mantenimiento de la cría y una rápida reactivación ovárica posparto. Esta investigación mostró una disminución significativa en el puntaje de CC, evidenciándose por debajo de 2,5 puntos (escala 1 a 5) y disminución del peso mostrando un balance energético negativo (BEN). La hembra criolla obtuvo una mayor capacidad para amortiguar el BEN y responder a procesos adaptativos evidenciados en una mejor respuesta reproductiva; por el contrario, las hembras Romney y Corriedale se demoran más en recuperar la condición corporal posparto por consiguiente se ve afectada las variables alrededor de la reanudación de la actividad ovárica posparto.

El restablecimiento de la ciclicidad posparto, en hembras ovinas tipo lana en condiciones de trópico alto colombiano, puede lograr garantizar una buena eficiencia reproductiva buscando reducir el intervalo entre partos (IEP) a 8 meses con el objetivo de obtener 3 crías cada dos años (1,5 partos/año/oveja). Sin embargo, se lamenta haber realizado el

apareamiento tarde, pues quedó el interrogante de cuando se presenta el primer ciclo estral capaz de mantener una preñez?. Aunque con los perfiles de P₄, se puede inferir que función luteal es suficiente para sostener una preñez y generalmente corresponde al primer ciclo estral regular y/o primer estro observado.

La especie ovina es considerada una especie gregaria donde el fenómeno social-sexual principalmente el “efecto macho” puede cambiar el comportamiento reproductivo particular de la hembra ovina. Fisiológicamente las feromonas del macho son percibidas por el sistema olfatorio y ocasionan cambios en la endocrinología reproductiva alterando la actividad ovárica mediante la estimulación de la secreción de GnRH/ LH. Este fenómeno biológico puede tener utilidad para el manejo de la especie permitiendo la organización de los ritmos reproductivos.

Esta investigación constituye el primer reporte de evaluación de detección de estros con confirmación por perfiles de P₄ en Colombia. El porcentaje de detección de estros en general fue de 64,88%, evidenciándose mejor expresión del estro para los biotipos Hampshire y la Criolla. Por el contrario, el grupo Romney Marsh y Corriedale reflejan una menor expresión sexual y posiblemente esto puede estar vinculado a la eficiencia reproductiva.

El análisis de los perfiles de P₄ permitió la clasificación de ciclos estrales según la longitud. La duración del ciclo estral regular fue de $16,8 \pm 0,9$ días sin presentar diferencias significativas para los cuatro genotipos evaluados bajo condiciones de trópico alto. Los resultados evidencian una mayor tendencia a la presentación de ciclos estrales regulares con un 60,6 % como es particular en hembras cíclicas. El 34,2% de ciclos cortos, se consideró como un porcentaje alto el cual fue influenciado por el biotipo Corriedale y Romney; lo que podría estar vinculado a la adaptación al trópico de altitud y a las condiciones ambientales particulares incluyendo las altas temperaturas que provocarían “estrés térmico” y conlleva a una regresión luteal prematura.

En cuanto a los perfiles de progesterona en la fase folicular, se destacaron por presentar niveles bajos durante el tiempo más cercano a la ovulación 0,622 semejantes a lo

referenciado en época reproductiva y en las mismas razas. El día 0 (ovulación) tuvo que ser inferido por los niveles de progesterona y la detección del estro por observación, debido a la ausencia de evaluación de dinámica folicular lo que sugiere para futuras investigaciones, incorporar este método investigativo que permita establecer el tiempo exacto de la ovulación. Fisiológicamente se comprueba que la disminución de los perfiles de P_4 , en la fase folicular del ciclo estral, lleva a una reducción de la retroalimentación negativa ejercida sobre la secreción de hormona luteinizante; consecuentemente el incremento en la secreción de LH y de FSH promueve a su vez el desarrollo de folicular y finalmente a la ovulación. Los niveles séricos de P_4 comienzan a aumentar en los dos o tres días después de la ovulación presentando concentraciones dentro del rango de 1,34 a 2,53 ng/ml y corresponden al día 2 al 6 del ciclo estral; estos cambios graduales de secreción de P_4 representan el comportamiento de la actividad luteal, por lo que evidencian diferencias significativas entre días evaluados. Los niveles se mantienen altos y constantes durante los días 8- 12, presentando una concentración máxima de progesterona en suero de 2,75 ng/ml hacia el día 10. Por último, el día 12 a 14 empieza a descender los niveles de P_4 , en consecuencia, de la luteólisis estructural evidenciándose cambios en los niveles de progesterona hasta llegar a niveles basales.

