

RESPUESTA DE UN RECONSTITUYENTE METABÓLICO EN OVEJAS SINCRONIZADAS CON CIDR UTILIZADOS POR SEGUNDA VEZ^a

RESPONSE OF A METABOLIC RECONSTITUENT IN SHEEP SYNCHRONIZED WITH CIDR USED FOR THE SECOND TIME

Hernández-Marín, J.A.^{1*}; Guerrero-Escobedo, P.S.¹; Gutiérrez-Chávez, A.J.¹;
Fraire-Cordero, S.²

¹*Departamento de Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Exhacienda El Copal, km 9 carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato. México. 36824.*

²*Colegio de Postgraduados, Campus Campeche. Carretera Haultunchén-Edzná, km. 17.5, Champotón, Campeche, México. CP. 24050.*

* E-mail: jahmarin@ugto.mx

Fecha de envío: 12, septiembre, 2022

Fecha de publicación: 16, diciembre, 2022

Resumen:

Con el objetivo de evaluar la acción de un reconstituyente metabólico (AMINO) y su respuesta en la sincronización del estro con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR) utilizados por segunda vez, se realizó un experimento en Celaya, Guanajuato. Veinticinco ovejas fueron asignadas al azar a uno de cinco tratamientos (T). El AMINO fue aplicado diariamente durante los últimos tres días antes de retirar el CIDR: T1, n=5 (SC50): inyección vía subcutánea (SC) de 50 mL de AMINO; T2, n=5 (IM50): inyección vía intramuscular (IM) de 50 mL de AMINO; T3, n=5 (SC100): inyección SC de 100 mL de AMINO; T4, n=5 (IM100): inyección IM de 100 mL de AMINO; y T5, n=5 (TESTIGO): inyección vía endovenosa de 10 mL de solución Hartmann®, la cual se aplicó con la finalidad de homogenizar las condiciones experimentales. Los CIDR utilizados con anterioridad se lavaron con suero fisiológico después de retirarlos de la vagina de las ovejas, luego se colocaron en papel aluminio, se guardaron en bolsas de plástico vacías y se almacenaron a temperatura ambiente. Posteriormente, para sincronizar el estro a todas las ovejas se les insertó uno de estos CIDR que permaneció durante 9 d, y 48 h antes de retirarlos, se les aplicó IM 5 mg de prostaglandinas para inducir la lisis de algún cuerpo lúteo. Se evaluó la respuesta a la sincronización del estro y la probabilidad de ocurrencia del estro; los datos se analizaron con el software Statistical Analysis Systems®. No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en la respuesta a la sincronización ni en la probabilidad de ocurrencia del estro en ovejas. En los protocolos de sincronización del estro que incluyen progestágenos intravaginales utilizados por segunda vez, la acción del reconstituyente metabólico no influye en la respuesta ni en la probabilidad de ocurrencia del estro en ovejas.

Palabras clave: Aminoácidos neuroexcitadores, estro, ovinos de pelo, progestágenos, prostaglandinas.

^a El presente estudio fue un proyecto de verano de investigación.

Abstract:

In order to evaluate the action of a metabolic restorative (AMINO) and its response in the synchronization of estrus with progesterone-releasing intravaginal devices (CIDR) used for the second time, an experiment was carried out on a ranch in Celaya, Guanajuato. Twenty-five ewes were randomly assigned to one of five treatments (T). The AMINO was applied daily during the last three days before removing the CIDR: T1, n=5 (SC50): subcutaneous injection (SC) of 50 mL of AMINO; T2, n=5 (IM50): intramuscular injection (IM) of 50 mL of AMINO; T3, n=5 (SC100): AMINO 100 mL SC injection; T4, n=5 (IM100): IM injection of 100 mL of AMINO; and T5, n=5 (CONTROL): intravenous injection of 10 mL of Hartmann® solution, which was applied in order to homogenize the experimental conditions. The previously used CIDRs were washed with saline after removal from the ewe's vagina, then placed in aluminum foil, packed in empty plastic bags and stored at room temperature. Subsequently, to synchronize estrus, one of these CIDRs was inserted into all the ewes, which remained for 9 d, and 48 h before removing them, 5 mg of prostaglandins were applied IM to induce lysis of some corpus luteum. The response to estrus synchronization and the probability of occurrence of estrus were evaluated; the data was analyzed with Statistical Analysis Systems® software. No differences ($p > 0.05$) were found in the response to synchronization or in the probability of estrus occurrence in ewes. In estrus synchronization protocols that include intravaginal progestogens used for the second time, the action of the metabolic restorative does not influence the response or the probability of occurrence of estrus in ewes.

