



# Administración de lutropina (r-hLH) y su respuesta en la tasa ovulatoria y embriones viables en ovejas Pelibuey

Alejandro García-Salas<sup>1</sup> ; Juan Salazar-Ortiz<sup>2</sup> ; Joel Ventura-Ríos<sup>1</sup> ; José C. Escobar-España<sup>3</sup> ; Camelia A. Herrera-Corredor<sup>4</sup> ; César Cortez-Romero<sup>5\*</sup> .

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Department of Animal Production. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

<sup>2</sup>Colegio de Postgraduados. Campus Córdoba. Sustainable Agrifood Innovation. Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Faculty of Agricultural Sciences Campus IV. Huehuetán, Chiapas, México.

<sup>4</sup>Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Faculty of Agronomy and Veterinary Medicine. Soledad de Graciano Sánchez, México.

<sup>5</sup>Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí. Innovation in Natural Resource Management. Salinas de Hidalgo, México.

\*Correspondencia: [ccortez@colpos.mx](mailto:ccortez@colpos.mx)

Recibido: Marzo 2023; Aceptado: Julio 2023; Publicado: Agosto 2023.

## RESUMEN

**Objetivo.** Evaluar la influencia de lutropina alfa (LH recombinante humana, r-hLH) administrada a 12 y 24 h post-retiro del dispositivo de progesterona (CIDR) en la respuesta de horas al inicio del estro (IE), tasa ovulatoria (TO), ovocitos no fertilizados (ONF), embriones transferibles (ET), embriones calidad 1 (EC1) y niveles plasmáticos de LH, en un protocolo de superovulación a base de FSHp en ovejas Pelibuey. **Materiales y métodos.** Se utilizaron 18 ovejas de la raza Pelibuey, las cuales fueron distribuidas al azar en tres grupos (n=6): T1 (200 mg FSHp-Folltropin®); T2 (200 mg FSHp + 75 UI r-hLH a 12 h post-retiro del CIDR) y T3 (200 mg pFSH + 75 UI r-hLH a 24 h post-retiro del CIDR). **Resultados.** Horas del IE y TO no se encontraron diferencias significativas. En ONF fue mayor (p<0.05) en T2 (5.0±2.3) en comparación con T1 (0.8±0.6) y T3 (1.3±0.7). El número de EC1 fue mayor (p<0.05) en T3 (3.1±1.1) comparado con T1 (1.1±0.3) y T2 (0.6±0.5) y para ET fue mayor (p<0.05) para T3 (6.6±0.9) en relación a T2 (2.0±1) y T1 (4.0±0.6). **Conclusiones.** La aplicación de r-hLH a 24 h de retirado el CIDR incrementa los niveles plasmáticos de LH, en efecto, se disminuye la cantidad de ONF, se mejora la cantidad y calidad de ET en ovejas de la raza Pelibuey.

**Palabras clave:** CIDR; embrión; estro; LH; superovulación (*Fuente: USDA, ICYT biología animal*).

## ABSTRACT

**Objective.** To evaluate the influence of lutropin alfa (recombinant human LH, r-hLH) administered at 12 and 24 h post progesterone device withdrawal (CIDR) on the response of hours to onset of estrus (OE), ovulatory rate (OR), unfertilized oocytes (UNO), transferable embryos (TE), quality 1 embryos (Q1E) and plasma LH levels, in a pFSH-based superovulation protocol in Pelibuey sheep. **Materials and methods.** Eighteen Pelibuey sheep were used and randomly distributed into three groups (n=6): T1 (200 mg FSHp-Folltropin®); T2 (200 mg FSHp + 75 IU r-hLH at 12 h post CIDR

### Como citar (Vancouver).

García-Salas A, Salazar-Ortiz J, Ventura-Ríos J, Escobar-España JC, Herrera Corredor CA, Cortez-Romero C. Administración de lutropina (r-hLH) y su respuesta en la tasa ovulatoria y embriones viables en ovejas Pelibuey. Rev MVZ Córdoba. 2023; 28(3):e3190. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3190>



