

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Efecto del tiempo de la inseminación artificial a tiempo fijo con semen refrigerado sobre la fertilidad de cabras en el anestro

Por:

David Velázquez Moctezuma

TESIS

Que presenta como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2024

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efecto del tiempo de la inseminación artificial a tiempo fijo con semen refrigerado sobre la fertilidad de cabras en el anestro

Por

David Velázquez Moctezuma

TESIS


Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA


Aprobada por:



Dr. Alan Sebastián Alvarado Espino
Presidente




Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva
Vocal



Dr. Fernando Arellano Rodríguez
Vocal



Dr. Oscar Angel García
Vocal suplente


MC. José Luis Francisco Sandoval Elias
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2024

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efecto del tiempo de la inseminación artificial a tiempo fijo con semen refrigerado sobre la fertilidad de cabras en el anestro

Por

David Velázquez Moctezuma

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el comité de asesoría:



Dr. Alan Sebastián Alvarado Espino

Asesor principal



Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva

Coasesor



Dr. Fernando Arellano Rodríguez

Coasesor



MC. José Luis Francisco Sandoval Elias

Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2024

Agradecimientos

Agradezco **a mis padres** Andrés Velázquez Yáñez y Florencia Moctezuma Martínez por darme su confianza, su tolerancia, por ser mi guía y sobre todo por su amor y cariño.

A mis hermanos, Noemí Clarita, Elías y Flor por su apoyo incondicional, por estar conmigo en todo momento y ser mis amigos y compañeros en esta vida.

Al Dr. Alan Sebastián Alvarado Espino, por su apoyo y tiempo invertido en este trabajo.

Dedicatoria

A mis padres y hermanos.

Índice

	Pag.
Agradecimientos.....	i
Dedicatoria	ii
Índice.....	iii
Índice de Figuras y Cuadros.....	iv
Resumen	v
Palabras clave:	v
Abstract	vi
Key words	vi
1. Introducción.....	1
1.1. Hipótesis	2
1.2. Objetivo.....	2
2. Revisión de Literatura	3
2.1 Reproducción caprina	3
2.2 Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)	4
2.3 Tratamientos de inducción y sincronización.....	5
2.4 Conservación del semen.....	6
3. Materiales y Métodos	7
4. Resultados y Discusión	8
6. Referencias	9

Índice de Figuras y Cuadros

	Pag.
Figura1. Esquema de los eventos fisiológicos del ciclo estral en cabras	3
Cuadro1. Preñez en cabras anovulatorias inseminadas a tiempo fijo con semen refrigerado 48-60 h y 60-72 h después de la administración de la hCG	8

Resumen

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del momento de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) sobre la tasa de preñez en cabras durante el anestro estacional. Se emplearon 39 cabras lecheras multíparas de la raza Alpina manejadas en un sistema intensivo. Al inicio del experimento las cabras se encontraban anovulatorias. El protocolo de IATF consistió en la aplicación de 20 mg de P4 inyectable seguido por 100 UI de hCG 24 h después. El día de la administración de la hCG (día 0), las cabras fueron asignadas aleatoriamente a ambos grupos. Las cabras del primer grupo se inseminaron a tiempo fijo a las 48 y 60 h después de la inyección de hCG (IATF 48-60 h; n = 21); mientras que las cabras del segundo grupo se inseminarán a las 60 y 72 h (IATF 60-72 h; n = 18) después de la hCG. La IATF se realizó con semen refrigerado a 4 °C diluido en leche desnatada bovina ultrapasteurizada. El diagnóstico de gestación se realizó 45 días después de la IATF. La preñez en general fue del 56.4% (22/39). No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de preñez en las cabras de ambos grupos ($P > 0.05$). Los resultados de la presente tesis indican que el tiempo de la inseminación artificial no influyó en la tasa de preñez de las cabras.