Keywords: Neuroexcitatory amino acids, estrus, hair ewes, progestogens, prostaglandins.

INTRODUCCIÓN

Estudios en pequeños rumiantes consideraron prácticas de manejo para mejorar la eficiencia productiva de los rebaños de manera técnica y económica, en los cuales se pretende eliminar la manipulación farmacológica de los animales (Martin et al., 2004). Estas metodologías se basan en el conocimiento de los eventos reproductivos y los efectos de la nutrición, como la alimentación focalizada, a partir de complementos energéticos y proteínicos destinados en los momentos críticos de la reproducción (Scaramuzzi et al., 2013). En ovejas, la actividad ovárica responde a la adecuada secreción de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona foliculoestimulante (FSH) en la adenohipófisis, por la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el hipotálamo (Abecia et al., 2012).

Esta comunicación endócrina también ocurre por la acción de compuestos que actúan como neurotransmisores, a partir del suministro de aminoácidos neuroestimuladores (AANE) que favorecen la secreción pulsátil de la GnRH y la LH (Mahesh & Brann, 2005).

La GnRH es el primer mensajero que participa en el reinicio de la actividad cíclica en la reproducción en ovejas y cabras, y se controla por diferentes neuromoduladores (Meza-Herrera et al., 2010). Esta comunicación endocrina hipotálamica-adenohipofisiaria puede favorecerse por la acción de ciertos compuestos que actúan como neurotransmisores, cuya actividad se puede incrementar mediante la suplementación de AANE (Meza-Herrera et al., 2014), como arginina, glutamato y aspartato (Alvarez-Cardona et al., 2019).

Los AANE se pueden ofrecer vía oral en la dieta como suplementos mezclados de manera individual o suministrados por alguna vía parenteral. De manera comercial, existe en el mercado un reconstituyente metabólico que por cada 100 mL contiene L-arginina, 240 mg; ácido aspártico, 150 mg; y ácido glutámico, 150 mg. Se ha reportado que, esta mezcla de ANNE contenidos en una solución energética ejercen una respuesta en la actividad ovárica en ovejas prepúberes (Hernández-Marín et al., 2016). Al respecto, no se ha determinado la respuesta de un tratamiento parenteral de un reconstituyente metabólico durante la sincronización del estro en ovejas. Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que la administración de un reconstituyente metabólico inyectable que también contiene aminoácidos neuroestimuladores (Aminotonic®), combinado con un protocolo hormonal por 9 días con dispositivos intravaginales liberadores de drogas (CIDR; P₄: 0.03 g) utilizados por segunda vez, y con 5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®) 48 h antes del retiro, podría mejorar la respuesta a la sincronización del estro en ovejas. Se ha reportado que los CIDR de primero y segundo uso tuvieron concentraciones séricas de P₄ >2 ng/mL (Vilariño et al., 2011). No obstante, con CIDR de tercer uso las concentraciones séricas son <2 ng/mL en hembras (Vilariño et al., 2013), lo que podría promover el crecimiento y la persistencia del folículo ovárico de mayor diámetro. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la acción de un reconstituyente metabólico durante la sincronización del estro en ovejas con CIDR utilizados por segunda vez.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Rancho “La Cano”, localizado en Celaya, Guanajuato (20°31'44.1" N y 100°46'57.4" W, a una altitud de 1767 m) durante junio de 2022. Se utilizaron 25 ovejas de pelo de 2.44 ± 1.47 años y 44.16 ± 8.8 kg de peso; y tres carneros de pelo con fertilidad probada de 2.89 ± 0.96 años y 103.2 ± 1.9 kg de peso. Cada oveja recibió 3.0 kg d^{-1} de una dieta elaborada con heno de alfalfa (60%) mezclado con un concentrado comercial (40%) con 15% proteína cruda y $2.6 \text{ Mcal EM kg}^{-1}$, sales minerales y agua a libre acceso. Las ovejas y los carneros se alojaron en corrales con una superficie de 40 m^2 , provistos de sombra, comedero, bebedero y piso de tierra.