©El (los) autor (es) 2023. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

withdrawal) and T3 (200 mg pFSH + 75 IU r-hLH at 24 h post CIDR withdrawal). **Results.** No significant differences were found between OE and OR. UNO was higher ( $p < 0.05$ ) in T2 ( $5.0 \pm 2.3$ ) compared to T1 ( $0.8 \pm 0.6$ ) and T3 ( $1.3 \pm 0.7$ ). The number of Q1E was higher ( $p < 0.05$ ) in T3 ( $3.1 \pm 1.1$ ) compared to T1 ( $1.1 \pm 0.3$ ) and T2 ( $0.6 \pm 0.5$ ) and for TE was higher ( $p < 0.05$ ) for T3 ( $6.6 \pm 0.9$ ) relative to T2 ( $2.0 \pm 1$ ) and T1 ( $4.0 \pm 0.6$ ). **Conclusions.** The application of r-hLH 24 h after removal of CIDR increases plasma LH levels, in effect, decreasing the amount of UNO, improving the quantity and quality of TE in Pelibuey sheep.

**Keywords:** CIDR; embryo; oestrus; LH; super-ovulation (*Source: USDA, ICYT animal biology*).

## INTRODUCCIÓN

Los ovinos se distribuyen ampliamente por todo el mundo y ha logrado sobrevivir en una gran diversidad de entornos. En México, la oveja Pelibuey es la de mayor distribución entre las razas de pelo debido a su rusticidad, resistencia a parásitos, buena habilidad materna y estacionalidad reproductiva reducida (1). Esta raza tiene índices variables de ovulación que van desde  $1.3 \pm 0.16$  hasta  $3.0 \pm 0.18$  y a nivel de prolificidad de  $1.4 \pm 0.2$  a  $1.8 \pm 0.2$  (2).

La reproducción de ovinos puede ser controlada por varios métodos desarrollados que implican la administración de hormonas exógenas y modifican la cadena fisiológica de eventos involucrados en el ciclo estral (3). Dentro de las biotecnologías reproductivas usadas en la ovinocultura, se tiene la técnica de producción de embriones *in vivo*, la cual se asocia siempre a una súper estimulación ovárica lo que da como resultado la ovulación múltiple, con el objetivo de obtener una mayor tasa ovulatoria, además, siempre buscando obtener un buen porcentaje de fecundación, para luego recuperar los embriones (4). Actualmente, se han estudiado una diversidad de métodos de ovulación múltiple, donde la mayoría de los estudios han sido enfocados en el uso de gonadotropinas tales como la gonadotropina coriónica equina [eCG] y hormona estimulante del folículo [FSH porcina u ovina]. Estas hormonas estimulan el crecimiento folicular asociado a un tratamiento previo con progestágenos (5,6). La eficiencia de la aplicación de la FSH es muy variable, ya que se han realizado estudios suministrando dosis con un rango de 100-300-mg FSH; sin embargo, esta variabilidad también depende del efecto de la raza y de la duración del tratamiento superovulatorio (6). Por su parte, la aplicación de la prostaglandina tiene un efecto de sensibilizar a la hipófisis para la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), lo cual conlleva a la liberación de la hormona luteinizante (LH) y con ello una ovulación (7).

La LH es la hormona encargada de la ruptura del folículo para provocar la ovulación, para posteriormente convertirse en cuerpo lúteo (CL), cuya función es secretar la progesterona (P4) que sirve para mantener una gestación (7). Sin embargo, se lograría mejor respuesta si la preparación de FSH tuviera menos del 10% de LH, ya que la relación FSH:LH se vería afectada críticamente en el desarrollo preovulatorio y la ovulación (8). Por lo tanto, las concentraciones elevadas de LH durante un lapso extenso antes de ocurrir el pico de LH, alteraría los tiempos de la ovulación (9).

La información del uso de la hormona luteinizante humana recombinante (r-hLH) es nula en la aplicación sobre los protocolos de superovulación en ovejas. Sin embargo, si existe evidencia del uso de LH porcina (pLH), donde se ha demostrado que induce una ovulación en folículos dominantes, por lo que se sugiere que podría ser utilizado para suprimir el dominio folicular (10). Su uso podría estimular e incrementar la cantidad de ovocitos liberados para ser fertilizados y la cantidad de embriones obtenidos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de lutropina alfa (LH recombinante humana, r-hLH) administrada a 12 y 24 h post-retiro del dispositivo de progesterona (CIDR) en la respuesta de horas al inicio del estro, tasa ovulatoria, ovocitos no fertilizados, embriones transferibles y niveles plasmáticos de LH, en un protocolo de superovulación a base de FSHp en ovejas Pelibuey.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización.** El estudio se realizó durante los meses de junio y julio de 2020, que corresponde al inicio de la época reproductiva. Fue realizado, en las instalaciones del Campus Córdoba del Colegio de Postgraduados, ubicado en la carretera federal Córdoba-Veracruz km 348, en congregación Manuel León, municipio de Amatlán