Palabras clave: Fertilidad, Estacionalidad, Desempeño reproductivo, Espermatozoides, Ovulación

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of the timing of fixed-time artificial insemination (FTAI) on the pregnancy rate in goats during seasonal anestrus. Thirty-nine multiparous dairy goats managed in an intensive system were used. At the beginning of the experiment the goats were anovulatory. The FTAI protocol consisted of the application of 20 mg of injectable P4 followed by 100 IU of hCG 24 h later. On the day of hCG administration (day 0), the goats were randomly assigned to two groups. The goats in the first group were inseminated at a fixed time at 48 and 60 h after hCG injection (IATF 48-60 h; n = 21); whereas the goats in the second group were inseminated at 60 and 72 h (IATF 60-72 h; n = 18) after hCG. FTAI was performed with refrigerated semen at 4 °C diluted in ultra-pasteurized bovine skim milk. The pregnancy diagnosis was made 45 days after FTAI. Overall pregnancy was 56.4% (22/39). No significant differences were observed in the percentage of pregnancy in the goats of both groups ($P>0.05$). These results indicate that the time of artificial insemination did not influence the pregnancy rate of the goats under intensive management condition.

Key words: Fertility, Seasonality, Reproductive performance, Spermatozoa, Ovulation

1. Introducción

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) es una importante biotecnología reproductiva que permite inseminar un gran número de hembras en un momento predeterminado, sin la necesidad de la detección del celo, haciendo más eficiente el uso de machos genéticamente superiores en los programas de mejoramiento genético en pequeños rumiantes (Menchaca & Rubianes, 2004). Sin embargo, la implementación de un programa de IATF requiere del uso de tratamientos hormonales para sincronizar el momento de la ovulación en las hembras y concentrar la inseminación artificial (IA) (Martemucci & D'Alessandro, 2011).

Actualmente, los protocolos empleados para inducir y sincronizar la ovulación en las cabras para la IATF se encuentran los protocolos a base de dispositivos intravaginales impregnados con progesterona (P4) más la aplicación de gonadotropina coriónica equina (eCG) al retirar los dispositivos intravaginales (Gonzalez-Bulnes et al., 2020). Estos tratamientos duran de 12 a 14 días (tratamientos “Largos”) o bien de 5 a 6 días (tratamientos “Cortos”) y ambos pueden emplearse tanto en la época reproductiva como en el anestro (Gonzalez-Bulnes et al., 2020) y la inseminación artificial (IA) se realiza entre 48 y 60 h después de retirado el dispositivo de P4 (Martemucci & D'Alessandro, 2011). Por otra parte, el uso de protocolos a base de P4 inyectable más gonadotropina corionica humana (hCG) 24 h después induce el estro y la ovulación de manera predeterminada facilitando su empleo en protocolos de IATF (Alvarado-Espino et al., 2016, 2019). Con este protocolo la IATF con semen fresco se realiza 60 h después de la administración de la hCG obteniéndose una tasa de preñez del 55.6% (Alvarado-Espino et al., 2019).

El uso de semen refrigerado a 4 °C permite el uso del semen durante un período de tiempo más largo en comparación con el semen fresco (Menchaca et al., 2005). De acuerdo con Sadeghi et al. (2020) las ventajas del semen refrigerado incluyen un manejo más fácil de las dosis de IA, el transporte y la tasa de fertilidad más alta en comparación con las dosis de IA congeladas. Sin embargo, todavía no se ha

evaluado el momento óptimo de la IATF con semen refrigerado en cabras tratadas con un protocolo a base de P4 inyectable más hCG.

1.1. Hipótesis

La hipótesis de este trabajo fue que el momento de la inseminación artificial a tiempo fijo con semen refrigerado influye sobre la tasa de preñez en cabras en anestro.

1.2. Objetivo

Determinar el efecto del momento de la inseminación artificial a tiempo fijo sobre la tasa de preñez en cabras durante el anestro estacional.

2. Revisión de Literatura

2.1 Reproducción caprina

Las cabras son animales poliéstricos estacionales de días cortos. En latitudes templadas su época reproductiva inicia en otoño-invierno y la época de anestro inicia en primavera y verano (Amoah et al., 1996). Este patrón reproductivo anual está mediado principalmente por la cantidad de horas luz durante el día o fotoperiodo, aunque la nutrición y las relaciones sociosexuales pueden modificarlo (Gnatek et al., 1989). Durante la época reproductiva las cabras presentan varios ciclos estrales cada 21 días. El ciclo estral se divide en fase folicular y luteal (Figura 1). En la fase folicular ocurre el crecimiento de los folículos y el estro. Durante el estro las cabras se muestran receptivas al macho y permiten la monta. El estro tiene una duración de 24 a 48 h y hacia el final ocurre la ovulación dando inicio a la fase luteal. La fase luteal se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo responsable de la secreción de P4 (Fatet et al., 2011). Hacia el final de esta fase, si la hembra fue fecundada ocurre el reconocimiento materno de la preñez entre los días 15 y 17 del ciclo estral (Gnatek et al., 1989), estableciéndose la preñez y la secreción de P4 por el CL durante los 150 días de la gestación. En caso contrario, el útero secreta prostaglandina F2 α causando la lisis del CL iniciándose nuevamente un ciclo estral (Fatet et al., 2011).