Al comparar los niveles de P_4 durante el ciclo estral, las variaciones entre promedios en los tiempos puntuales (0, 2, 4, 6, 8,10, 12, 14, 16 y 18), no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) para los grupos Criolla y Hampshire, mostrando que los niveles de P_4 para estos dos grupos son muy similares. Por el contrario, existen diferencias significativas entre la raza Criolla y Romney Marsh durante los días 4, 6 y 8, donde el grupo Romney presenta menor concentración de P_4 en la fase lútea temprana y media. Adicionalmente, la Corriedale y la Romney Marsh son los que presentan menor concentración en la fase lútea media y tardía. Se puede relacionar el efecto facilitador de la P_4 para la secreción de E_2 – GnRH y/o expresión de receptores de GnRH hipotalámicos, demostrando la importancia del cebado previo de P_4 en concentraciones adecuadas aumentando la magnitud de E_2 y GnRH; lo que se podría relacionarse con la mayor expresión de estros en los biotipos Hampshire y Criolla en consecuencia a la mayor concentración de P_4 en la fase lutea tardía. Adicionalmente, el ciclo estral está regulado

por una serie de eventos endocrinos en donde la vida media del cuerpo lúteo está controlada por factores luteotropicos de la adenohipófisis (GnRH/LH) y factores luteolíticos del útero $\text{PGF}_2\alpha$; ambos factores modulados por la progesterona. Con lo anterior, los niveles de P_4 demasiado altos durante la fase lútea temprana o tardía pueden estar determinando la mayor o menor eficiencia que evidenciada en las diferencias entre los biotipos ovinos en el desempeño reproductivo, es así como las hembras Criollas pueden tener una mejor relación de los esteroides ováricos en cuanto al momento, tiempo y duración de su acción y de los efectos coordinados que deben regular la expresión de receptores tanto de la misma progesterona (“bloqueo de la progesterona”), como de los receptores para estrógenos y oxitocina en estas fases, los cuales modulan los pulsos luteolíticos de $\text{PgF}_2\alpha$ por el endometrio.

La función luteal es observada mediante los niveles de P_4 a través del ciclo de la hembra preñada; en donde los perfiles de progesterona fueron similares durante los primeros 14 días, tanto en el ciclo estral regular como en ciclo de la preñez temprana, evidenciando un perfil típico en la hembra ovina. Posteriormente el ciclo de la preñez difiere en la continuidad de la actividad luteal que se máxima al día 12 hasta los 30 días posapareamiento, comprendiendo el periodo evaluado. De acuerdo al comportamiento de los niveles de P_4 del ciclo de la hembra preñada, se puede reconocer el efectivo reconocimiento materno de la preñez, reflejado en el mantenimiento de la actividad del CL como respuesta a la presencia del embrión. Se denota una pequeña variación de la actividad luteal hacia el día 12- 14, que evidencia el periodo de la inhibición del fenómeno luteolítico. El reconocimiento materno de la preñez comprende un periodo crítico en el cual el “conceptus” da señales de presencia a la madre desencadenando la secreción del factor antiluteolítico $\text{IFN-}\tau$. Este interferón es producido en las células mononucleares del trofoblasto embrionario entre los días 9 y 20, con producción máxima alrededor de los días 12 y 14 de gestación.

Una de las maneras de indicar la adaptación de una raza a un ambiente determinado, es por medio de su eficiencia reproductiva, la que se detecta por características como porcentaje de preñez e intervalo entre partos. El porcentaje de preñez de las razas evaluadas oscila entre 75- 100%. Con lo anterior y en referencia con los resultados se

puede inferir que no existe efecto estacional marcado en nuestro medio, ya que las tasas de preñez pueden ser comparadas con aquellos reportes emitidos bajo épocas reproductivas en países estacionales y considerando que el apareamiento fue realizado en época seca en Colombia (IDEAM, 2013). Además, si se tiene como indicador que porcentajes de preñez menores al 80% pueden ser desfavorables en trópico de altitud.

5.2. Conclusiones

El tiempo de reactivación ovárica posparto (IPP₄) fue de 31,8±14,1 días en promedio sin presentar diferencias significativas dentro de los grupos evaluados. Se pudo considerar una rápida reactivación ovárica posparto bajo sistemas de cría libre en trópico alto colombiano; sin embargo, la mayoría de las ovejas presentaron una notable disminución de la condición corporal, lo que alcanzó a afectar la presentación de su primer incremento de progesterona y posterior reanudación de la ciclicidad.

El 78,13% (n25) de las ovejas reasumen la actividad ovárica posparto antes del día 35, evidenciándose que el tipo de parto múltiple retrasa y afecta la reanudación. Las variables respuestas más influenciadas corresponden a los intervalos: parto primer ciclo regular, primer estro observado e inicio de la ciclicidad.