de los Reyes, Veracruz, México. La ubicación geográfica es 18°51'20" N y 96°51'37" O, con una altitud de 720 m. El clima es templado-regular, con una temperatura promedio de 18°C y una precipitación media anual de 1.807 mm.

**Ovejas y manejo.** Se usaron 18 hembras Pelibuey aptas fisiológica y reproductivamente, con un promedio de 2 partos, un peso de 37.6±0.6 kg, edad 2.2±0.37 años y con una condición corporal de 2.9±0.4 en una escala de 0 a 5 (0= delgado; 5= obeso) de acuerdo con Russel et al (10). Las ovejas fueron pastoreadas en praderas con pasto estrella (*Cynodon dactylon* L.) durante 7 a 8 h día<sup>-1</sup>; este pastoreo es de manera habitual durante todo el año. Así mismo, se ofreció un suplemento en el corral de 400 g<sup>-1</sup> oveja<sup>-1</sup>, con un aporte de 16% de proteína cruda (PC) y 2.9 Mcal de Energía Metabolizable EM/kg MS<sup>-1</sup> durante el tiempo que duro el tratamiento. También se les ofreció agua limpia y fresca *ad libitum*.

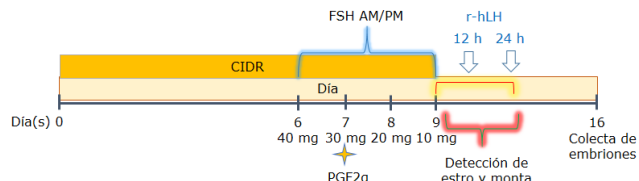
**Protocolos de superovulación.** Las ovejas seleccionadas se distribuyeron al azar en tres tratamientos de superovulación (T1, T2 y T3; Figura 1). El protocolo incluyó la sincronización del estro de las ovejas mediante la inserción de un dispositivo intravaginal (día cero; CIDR®, Pfizer, Hamilton, Nueva Zelanda), impregnado con 0.3 g de progesterona (P4), durante un período de 9 días. El día siete posterior a la introducción del CIDR, se aplicó 250 mcg de cloprostenol vía IM (Prostaglandina, Celosil®, Schering-Plough de Intervet Sanidad Animal) con la finalidad de provocar la luteolisis de algún cuerpo lúteo presente y por la tarde del día nueve, se retiró el CIDR a todas las ovejas.

T1(n=6): En el día seis posterior a la colocación del CIDR, se comenzó con la aplicación de 200 mg de NIH = National Institutes of Health-FSH-P1 (Folltropin®-V, Laboratorio Bioniche, Animal Health Canada Inc.), vía IM, administrada cada 12 h (mañana/tarde) en ocho dosis decrecientes (40/40; 30/30; 20/20 y 10/10 mg). La dosis inicial se suministró 72 h antes del retiro del CIDR y la última, 12 h posteriores de su retiro (Figura 1).

T2 (n=6): El mismo procedimiento de administración de FSH fue similar al del T1, más una dosis de 75 UI de lutropina alfa (r-hLH, Luvier-1. S., MERCK SERONO), aplicada 12 h posteriores al retiro del dispositivo intravaginal (Figura 1).

T3 (n=6): El procedimiento de administración de FSH fue similar al del T1, más una dosis de 75

UI de lutropina alfa (r-hLH, Luvier-1. S., MERCK SERONO), aplicada 24 h posteriores al retiro del dispositivo intravaginal (Figura 1).



**Figura 1.** Esquema de tratamientos de superovulación con FSHp más la aplicación de r-hLH a las 12 y 24 h posteriores al retiro del CIDR.