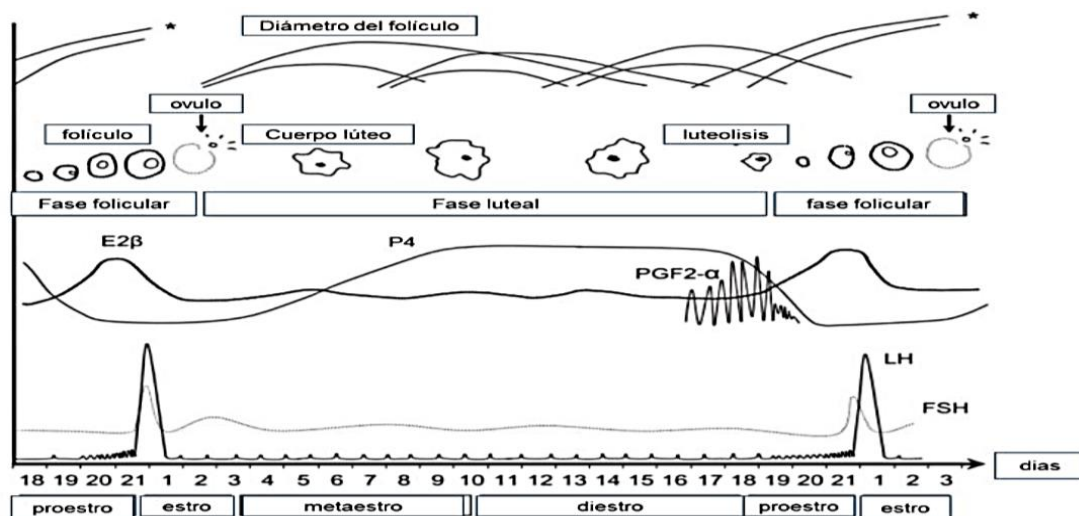


Figura1. Esquema de los eventos fisiológicos del ciclo estral en cabras (Fatet et al., 2011).

Conforme las horas luz durante el día comienzan a aumentar las cabras dejan de ovular de manera espontánea dando inicio a la época de anestro que en el norte de México se presenta de finales de febrero hasta agosto (Delgadillo et al., 2015) aunque esto no es exacto pues la alimentación, condición corporal, época de nacimiento, raza y la estimulación pueden modificar estas fechas alargándolas y también acortando la época anestríca (De Santiago-Miramontes et al., 2009; Duarte et al., 2008). Durante el anestro es posible controlar la temporada de anestro mediante la utilización con protocolos hormonales para inducir la ovulación en las cabras y permiten la aplicación de la inseminación artificial a tiempo fijo durante los meses del anestro (Simões et al., 2008).

2.2 Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)

La IATF es una tecnología de reproducción asistida que consiste en la aplicación de una dosis de semen en el aparato reproductor femenino mediante instrumentos en un momento predeterminado (Gibbons et al., 2019). Esta biotecnología reproductiva ha sido un gran avance en la reproducción caprina, y es una herramienta esencial en los programas de selección genética caprina sin la necesidad de la detección del celo lo que permite inseminar un mayor número de hembras a la vez (Menchaca & Rubianes, 2004). Además, permite la programación de los partos y la producción de carne y leche (Faigl et al., 2012). Para que esta técnica resulte efectiva se debe depositar el semen unas horas antes de que se dé la ovulación (Simões et al., 2008). Esto es posible gracias a que se tiene conocimiento de cuando ocurre la ovulación haciendo una sincronización de celo puesto que normalmente es de 48 a 72 posteriores al terminado el tratamiento (Valenzuela-Jiménez., 2004). Este programa reproductivo es de alto impacto en la producción pecuaria puesto que ofrece una mejora en el control de enfermedades, así como la posibilidad de usar genética de cualquier parte del mundo y el poder sincronizar la época de partos con las fechas más convenientes dependiendo de las necesidades de cada granja (Souza-Fabjan et al., 2023).