El manejo experimental de los animales se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana: NOM-024-ZOO-1995 (SAGARPA, 1995). El reconstituyente metabólico (AMINO; Amonitonic®; BioZoo, México) contenía en cada 500 mL: dextrosa (28 g), cloruro de calcio (80 mg), cloruro de potasio (100 mg), cloruro de magnesio (100 mg), acetato de sodio (1250 mg), hidrocloreuro de L-histidina (5 mg), L-metionina (5 mg), DL-triptófano (5 mg), hidrocloreuro de L-cisteína (5 mg), L-treonina (10 mg), DL-isoleucina (10 mg), hidrocloreuro de L-arginina (12.5 mg), DL-fenilalanina (15 mg), DL-valina (150 mg), hidrocloreuro de L-lisina (185 mg), L-leucina (20 mg), DL-alanina (80 mg), ácido aspártico (140 mg), cistina (10 mg), glicina (40 mg), prolina (100 mg), serina (150 mg), tirosina (80 mg), glutamato monosódico (20 mg), vitamina B1 (tiamina, 60 mg), vitamina B2 (riboflavina, 30 mg), vitamina B3 (nicotinamida, 750 mg), vitamina B6 (piridoxina, 60 mg), vitamina B12 (cianocobalamina, 5 mg). Las ovejas se asignaron a uno de cinco tratamientos (T) que consistieron en aplicar el reconstituyente metabólico (AMINO) diariamente durante los últimos 3 días antes del retiro del dispositivo intravaginal (CIDR) utilizado por segunda vez: T1, n=5 (SC50): inyección vía subcutánea de 50 mL de AMINO; T2, n=5 (IM50): inyección vía subcutánea de 50 mL de AMINO; T3, n=5 (SC100): inyección vía subcutánea de 100 mL de AMINO; T4, n=5 (IM100): inyección vía intramuscular de 100 mL de AMINO y, T5, n=5 (TESTIGO): inyección vía endovenosa de 10 mL de solución Hartmann®, la cual se aplicó con la finalidad de homogenizar las condiciones experimentales con el producto adicional al protocolo de sincronización del estro. Para ello, se utilizaron agujas de calibre 18 y jeringas de 50 mL.

En el presente estudio, se reutilizaron CIDR utilizados una vez con anterioridad con base en la metodología descrita por Bazzan et al. (2011); los cuales se lavaron con suero fisiológico después de retirarlos de la región vaginal de las ovejas. Posteriormente, fueron colocados en papel aluminio y almacenados en bolsas vacías a temperatura ambiente. La sincronización del estro en las ovejas consistió en la inserción de estos CIDR (por segunda vez) impregnados con progesterona (CIDR, P₄: 0.3 g; Zoetis, México) durante 9 días. Durante este periodo, cada oveja fue revisada dos veces al día (10:00 y 16:00 h) para verificar que el CIDR permaneciera insertado, y 48 h antes del retiro, se aplicaron vía intramuscular 5 mg de prostaglandinas (PGF₂α; dinoprost trometamina, Lutalyse®; Zoetis, México) para inducir algún CL ovárico a la lisis (Abecia et al., 2012). A todas las ovejas se les detectó el estro por 60 min en la mañana (10:00 a 11:00 am) y 60 min en la tarde (4:00 a 5:00 pm) durante 120 h. Se inició introduciendo a los carneros al interior del corral, a los cuales se les colocó un mandil para detectar las hembras en estro. Se determinó que una oveja presentaba estro, cuando aceptó la monta por el macho, mostrando inmovilidad total. Luego, se les brindó monta natural controlada, inmediatamente después de ser detectadas. Se calculó la respuesta a la sincronización del estro, variable definida como la cantidad de ovejas que presentaron estro de la cantidad total de ovejas que respondieron al protocolo en cada tratamiento. Se utilizó el software Statistical Analysis Systems® (SAS Institute, 2012). La respuesta al estro se expresó en porcentaje y la probabilidad de ocurrencia del estro se analizó con el método de curvas de supervivencia de Kaplan Meier con el procedimiento Life Test y la prueba de Log-Rank. La respuesta al estro se analizó con la prueba de Kruskal-Wallis mediante el PROC NPAR1WAY, con un nivel de confianza al 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias entre tratamientos para la respuesta a la sincronización del estro en ovejas ($p > 0.05$; Tabla 1). La probabilidad de ocurrencia del estro fue similar entre tratamientos ($p > 0.05$; Figura 1).