**Detección de estros y monta natural.** Una vez que se retiró el CIDR, se inició con la detección de estros a las 4 h, con el uso de tres carneros raza Pelibuey en una condición corporal de 3.0 en promedio, los cuales fueron probados con anterioridad al evaluar su líbido; para dicha actividad se introdujo un carnero a la vez, provisto de un mandil. El tiempo que se presentó el macho a las ovejas fue de 30 min, con un intervalo de cuatro horas. Las ovejas al presentar estro, fueron separadas y llevadas con otro semental, evaluado previamente en términos de su calidad seminal, para que se realizara la monta natural (MN). La monta inicial fue en la etapa en que la oveja manifestó estar receptiva al macho y una segunda monta se realizó 12 h posteriores a la primera.

**Recolecta de estructuras embrionarias.** Los embriones se recolectaron 6 días después de la detección del celo, mediante la técnica quirúrgica de laparotomía ventral medial. Veinticuatro horas antes de la cirugía, se les restringió la comida y el agua a todas las ovejas tratadas. Las ovejas fueron anestesiadas en plano general, administrándoles una combinación de Xilazina (Procin®, Laboratorios PiSA; 0.25 mg/kg P.V.), más ketamina (Anesket®, Laboratorios PiSA; 1.25 mg/kg P.V.), por vía intravenosa (I.V.). Posteriormente, las ovejas fueron entubadas utilizando una sonda endotraqueal conectada a un tubo con suministro de óxido nitroso. Una vez aplicada la anestesia, se colocó a cada una de las hembras en decúbito supino dorsal. Se afeitó y desinfectó el campo quirúrgico; se colocaron los campos quirúrgicos para continuar con la cirugía, a fin de exponer el útero y los ovarios.

Tras la exposición de los ovarios, se midió la tasa ovulatoria mediante el recuento de los cuerpos lúteos (CL). El proceso de recuperación embrionaria se realizó de forma gravitacional, utilizando una

sonda Foley (10 fr.), a través de una punción en la base del cuerno. A continuación, se colocó un catéter intravenoso (1.20 × 25 mm de longitud, Punzocat®) en la unión uterotubárica, para inyectar medio de lavado (VIGRO® Complete Flush Solution, Bioniche, Animal Health Canada Inc.) precalentado a 37°C. El medio recuperado se depositó en un tubo colector estéril precalentado a 37°C, el cual se colocó en un baño de agua. A continuación, se lavó el aparato genital con solución salina y se introdujo en la cavidad abdominal para realizar las suturas en los planos quirúrgicos. Por último, se administró a las ovejas 1 mL 20/kg P.V. de antibiótico (Shotapen® L.A. Virbac, México), 1 mL 10/kg P.V. de analgésico (Biodipirona® Bio Zoo, México) y 1 mL de un análogo de la PGF2a (Celosil®; 250 mcg de cloprostenol). Posteriormente la búsqueda y clasificación embrionaria se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por García-Salas et al (11).

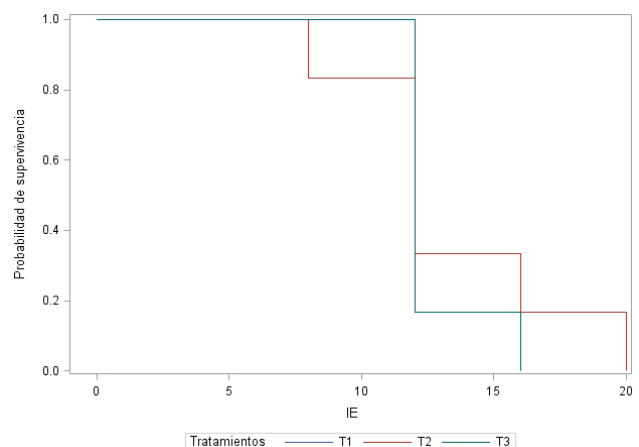
**Muestreo sanguíneo y análisis de LH.** A todas las ovejas en los tres tratamientos se les colectó una muestra de sangre (5 mL) de la vena yugular al momento del retiro del CIDR y posteriormente a intervalos de 2 h, hasta alcanzar las 48 h post retiro. Las muestras sanguíneas se centrifugaron a 600 × g por 15 min (Solbat® C-600 centrifuga). Posteriormente, el suero se separó por decantación y se almacenó en tubos de polipropileno para su congelamiento a -20°C hasta el momento de su análisis. La concentración de LH inmunoreactiva se midió con un radioinmunoensayo en fase líquida, para LH bovina (12). El trazador se formó con la incorporación del NaI125 al USDA-bLH-B5-AFP11743B, con el método del IODO-GEN (13) in basic (A, pH, 10.75-9.75; B, pH 9.58-8.41). La misma proteína se empleó como referencia a las dosis de 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 y 10 ng tubo<sup>-1</sup> en cuatro replicas. El anticuerpo primario (anti-oLH-26) se utilizó a una dilución de trabajo 1:60,000 en presencia de suero normal de conejo, 1:1600 y la separación del complejo antígeno-anticuerpo se obtuvo en presencia del anticuerpo secundario (anti-IgG de conejo generado en burro, 1:80) posterior a la incubación de 120 h a 4°C. La cantidad mínima detectable en el sistema fue 0.05 ng mL<sup>-1</sup> y los coeficientes de variación (CV) intra ensayo fue de 12.9%, los valores obtenidos se reportan en ng mL<sup>-1</sup>.