En particular, en pequeños rumiantes, la IATF se realiza principalmente depositando semen fresco a través del cuello uterino con una tasa de preñez que varía de entre

el 40% y 60% (Anel et al., 2005). Otras de las técnicas es la inseminación artificial por laparoscopia, en la que el semen se deposita directamente en el interior del útero a través de una incisión en el abdomen y su eficacia llega al 80% incluso con semen congelado (López et al., 2014).

2.3 Tratamientos de inducción y sincronización

La inducción y sincronización del estro significa que un grupo de hembras tengan la misma etapa del ciclo estral, ya sea dentro o fuera de la época reproductiva. Esto se logra mediante la aplicación de hormonas reproductivas permitiendo controlar la actividad sexual en hembras y facilitar el uso de la IATF (Gibbons et al., 2019). Los tratamientos más utilizados para la sincronización e inducción del estro consisten en la aplicación de dispositivos intravaginales de liberación controlada de P4 (CIDR) o esponjas intravaginales impregnadas con acetato de fluorogestona (FGA) o acetato de medroxiprogesterona (MAP) asociadas con gonadotropina coriónica equina (eCG) al retirar los dispositivos intravaginales (Gibbons et al., 2019). Por otro lado, durante la estación reproductiva, la sincronización del estro también se puede conseguir mediante la lisis del cuerpo lúteo a través de la administración de PGF2 α (Fierro et al., 2016).

En los tratamientos con progestágenos se utilizan durante períodos de 12 a 14 días (tratamientos “Largos”) o bien de 5 a 6 días (tratamientos “Cortos”) (González-Bulnes et al., 2020), independientemente de la etapa del ciclo estral o del estado folicular del ovario en el momento del inicio del tratamiento (Dos Santos-Neto et al., 2015). Sin embargo, han surgido protocolos sin dispositivos intravaginales de progestágenos para inducir y sincronizar el estro y la ovulación en hembras anovulatorias. Este protocolo consiste en una única inyección de P4 más una inyección intramuscular de 250 UI de eCG 24 h después induciendo una respuesta ovárica aceptable de forma parecida a una esponja intravaginal (Contreras-Villarreal et al., 2016). Similarmente, el uso de P4 más hCG de forma inyectable fue efectivo para sincronizar el estro y la ovulación en cabras alpinas multíparas anovulatorias, ya que la mayoría de las cabras mostraron estro dentro de las 48 a 60 h posteriores

a la inyección de hCG y la tasa de preñez después de la IATF o monta natural fue ≥ 50 al 70%, respectivamente (Alvarado-Espino et al., 2016; 2019).

2.4 Conservación del semen

En caprinos la IATF puede realizarse con semen fresco, refrigerado o congelado/descongelado (Baldassarre & Karatzas, 2004). El semen fresco debe utilizarse inmediatamente después de recogido, de lo contrario su viabilidad disminuye rápidamente pues, aunque el semen recolectado puede mantenerse a 28-30 °C en baño maría durante la inseminación, ya sea puro o diluido y solo es viable por un período de tiempo que no exceda de 30 a 60 minutos (Gibbons et al., 2019). Esto lo vuelve un problema la hora de planificar una IATF, por ello la necesidad de aplicar métodos de conservación de semen. En este sentido, el uso de semen refrigerado (4-5 °C) puede ser una alternativa al semen fresco ya que permite conservar el semen por un periodo más prolongado (Sadeghi et al., 2020). El uso de semen refrigerado en caprinos es una práctica económicamente viable, fácil de implementar, con resultados aceptables y prometedores (Amorim et al., 2020). No obstante, es sabido que el semen refrigerado sufre una disminución de la motilidad y la integridad estructural, acompañada de una disminución de la supervivencia en el tracto reproductivo femenino, una reducción de la fertilidad y un aumento de las pérdidas embrionarias (Paulenz et al., 2002). Aunque, en general, este daño es menor que en el semen congelado-descongelado (Amorim et al., 2020) mejorando la tasa de preñez (Baldassarre & Karatzas, 2004). Esto posiciona el semen fresco y refrigerado como la opción más viable en distancias cortas entre los animales y el semental (Gacitua & Arav, 2005).