Cuadro 1. Respuesta del reconstituyente metabólico suministrado 50 o 100 mL vía intramuscular (IM) o subcutánea (SC) en los últimos tres días de la sincronización del estro en ovejas con CIDR utilizados por segunda vez.

Table 1. Response of the metabolic restorative given 50 or 100 mL intramuscularly (IM) or subcutaneously (SC) in the last three days of estrus synchronization in ewes with CIDR used for the second time.

Tratamientos	n	Ovejas con estro	Ovejas sin estro
		n (%)	n (%)
T1: SC50	5	2 (40)	3 (60)
T2: IM50	5	1 (20)	4 (80)
T3: SC100	5	4 (80)	1 (20)
T4: IM100	5	2 (40)	3 (60)
T5: TESTIGO	5	3 (60)	2 (40)
Total	25	12 (48%)	13 (52%)
<i>p-value</i>		0.4060	

La eficacia de los dispositivos intravaginales reutilizados puede variar por el tiempo de uso del progestágeno (Pinna et al., 2012) o por la raza de ovejas (Husein & Ababneh, 2008). Castillo-Maldonado et al. (2013), obtuvieron 100% de respuesta al estro en ovejas Pelibuey sincronizadas con CIDR nuevos por 10 d. Pinna et al. (2012) reportaron 92.9, 92.9 y 100.00% de estros en ovejas Santa Inés sincronizadas con CIDR nuevo, utilizado y reutilizado, respectivamente. En ovejas de lana, Ungerfeld (2009) obtuvo un bajo porcentaje de respuesta al estro en ovejas Corriedale, al sincronizar con CIDR reutilizados por 12 d (39.4%) y 18 d (30.2%), mientras que Ungerfeld et al. (2013) obtuvieron mayor respuesta al estro con CIDR nuevo (56.7%) comparado con la respuesta al estro con CIDR reutilizado (26.7%) y con CIDR reutilizado y esterilizado por autoclave (15.6%). El porcentaje de respuesta a la sincronización del estro difieren por la cantidad de ovejas utilizadas en cada protocolo que emplee dispositivos intravaginales utilizados por segunda vez (Güngör et al., 2009).