**Análisis estadístico.** Los datos fueron analizados con el Modelo Lineal Generalizado (GENMOD) del paquete estadístico (SAS 2013), en particular, con el uso de una regresión binomial negativa para las variables respuesta de conteos, las cuales fueron: TO, ONF, EC1, ET y total de estructuras recolectadas (TER).

Para la variable IE (h), se evaluó por medio de la curva de supervivencia de Log Rank y las gráficas de Kaplan-Meier. En el análisis para LH, se utilizó la prueba de Tukey para el efecto del intervalo de muestreo y análisis de medias entre tratamientos. Los resultados se muestran como media ± error estándar, y las diferencias se consideran significativas cuando  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Para las condiciones en que se llevó a cabo la presente investigación, se encontró que el 100% de las ovejas tratadas en todos los tratamientos presentaron señales externas de estro, lo cual es una respuesta favorable del protocolo hormonal utilizado en el estudio. Así mismo, no hubo diferencias ( $p > 0.05$ ) en la variable horas del inicio a la manifestación del estro después de retirado el CIDR (Figura 2).



**Figura 2.** Curvas de supervivencia del IE en horas post-retiro del CIDR en ovejas sometidas a diferentes tratamientos de ovulación múltiple (T1=FSH; T2=FSH+LH 12 h y T3=FSH+LH 24 h).

En la respuesta de la variable TO fue similar entre tratamientos ( $p > 0.05$ ).

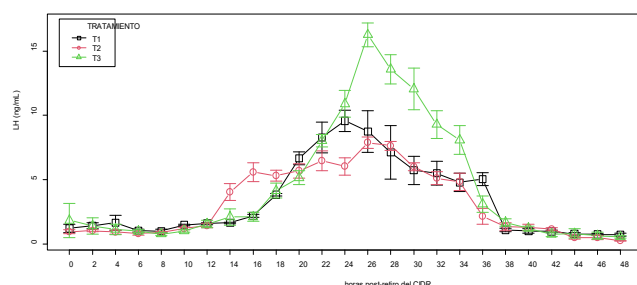
El T2 presentó el mayor número de ONF ( $p < 0.05$ ), superando con 3.7 al T3 y en 4.1 al T1, respectivamente. Por otro lado, los ET están en función de la calidad y desarrollo embrionario, por tanto, el T3 fue superior y diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ) al T1 y T2, quienes mostraron el menor número de EC1 y ET, respectivamente, lo cual indica efecto positivo de la aplicación de la hormona r-hLH 24 h después de retirar el CIDR. Con relación al TER, el número fue mayor ( $p < 0.05$ ) en el T3 y T2 comparado con T1 respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Respuesta ovulatoria y producción de embriones en ovejas de la raza Pelibuey sometidas a diferentes tratamientos de ovulación múltiple (medias  $\pm$  error estándar).