3. Materiales y Métodos

El estudio se realizará en el municipio de Lerdo, Durango, en el mes de junio. Este municipio se localiza entre las coordenadas 25°32'10"N - 103°31'28"O, cuenta con un clima árido-cálido y una temperatura media anual de 21.3 °C; y tiene una precipitación pluvial de 200 mm principalmente en los meses de julio y agosto. Para el estudio se emplearán 39 cabras lecheras multíparas de la raza Alpina manejadas en un sistema intensivo. Al inicio del experimento todas las hembras deberán encontrarse en anestro el cual se determinará mediante dos exámenes de ultrasonido transrectal (Aloka SSD 500, Tokio, Japón; transductor 7.5 MHz) realizado con 8 días de diferencia con el segundo realizado justo antes de comenzar el experimento. Se considerará que una cabra está en anestro cuando no se observe ningún cuerpo lúteo en ambos ultrasonidos. Las hembras tendrán una condición corporal de 3.0 ± 0.3 y su alimentación durante todo el experimento será a base de heno de alfalfa más 250 g de concentrado por animal durante el ordeño. Las cabras serán ordeñadas todas las mañanas.

Para el protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se utilizará el tratamiento descrito por Rodríguez-Martínez et al. (2018) que consiste en la aplicación de 20 mg de P4 inyectable (0.4 mL/cabra, Progesterona, Zoetis, México) seguido por 100 UI de hCG (0.1 mL/cabra, Chorulon, Intervet, México) 24 h después. El día de la administración de la hCG (día 0), las cabras serán asignadas aleatoriamente a cada uno de los dos grupos experimentales con base en su condición corporal como parte del procedimiento de aleatorización. Las cabras del primer grupo se inseminarán a tiempo fijo a las 48 y 60 h después de la inyección de hCG (IATF 48-60 h; n = 21); mientras que las cabras del segundo grupo se inseminarán a las 60 y 72 h (IATF 60-72 h; n = 18). La IATF se realizará con semen refrigerado a 4 °C diluido en leche desnatada bovina ultrapasteurizada en un paso para obtener una concentración final de 800×10^6 por ml en ambos grupos.

Una vez terminado, el semen será transportado en una caja de poliestireno a 4 °C hasta las granjas. Al momento de la IATF, el semen se colocará en pajillas de 0.25 mL y la IATF se realizará por vía cervical. Todas las inseminaciones serán

realizadas por el mismo técnico. Finalmente, la tasa de preñez será evaluada 45 días después de la IATF por ultrasonografía transrectal (7.5 MHz, Aloka SSD 500, Tokio, Japón).

El análisis estadístico se realizará utilizando el software SAS (SAS Institute Inc., Cary, Carolina del Norte). La tasa de preñez será analizada por regresión logística usando el modelo GENMOD link logit de SAS.

4. Resultados y Discusión

Los resultados de la presente tesis se muestran en la Cuadro 1. La preñez en general fue del 56.4% (22/39). No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de preñez en las cabras IATF a las 48-60 h y 60-72 h después de la administración de hCG ($P>0.05$).

Cuadro 1. Preñez en cabras anovulatorias inseminadas a tiempo fijo con semen refrigerado 48-60 h y 60-72 h después de la administración de la hCG

	IATF 48-60 h	IATF 60-72 h
Preñez (%)	57.1% (12/21) ^a	55.5% (10/18) ^a

Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ($P<0.05$)

La IATF es una biotecnología reproductiva que entre sus ventajas se encuentra el inseminar un gran número de animales en un momento determinado. Para lograr lo anterior es necesario que las cabras ovulen al mismo tiempo lo cual se logra mediante la inducción y sincronización del estro mediante tratamientos hormonales (Martemucci & D'Alessandro, 2011). El éxito de un programa de IATF se basa en que queden gestantes el mayor número de hembras inseminadas para lo cual es necesario conocer el momento de la ovulación e inseminar a las hembras unas horas antes de que esta ocurra (Stelletta et al., 2017). En general, la tasa de preñez obtenida en el presente independientemente del momento de la IATF fue del 56.4%. Lo anterior concuerdan con estudios anteriores quienes obtuvieron una tasa de

preñez (52.2%) después IATF en cabras tratadas con esponjas intravaginales y eCG (Lehloenya et al., 2005) o después de una única IATF utilizando el mismo protocolo de P4 inyectable más hCG (Alvarado-Espino et al., 2019).