La raza Criolla presentó un 87,5% de reanudación ovárica clasificada como normal tipo 1 representando un eficiente desempeño en la recuperación ovárica temprana. El grupo Hampshire mostro un aceptable desempeño con un 37,5% de actividad ovárica normal alta tipo 1-a y un 25 % de actividad media (tipo 2) principalmente. Los grupos Romney Marsh y Corriedale presentando mayor heterogeneidad de perfiles conformados por la mayor proporción de interrupción de la ciclicidad y anovulaciones prolongadas.

El porcentaje de detección de estros fue de 64,88 sin presentar diferencias significativas entre grupos. Los resultados evidencian el 60,6 % de ciclos estrales regulares y un 34,2% de ciclos cortos, presentando diferencias significativas por raza que posiblemente se

relaciona con el desempeño reproductivo. El promedio de duración del ciclo estral regular fue de $16,8 \pm 0,89$ días sin presentar diferencias significativas entre tipo racial.

El grupo Romney M. presenta bajos niveles de P_4 durante la fase lutea temprana y media en comparación con las hembras Criollas. El grupo Corriedale y Romney presentaron menores niveles en la fase lutea tardía; sugiriendo una menor capacidad de actividad luteal como factor de modulación del ciclo estral, del desarrollo folicular y del modelo endocrino que determinan la eficiencia reproductiva.

Los perfiles de P_4 durante las fases del ciclo estral en la preñez temprana presenta un comportamiento típico al del ciclo regular, con variaciones a partir de la fase lutea tardía (día 12- 14 pos-servicio) cuando se hace evidente la persistencia del cuerpo lúteo, que coincide con el fenómeno del reconocimiento temprano de la preñez.

Los niveles de P_4 en el ciclo de la hembra repetidora varían en la fase lutea temprana y media disminuyendo rápidamente hacia el día 12 indicando la regresión funcional y estructural del cuerpo lúteo.

Las razas en general tienen un buen comportamiento reproductivo presentando porcentajes de preñez entre el 75 - 100 bajo las condiciones propias del experimento.

Se denota el efecto de adaptación al trópico alto en los biotipos evaluados, observando el comportamiento sobresaliente de individuos en particular, como lo es el grupo de las Criollas, en donde muy probablemente la potencialidad de la respuesta obedece a un proceso de ajuste de su genotipo, lo cual puede ser únicamente posible con cambios genéticos, que implican adaptaciones poblacionales a largo plazo por selección natural en las generaciones sucesivas, con lo que se logra aumentar la incidencia de genes deseables que le permiten al animal manifestar respuestas fisiológicas y de comportamiento suficientes para sobrevivir y producir en forma adecuada.

5.3. Recomendaciones

El presente trabajo constituye una referencia nacional importante, realizada con la secuencia de perfiles de P₄, en un procedimiento continuo y simultáneo a largo plazo, para investigar sobre el anestro posparto, la reactivación y reanudación de la actividad ovárica, ciclo estral y preñez temprana; particularizando el desempeño de cuatro grupos raciales ovinos en el trópico alto colombiano como base de consulta para futuras investigaciones.

Implementar el uso de ultrasonografía fortalecería las referencias nacionales ya que se podría tener datos de la dinámica folicular, ovulación (simples o dobles) para conocer el tiempo exacto de la misma evitando discrepancias entre lo encontrado y los valores de referencia y estimar el área y volumen del cuerpo luteo para relacionarlo con los niveles de progesterona y encontrar la posible correlación con la actividad luteal. Adicionalmente la evaluación ecográfica podría utilizarse para evaluar la involución uterina.

Es necesario realizar más estudios en hembras ovinas en trópico (alto y bajo) en diferentes condiciones medioambientales (medición estricta de la intensidad lumínica, variables medioambientales y hormonas como melatoína), para establecer los factores que podrían influenciar el funcionamiento reproductivo; además sería importante incorporar la evaluación de otras hormonas involucradas como estrógenos y hormona luteinizante; relacionándolos con perfiles lipídicos en las diferentes etapas de la fisiología reproductiva de la hembra ovina. Indispensable adicionar lo correspondiente a morfo-histología del cuerpo luteo (tipo de células lúteales). Adicionalmente la medición molecular de receptores uterinos y cambios histológicos para estimar las posibles correlaciones.

5.4. Perspectivas

La hembra ovina tiene un amplio potencial reproductivo, lo que la hace una especie optima para modelos de estudios que controlan la eficiencia reproductiva. La productividad del cordero y de las hembras de vientre están genéticamente predeterminadas variando entre razas y ambientes debido a que los genes programan una enorme biodiversidad y el control hormonal, dinámica folicular, función luteal, ovulación y fertilidad que deben estudiarse para aclarar la regulación fisiológica del ciclo estral.