Variables	Tratamiento (n=6)		
	T1	T2 (LH 12 h)	T3 (LH 24 h)
Ovejas en estro (%)	100.0	100.0	100.0
Horas a la presencia del estro (h)	12.6 $\pm 0.7$ <sup>a</sup>	13.3 $\pm 1.7$ <sup>a</sup>	12.6 $\pm 0.7$ <sup>a</sup>
<sup>1</sup> Tasa Ovulatoria (CL)	13.3 $\pm 3.0$ <sup>a</sup>	14.5 $\pm 2.9$ <sup>a</sup>	12.3 $\pm 1.9$ <sup>a</sup>
Ovocitos No Fertilizados	0.83 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>	5.0 $\pm 2.3$ <sup>b</sup>	1.3 $\pm 0.7$ <sup>a</sup>
Embriones Calidad 1	1.1 $\pm 0.3$ <sup>a</sup>	0.6 $\pm 0.5$ <sup>a</sup>	3.1 $\pm 1.1$ <sup>b</sup>
Embriones Transferibles	4.0 $\pm 0.6$ <sup>a</sup>	2.0 $\pm 1.0$ <sup>a</sup>	6.6 $\pm 0.9$ <sup>b</sup>
Total de Estructuras Recolectadas	5.3 $\pm 0.9$ <sup>a</sup>	7.0 $\pm 2.0$ <sup>b</sup>	8.7 $\pm 1.9$ <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre hileras indican diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ). <sup>1</sup>Número de cuerpos lúteos.

Las mayores concentraciones plasmáticas de LH se presentaron en las ovejas que recibieron una dosis de 75 UI de lutropina alfa (r-hLH) a las 24 h siguientes a la extracción del CIDR (Figura 3).



**Figura 3.** Concentraciones plasmáticas de LH ( $\text{ng mL}^{-1}$ ) en ovejas Pelibuey sometidas a diferentes tratamientos de ovulación múltiple (T1=FSH; T2=FSH+LH 12 h y T3=FSH+LH 24 h).

## DISCUSIÓN

Los protocolos de múltiple ovulación muestran una gran variabilidad en la respuesta ovárica con respecto al desarrollo folicular y el rendimiento embrionario. Esta respuesta depende del tratamiento de hiperestimulación; dosis de FSH, relación FSH:LH, época del año y del intervalo de tiempo entre colectas en una misma oveja (4,11,14). En el presente estudio se encontró información relevante de las diferencias en la

función ovárica y el pico preovulatorio entre el momento de la aplicación de r-hLH sobre la ovulación inducida en ovejas; estas diferencias se han centrado principalmente en la funcionalidad de los folículos preovulatorios, la concentración de LH basal, el momento y las características del pico de LH preovulatorio (7).

Para las condiciones del presente estudio, se obtuvo como resultados que el 100% de las hembras tratadas presentaron señales externas de estro en promedio a las 12 h post-retiro del CIDR. García-Salas et al (11) reportan las mismas horas al inicio del estro cuando se utiliza solo FSH-p, en comparación con una combinación de FSH-LH y siendo aún menor las horas a la presencia del estro cuando se adiciona eCG. El inicio del estro ocurre más temprano en animales con altas concentraciones circulantes de estradiol en el momento de retirado el dispositivo y 12 h posteriores (11). Para la variable TO se presentó semejanza entre grupos experimentales ( $p > 0.05$ ), con una respuesta ovulatoria positiva y similar a otros estudios (15,16). En los resultados de TO de este estudio, la aplicación de r-hLH no tuvo influencia significativa, ya que los números reportados en otros estudios son similares a los obtenidos.

Por su parte, en los ONF, se encontró diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ), con lo cual se obtuvo una mayor cantidad en el tratamiento con aplicación de r-hLH a 12 h de retirado el CIDR (T2) en comparación a la aplicación a 24 h post-retiro del mismo (T3) y el tratamiento sin aplicación de r-hLH (T1). En el T2, la aplicación de r-hLH quizá pudo haber provocado una ovulación temprana, y como consecuencia, la unión de los gametos no se dio en el tiempo y lugar idóneo para llevar a cabo la fecundación (17,18). Para las variables EC1 y ET, se encontró una mayor cantidad en el T3 con aplicación de r-hLH a 24 h de retirado el CIDR, a consecuencia de la amplitud y frecuencia de LH en el organismo de la oveja; esto probablemente como respuesta a una mayor sincronía en la ovulación que permite una mejor tasa de fecundación y producción embrionaria (10,19). Martínez-Ros et al (7) demostraron que el pico de LH surge en un rango de  $8 \pm 3.7$  a  $12 \pm 5.7$  h de haber iniciado el estro. Con base en lo anterior, se puede explicar del porque el pico de LH se potencializa más en las ovejas del T3 en el cual se obtuvieron los mejores resultados de ET. Sin embargo, se ha reportado que la relación FSH/LH de manera temprana, influye de manera negativa en la respuesta superovulatoria y en el momento de la fecundación (11,20).