En este experimento el momento de la IATF con semen refrigerado no influyó en la tasa de preñez. El intervalo entre la IA y la ovulación es uno de los principales factores que influyen en la tasa de preñez en los protocolos de IATF (Stelletta et al., 2017). Para obtener aumentar la fertilidad, es recomendable que la IA se realice antes o alrededor del tiempo esperado de la ovulación para permitir que los espermatozoides lleguen al lugar de la ovulación y ocurra la capacitación espermática al momento de la ovulación (Lauber et al., 2020; Romano et al., 2016). En nuestro estudio, el porcentaje de cabras preñadas fue similar entre aquellas cabras IATF a las 48 y 60 h y entre las IATF a 60 y 72 h mediante inseminación cervical. Lo anterior podría deberse a que el protocolo a base de P4 inyectable más hCG, induce el estro entre 48 y 60 h después de la administración hCG y la ovulación 24-36 h después tanto en cabras nulíparas como en nulíparas (Alvarado-Espino et al. 2019). De acuerdo a lo anterior, es probable que, en ambos grupos, la IATF ocurrió alrededor del tiempo esperado de la ovulación.

5. Conclusión

Los resultados de la presente tesis indican que el tiempo de la inseminación artificial no influyó en la tasa de preñez de las cabras. Lo anterior indica que la IATF con semen refrigerado puede realizarse a las 48 + 60 h o 60 + 72 h después de la aplicación de la hCG en cabras tratadas con P4 inyectable más hCG durante el anestro.

6. Referencias

- Alvarado-Espino, A. S., Menchaca, A., Meza-Herrera, C. A., Mellado, M., Arellano, F., & Véliz, F. (2019). Use of injectable progesterone and hCG for fixed-time artificial insemination during the non-breeding season in goats. *Theriogenology*, 127, 21–25.
- Alvarado-Espino, A. S., Meza-Herrera, C. A., Carrillo, E., González-Álvarez, V. H., Guillen-Muñoz, J. M., Ángel-García, O., Mellado, M., & Véliz-Deras, F. G. (2016). Reproductive outcomes of Alpine goats primed with progesterone and

- treated with human chorionic gonadotropin during the anestrus-to-estrus transition season. *Animal Reproduction Science*, 167, 133–138.
- Amoah, E. A., Gelaye, S., Guthrie, P., & Rexroad Jr, C. E. (1996). Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *Journal of Animal Science*, 74(4), 723–728.
- Amorim, D, R., Santos, T, R., Magalhães, R, L., Alves, T, C., Waddington, D, B. (2020). Coconut water-based extender for seminal preservation in small ruminants: A meta-analysis study, *Small Ruminant Research*, 220, 106915.
- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, JC., Fuente, LF., De Paz P. (2005). Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology*. 63(4), 1235–1247.
- Baldassarre, H., & Karatzas, C. N. (2004). Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal reproduction science*, 82-83, 255–266.
- Contreras-Villarreal, V., Meza-Herrera, C. A., Rivas-Muñoz, R., Angel-Garcia, O., Luna-Orozco, J. R., Carrillo, E., Mellado, M., & Véliz-Deras, F. G. (2016). Reproductive performance of seasonally anovular mixed-bred dairy goats induced to ovulate with a combination of progesterone and eCG or estradiol. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*. 87(6), 750–755.
- De Santiago-Miramontes, M, A., Malpaux., Delgadillo, J, A. (2009). Body condition is associated with a shorter breeding season and reduced ovulation rate in subtropical goats. *Animal Reproduction Science*, 114, 175-182.
- Delgadillo, J, A., De Santiago-Miramontes, M, A., Carrillo, E. (2007). Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *Animal*, 1(6), 858-864.
- Delgadillo, J, A., Flores, J, A., Hernández, H., Poindron, P., Keller, M., Fitz-Rodríguez, G., Duarte, G., Vielma, J., Fernández, I. G., & Chemineau, P. (2015). Sexually active males prevent the display of seasonal anestrus in female goats. *Hormones and behavior*, 69, 8–15.
- Dos Santos-Neto, C., García-Pintos, A., Pinczak, A, Menchaca., (2015). Fertility obtained with different progestogen intravaginal devices using Short-term protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI) in sheep, *Livestock Science*, 182, 125-128.
- Duarte, G., Flores, J, A., Malpaux, B., Delgadillo, J, A. (2008). Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domestic Animal Endocrinology*, 35(4), 362-370.