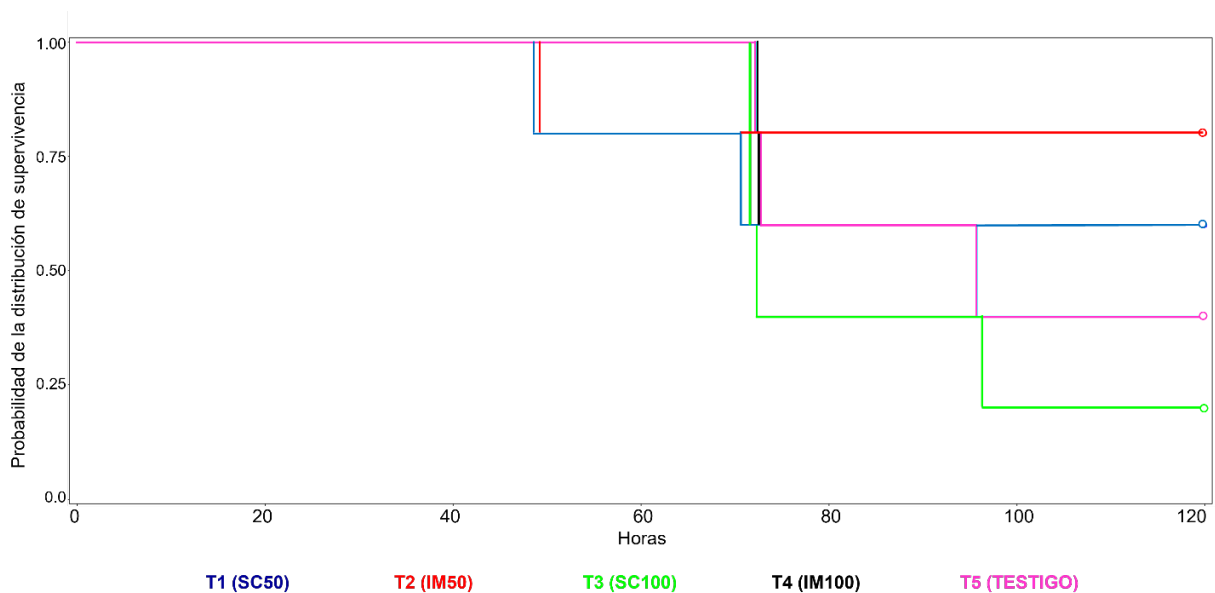


Figura 1. Probabilidad de ocurrencia del estro en ovejas tratadas con un reconstituyente metabólico suministrado 50 o 100 mL vía intramuscular (IM) o subcutánea (SC) en los tres días de la sincronización del estro con CIDR utilizado por segunda vez.

Figure 1. Probability of occurrence of estrus in ewes treated with a metabolic restorative supplied 50 or 100 mL intramuscularly (IM) or subcutaneously (SC) within three days of estrus synchronization with CIDR used for the second time

Es posible relacionar las concentraciones de P_4 durante los tratamientos con los CIDR con el crecimiento folicular ovárico y la fertilidad en las ovejas (Vilariño et al., 2013). Por otro lado, las cantidades de P_4 exógena inducen cambios en la respuesta a la retroacción positiva del estradiol (E_2) en la secreción de la GnRH, por el aumento en el pico de la GnRH (Caraty & Skinner, 1999).

La dosis o la vía de administración del reconstituyente metabólico (AMINO) durante la sincronización del estro en el presente estudio, quizás no haya sido suficiente para generar una respuesta en la sincronización del estro con los CIDR utilizados por segunda vez. En este sentido, algunos ingredientes específicos que componen la dieta y los productos del metabolismo pueden perjudicar la acción hipotalámica-adenohipofisaria-ovárica al incurrir en la secreción de la FSH y la LH y en la respuesta de la actividad ovárica (Schneider et al., 2012).

Se ha reportado que la nutrición afecta la función reproductiva en rumiantes domésticos, lo cual influye en el inicio de la actividad ovárica en ovejas (Walkden-Brown et al., 1994). En esta etapa, la energía metabólica es el factor más importante que controla el éxito reproductivo y las hormonas gonadales afectan la ingesta, el almacenamiento y el gasto de energía (Schneider et al., 2012). La relación entre los sistemas reguladores metabólico y reproductivo debe ajustarse según los requerimientos energéticos, para que la probabilidad de éxito sea razonable. Así, los procesos reguladores que vinculan la nutrición y la reproducción pueden ser los mismos que controlan la homeostasis energética (Martin et al., 2010).

Por lo tanto, la baja respuesta al estro de las ovejas en el presente estudio, sea resultado del protocolo hormonal utilizado, ya que la administración de progestágenos a mediano plazo (9 días) se puede utilizar con tratamientos complementarios como las gonadotropinas que promueven el crecimiento folicular ovárico y la ovulación, o con prostaglandinas que lisan un cuerpo lúteo activo (O'Brien & Wildeus, 2019), debido a que la duración del progestágeno es más corta que la fase lútea; así, el estro y la ovulación pueden retrasarse o incluso inhibirse por la presencia de un cuerpo lúteo funcional al retiro del progestágeno y la prostaglandina se requiere para inducir la luteólisis (Swelum et al., 2015).