El resultado de este estudio mostró un ligero incremento en la cantidad de ET ( $6.6 \pm 0.9$ ) en comparación con otros estudios reportados (5,14), lo cual indica que la adición de la r-hLH a 24 h posteriores al retiro del progestágeno, tuvo influencia favorable para potencializar el pico de LH, lo cual provocó la ovulación de los folículos y con ello favoreció el momento de la unión de los gametos para dar paso a la fertilización. Para los niveles basales de LH, hace notar un pico preovulatorio muy marcado en las aplicaciones de r-hLH a las 24 h, en relación con el pico preovulatorio presente de manera natural, lo cual fue indicativo en la respuesta de la cantidad y calidad de embriones obtenidos en los diferentes tratamientos (5,19,21,22).

En conclusión, la aplicación de r-hLH a las 24 h posteriores al retiro del progestágeno, potencializa una mayor amplitud del pico de LH, lo cual aporta un resultado positivo en cuanto a un menor número de ovocitos no fertilizados y una mayor calidad y cantidad de embriones transferibles en los tratamientos de superovulación en ovejas Pelibuey.

## Conflicto de interés

Los autores de este estudio declaramos que no existe conflicto de intereses con la publicación del presente manuscrito.

## Agradecimientos

Se agradece al Campus San Luis Potosí, Campus Montecillo y Campus Córdoba, por las facilidades brindadas para realizar esta investigación y a las Líneas de Generación y/o Aplicación del Conocimiento: Manejo Sustentable de Recursos Naturales (Campus SLP) y Ganadería eficiente, bienestar sustentable y cambio climático (PREGEP-Ganadería, Campus Montecillo), del Colegio de Postgraduados.

## Financiación

Este estudio fue financiado con recursos propios del Colegio de Postgraduados, de los programas de Posgrado en Innovación en Manejo de Recursos Naturales (Campus SLP) y Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería (Campus Montecillo).

## REFERENCIAS

- Macías-Cruz U, López-Baca MA, Vicente R, Mejía A, Álvarez FD, Correa-Calderón A, et al. Effects of seasonal ambient heat stress (spring vs. summer) on physiological and metabolic variables in hair sheep located in an arid region. *Int J Biometeorol.* 2016; 60(8):1279–1286. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1123-6>
- Muñoz-García C, Vaquera-Huerta H, Gallegos-Sánchez J, Becerril-Pérez CM, Tarango-Arámbula LA, Bravo-Vinaja Á, et al. Influence of FecG E mutation on the reproductive variables of Pelibuey ewes in the anestrus period. *Trop Anim Health Prod.* 2021; 53(2):4–10. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02755-7>
- Moreira NH. Short protocol with progesterone-CIDR shows high ovulation synchrony and high fertility following artificial insemination in hair sheep. *Research Square.* 2023. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2729531/v1>
- Lagares M de A, Varago FC, Moustacas VS, Gheller VA, Nicolino RR, Borges I, et al. Effect of season and frequency of embryo collections on superovulatory response and embryo recovery in Santa Inês hair sheep. *Small Rumin Res.* 2021; 201:1-5. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106441>
- Arashiro EKN, Pinto PHN, Lima JTM, Henry M, Ascoli FO, Souza-Fabjan JMG, et al. Three superovulation protocols for in vivo embryo production in Santa Inês sheep. *Ciência Rural.* 2022; 52(8):1-7. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210308>
- Oliveira MEF, Figueira LM, Fabjan JMGS, Fonseca JF da. New approaches to superovulation in goats and sheep. *Rev Bras Reprodução Anim.* 2021; 45(4):229–235. <https://doi.org/10.21451/1809-3000-RBRA2021.029>
- Martinez-Ros P, Astiz S, Garcia-Rosello E, Rios-Abellan A, Gonzalez-Bulnes A. Effects of short-term intravaginal progestagens on the onset and features of estrus, preovulatory LH surge and ovulation in sheep. *Anim Reprod Sci.* 2018; 197:317–323. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.046>