- Faigl, V., Vass, N., Jávora, A., Kulcsár, M., Solti, L., Amiridis, G., & Cseh, S. (2012). Artificial insemination of small ruminants, A review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 60(1), 115-129
- Fatet, A., Pellicer-Rubio, M.-T., & Leboeuf, B. (2011). Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 211–219.
- Fierro, C., Viñoles, J., Olivera-Muzante. (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,
- Gacitua, H., & Arav, A. (2005). Successful pregnancies with directional freezing of large volume buck semen. *Theriogenology*, 63(3), 931–938.
- Gibbons, A. E., Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M. M., Spinelli, M. V., & Cueto, M. I. (2019). Technical recommendations for artificial insemination in sheep. *Animal Reproduction*, 16(4), 803–809.
- Gnatek, G. G., Smith, L. D., DUBY, R. T., & Godkin, J. D. (1989). Maternal recognition of pregnancy in the goat: effects of conceptus removal on Interestrus intervals and characterization of conceptus protein production during early pregnancy. *Biology of Reproduction*, 41(4), 655–663.
- Gonzalez-Bulnes, A., Menchaca, A., Martin, G. B., & Martinez-Ros, P. (2020). Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: Where we are and where we should go. *Reproduction, Fertility and Development*, 32(5), 441–452.
- Lauber, M. R., McMullen, B., Parrish, J. J., & Fricke, P. M. (2020). Effect of timing of induction of ovulation relative to timed artificial insemination using sexed semen on pregnancy outcomes in primiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 10856–10861.
- Lehloenya, K. C., Greyling, J. P. C., & Schwalbach, L. M. J. (2005). Reproductive performance of South African indigenous goats following oestrous synchronisation and AI. *Small Ruminant Research*, 57(2–3), 115–120.
- López. S., A., Coloma, M. A., Toledano, A., & Santiago-Moreno, J. (2014). Hormone-free protocols for the control of reproduction and artificial insemination in goats. *Reproduction in domestic animals. Zuchthygiene*, 49(4), 22–29.
- Martemucci, G., & D'Alessandro, A. G. (2011). Induction/synchronization of oestrus and ovulation in dairy goats with different short term treatments and fixed time intrauterine or exocervical insemination system. *Animal Reproduction Science*, 126(3–4), 187–194.

- Menchaca, A., & Rubianes, E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, 16(4), 403–413.
- Menchaca, A., Pinczak, A., & Queirolo, D. (2005). Storage of ram semen at 5 °C: effects of preservation period and timed artificial insemination on pregnancy rate in ewes. In *Anim. Reprod.*
- Paulenz, H., Söderquist, L., Pérez-Pé, R., Andersen, K. (2002). Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology*, 57(2), 823-836,
- Romano, J. E., Alkar, A., & Amstalden, M. (2016). Effect of copulation on estrus duration and ovulation time in goats. *Theriogenology*, 85(2), 330–334.
- Sadeghi, S., Del Gallego, R., García-Colomer, B., Gómez, E. A., Yániz, J. L., Gosálvez, J., López-Fernández, C., & Silvestre, M. A. (2020). Effect of sperm concentration and storage temperature on goat spermatozoa during liquid storage. *Biology*, 9(9), 300.
- Simões, G. J., Baril, J., Almeida, J. C., Azevedo, P., Fontes, R. Mascarenhas. (2008). Time of ovulation in nulliparous and multiparous goats. *Animal*, 2(5), 761-768.
- Souza-Fabjan, J. M. G., Oliveira, M. E. F., Guimarães, M. P. P., Brandão, F. Z., Bartlewski, P. M., Fonseca, J. M. (2023). Review: Non-surgical artificial insemination and embryo recovery as safe tools for genetic preservation in small ruminants. *Animal*, 17, 1.
- Stelletta, C., Tekin, K., Tirpan, M. B., Alemdar, H., Cil, B., Iau, F. O., Olgac, K. T., Inanc, M. E., & Daskin, A. (2017). Vulvar thermal pattern following synchronization of estrus is linked to fertility after timed artificial insemination in goat. *Theriogenology*, 103, 137–142.
- Valenzuela-Jimenez, N., Hernandez-Ceron J., Murcia-Mejia, C., Rodriguez-Maltos, R., Gutierrez, C. (2004). The effect of estradiol benzoate on the time to the LH peak, ovulation time and fertility in melengestrol acetate synchronized goats. *Agrociencia*, 38, 603–611.