Por lo anterior, la tendencia de la presente investigación es desarrollar mayor conocimiento de la acción de los metabolitos energéticos y proteínicos, así como de los aminoácidos neuroexcitadores, para generar opciones de manejo de manera técnica y económica, capaces de incrementar la eficiencia reproductiva de un rebaño, con la ventaja de controlar los eventos reproductivos a partir de métodos naturales no hormonales, basados en la fisiología reproductiva y de la nutrición. Finalmente, se sugiere realizar más investigación que describa la acción de los componentes del reconstituyente metabólico, las diferentes vías de administración y las dosis adecuadas para evaluar su respuesta a nivel ovárico y analizar las variables de respuesta en la sincronización del estro en ovejas con CIDR utilizados por segunda vez.



CONCLUSIÓN

La aplicación vía intramuscular o subcutánea de 50 o 100 mL de un reconstituyente metabólico durante los últimos tres días antes del retiro del progestágeno, no influye en la respuesta a la sincronización del estro ni en la probabilidad de ocurrencia del estro en ovejas sincronizadas durante 9 días con CIDR utilizados por segunda vez.

Agradecimientos

A la Universidad de Guanajuato, por el financiamiento del proyecto “Sincronización del estro en ovejas de pelo tratadas con un reconstituyente energético o glutamato de sodio” (256/2022), registrado en la Convocatoria Institucional de Investigación Científica (CIIC) 2022. A los propietarios del Rancho “La Cano” por las facilidades brindadas para realizar el experimento en ovejas.

LITERATURA CITADA

- Abecia, J.A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130, 173-179. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011>
- Alvarez-Cardona, F., Maki-Díaz, G., Franco-Robles, E., Cadena-Villegas, S., & Hernández-Marín, A. (2019). L-Arginina, Aspartato y Glutamato, y su relación con la reproducción de ovejas. Revisión. *Abanico Veterinario*, 9(1), 1-13.
- Bazzan, A.E., Menestrina, A.L., Tedesco, D., Manta Bragança, J.F., & Rocha, R.X. (2011). A reutilização de um dispositivo intravaginal com progesterona (CIDR-G) na indução/sincronização de estro ovino. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 108 (587-588): 143-146.
- Caraty, A., Skinner, D.C. (1999). Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinology*, 140, 165-170. doi: <https://doi.org/10.1210/endo.140.1.6444>.
- Castillo-Maldonado, P.P., Vaquera-Huerta, H., Tarango-Arambula, L., Pérez-Hernández, P., Herrera-Corredor, A., & Gallegos-Sánchez, J. (2013). Restablecimiento de la actividad reproductiva posparto en ovejas de pelo. *Archivos de Zootecnia*, 62(239), 419-428.

- Güngör, Ö., Özyurtlu, N., Pancarci, Ş.M., Kaya, M., Zonturlu, A.K., Oral, H., Çetin, Y., & Polat, B. (2009). Estrous synchronization with used CIDR-G devices in ewes during non-breeding season. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 15(5), 779-783.
- Hernández-Marín, J.A., Pro-Martínez, A., Cortez-Romero, C., Pérez-Hernández, P., Herrera-Corredor, C.A., & Gallegos-Sánchez, J. (2016). Ovulation induction with male effect and a commercial energy tonic in prepubertal Pelibuey ewes. *Agrociencia*, 50(7), 811-823. doi: <https://agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/1251/1251>
- Husein, M.Q., & Ababneh, M.M. (2008). A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology*, 69, 376-383. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.10.005>
- Mahesh, V.B., & Braan, D.W. (2005). Regulatory role of excitatory amino acids in reproduction. *Endocrine*, 28, 271-280. doi: <https://doi.org/10.1385/ENDO:28:3:271>
- Martin, G.B., Milton, J.T.B., Davidson, R.H., Banchemo, G.E., Lindsay, D.R., & Blache, D. (2004). Natural methods of increasing reproductive efficiency in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 231-46. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.014>
- Martin, G.B., Blache, D., Miller, D.W., Vercoe, P.E. (2010). Interactions between nutrition and reproduction in the management of the mature male ruminant. *Animal*, 4(7), 1214-1226. doi: <https://doi.org/10.1017/S1751731109991674>
- Meza-Herrera, C.A., González-Velázquez, A., Veliz-Deras, F.G., Rodríguez-Martínez, R., Arellano-Rodríguez, G., Serradilla, J.M., García-Martínez, A., Avendaño-Reyes, L., & Macías-Cruz, U. (2014). Short-term glutamate administration positively affects the number of antral follicles and the ovulation rate in cyclic adult goats. *Reproductive Biology*, 14(4), 298-301. doi: <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2014.05.001>
- Meza-Herrera, C.A., Veliz Deras, F.G., Wurzinger, M., López Ariza, B., Arellano Rodríguez, G., & Rodríguez Martínez, R. (2010). The kiss-1-kisspeptin-gpr-54 complex: a critical modulator of GnRH neurons during pubertal activation. *Journal of Applied Biomedicine*, 8(1), 1-9. doi: 10.2478/v10136-009-0001-0