8. D'Alessandro AG, Martemucci G, Taibi L. How the FSH/LH ratio and dose numbers in the p-FSH administration treatment regimen, and insemination schedule affect superovulatory response in ewes. *Theriogenology*. 2005; 63(6):1764–1774. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.08.002>
9. Bartlewski PM, Seaton P, Franco Oliveira ME, Kridli RT, Murawski M, Schwarz T. Intrinsic determinants and predictors of superovulatory yields in sheep: Circulating concentrations of reproductive hormones, ovarian status, and antral follicular blood flow. *Theriogenology*. 2016; 86(1):130–143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.024>
10. Endo N, Tamesaki C, Ohkura S, Wakabayashi Y, Matsui H, Tanaka A, et al. Differential changes in luteinizing hormone secretion after administration of the investigational metastin/kisspeptin analog TAK-683 in goats. *Anim Reprod Sci*. 2015; 159:87–93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.05.016>
11. García-Salas A, Cortez-Romero C, Salazar-Ortiz J, Arroyo-Ledezma J, Ruíz-Vera VM, Vaquera-Huerta H, et al. Administration of exogenous hormones in ovulatory and embryonic response in Pelibuey sheep. *Reprod Domest Anim*. 2017; 52(3):446–451. <https://doi.org/10.1111/rda.12930>
12. Perera-Marín G, Gutiérrez CG, Murcia C, León H, González-Padilla E. Progesterone and the distribution of pituitary gonadotropin isoforms in cattle. *Anim Reprod Sci*. 2008; 104(2–4):164–176. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.015>
13. Ortega Á, Olivares A, Murcia C, Díaz D, González-Padilla E, Montero A, et al. Biological and immunological activity in bovine luteinizing hormone charge isoforms. *Rev Mex Ciencias Pecu*. 2016; 7(1):29–51. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v7i1.4148>
14. Figueira LM, Alves NG, Maia ALR e. S, Souza-Fabjan JMG de, Batista RITP, Morais MC da C, et al. Embryo yield and quality are associated with progestogen treatment during superovulation protocol in lactating Lacaune ewes. *Theriogenology*. 2020; 155:132–138. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.004>
15. Kolling APM, Brilhante GC, Drechmer J, Santos LM, Silva BDM, Ramos AF. Relationship between superovulation and embryo production with ovarian follicular population before superovulatory treatment in Brazilian Bergamasca sheep. *Arq Bras Med Vet e Zootec*. 2021; 73(1):115–122. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12105>
16. Forcada F, Amer-Meziane MA, Abecia JA, Maurel MC, Cebrián-Pérez JA, Muiño-Blanco T, et al. Repeated superovulation using a simplified FSH/eCG treatment for in vivo embryo production in sheep. *Theriogenology*. 2011; 75(4):769–776. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.10.019>
17. Simonetti L, Forcada F, Rivera OE, Carou N, Alberio RH, Abecia JA, et al. Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. *Anim Reprod Sci*. 2008; 104(2–4):227–237. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.01.020>
18. Salehi R, Kohram H, Towhidi A, Moakhar HK, Honarvar M. Follicular development and ovulation rate following different superovulatory treatments in Chall ewes. *Small Rumin Res*. 2010; 93(2–3):213–217. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.05.017>
19. Nikbakht K, Habibizad J, Meamar M. Effect of GnRH and hCG injection on the reproductive performance and serum progesterone concentration of ewes during spring season. *Vet Res Forum*. 2022; 13(4):553–561. <https://doi.org/10.30466/vrf.2021.527306.3158>
20. Brasil OO, Moreira NH, Santos G, Silva BDM, Mariante AS, Ramos AF. Superovulatory and embryo yielding in sheep using increased exposure time to progesterone associated with a GnRH agonist. *Small Rumin Res*. 2016; 136:54–58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.01.005>
21. Falchi L, Ledda S, Zedda MT. Embryo biotechnologies in sheep: Achievements and new improvements. *Reprod Domest Anim*. 2022; 57(Suppl. 5):22–33. <https://doi.org/10.1111/rda.14127>
22. Saleh M, Holtz W. LH pattern and ovarian response in ovsynch-synchronized superovulated goats induced to ovulate with GnRH or hCG. *Theriogenology*. 2022; 185:61–69. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.03.020>