- O'brien, D., & Wildeus, S. (2019). Optimizing reproductive performance in the goat herd. *Professional Agricultural Workers Journal*, 6(2), 78-87.
- Pinna, A.E., Bandao, F.Z., Cavalcanti, A.S., Borges, A.M., Souza, J.M.G., & Fonseca, J.F. (2012). Reproductive parameters of Santa Ines ewes submitted to short-term treatment with re-used progesterone devices. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(2), 333-340. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000200012>
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación). (1995). Especificaciones y características zoosanitarias para el transporte de animales, sus productos y subproductos, productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. Norma Oficial Mexicana 024-ZOO-1995, México: Diario Oficial de la Federación, Pp. 41-46. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/202301/NOM-024-ZOO-1995_161095.pdf
- SAS Institute. (2012). Statistical Analysis Software SAS/STAT®. version 9.4, Cary, N.C., USA: SAS Institute Inc., ISBN: 978-1-60764-599-3. Recuperado de: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=239E4F5E2E39CF2164C9BAD96900EA01?doi=10.1.1.353.6870&rep=rep1&type=pdf>
- Scaramuzzi, R.J., Oujagir, L., Menassol, J.B., Freret, S., Piezel, A., Brown, H.M., Cognié, J., & Fabre-Nys, C. (2013). The pattern of LH secretion and the ovarian response to the 'ram effect' in the anoestrous ewe is influenced by body condition but not by short-term nutritional supplementation. *Reproduction Fertility and Development*, 26(8), 1154-1165. doi: <https://doi.org/10.1071/RD13139>
- Schneider, J.E., Klingerman, C.M., & Abdulhay, A. (2012). Sense and nonsense in metabolic control of reproduction. *Frontiers in Endocrinology*, 26, 3. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2012.00026>
- Swelum, A.A.A., Alowaimer, A.N., & Abouheif, M.A. (2015). Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology*, 84, 498-503. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.018>

- Ungerfeld, R. (2009). The induction of oestrus in ewes during the non-breeding season using pre-used CIDRs and oestradiol 17 β treatment. *Small Ruminant Research*, 84, 129-131. doi: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.06.011>.
- Ungerfeld, R., Gamboa, D., & Álvarez, L. (2013). Response of ewes primed with new CIDRs, previously used CIDRs, or previously used and autoclaved CIDRs to the ram effect during the non-breeding season. *Animal Reproduction*, 10(4), 704-707.
[http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v10n4/p704-707%20\(AR586\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v10n4/p704-707%20(AR586).pdf)
- Vilariño, M., Rubianes, E., & Menchaca, A. (2011). Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the short-term protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology*, 75: 7: 1195-1200. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.030>
- Vilariño, M., Rubianes, E., & Menchaca, A. (2013). Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 79, 206-210. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.10.007>
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, R.J., Martin, & G.B. (1994). Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *Journal Reproduction and Fertility*, 102, 351–360. doi: 10.1530/jrf.0.1020351

