

## I. Introducción

Los ovinos son un especie doméstica de gran importancia en las explotaciones pecuarias a nivel mundial, sin embargo, a partir de 1980 ha tenido una reducción paulatina en las diferentes regiones del mundo, observándose una mayor disminución en Oceanía, Europa y América Latina regiones que en los años 70's poseían el 60% de los ovinos. De manera paralela se ha observado un incremento en Asia y África, que a finales del siglo XX llegaron a poseer el 60% de la población ovina a nivel mundial (Rubianes y Ungerfeld, 2002).

De acuerdo a los datos de la FAO, la producción mundial de carne ovina se incrementó alrededor del 50% en los últimos 30 años. Mientras que la producción europea, latinoamericana y norteamericana disminuyó, la asiática se triplicó y la africana aumentó en un 50%. La producción cárnica de Oceanía se mantuvo estabilizada con una participación del 80% del comercio mundial (Rubianes y Ungerfeld, 2002).

Las tres principales zonas ovinas latinoamericanas comprenden: zona 1) Argentina, Brasil, Chile y Uruguay que con predominio de la raza Corriedale, concentrando casi toda la producción de lana regional; zona 2) Bolivia y Perú, producción basada fundamentalmente con ovejas criollas y zona 3) México. En esos 7 países se concentra el 91% del inventario actual ovino de América Latina y el Caribe. La población ovina como ya se señaló, ha disminuido en la región durante los últimos 30 años. Sin embargo, la evolución en los diferentes países ovejeros fue diferente. En Argentina se produjo un descenso permanente que determinó que el número total de cabezas en ese país al final del siglo fuese solo un tercio del que poseía a principios de los años 70's. En

Chile también hubo una disminución importante, mientras que Brasil y México la población se mantiene una población relativamente constante (Rubianes y Ungerfeld, 2002).

En México, los recursos genéticos ovinos, se basan principalmente en la cruce de Suffolk y Hampshire (Galina *et al.*, 1986).

En la industria ovina, la producción eficiente puede ser caracterizada por el número de corderos destetados por oveja por año, en los 90's el promedio era de un cordero destetado por oveja por año. Para incrementar esta variable reproductiva año es necesario incrementar la tasa de nacimientos; sin embargo, la estacionalidad de las ovejas tiene una influencia limitante, y algunas terapias hormonales tienen una aplicación práctica en la inducción del estro y ovulación durante la época no reproductiva, lo cual proporciona la oportunidad de tener mas de un cordero por año (Powell *et al.*, 1996).

El objetivo de este estudio fue comprobar si la utilización de dosis menores de FGA en la oveja afecta la presentación del estro y sus características de inicio y duración así como la presentación del pico preovulatorio de LH y sus características de duración y amplitud.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### 2.1. Fisiología de la reproducción de la oveja

#### 2.1.1. Estacionalidad

La oveja domestica (*Ovis aries*) pertenece a la familia Bovidae, es poliéstrica estacional de modo que las crías nacen durante el tiempo más favorable del año (primavera) (Hafez, 1989).

La actividad reproductiva estacional es una característica de algunas razas caprinas y ovinas originarias o adaptadas a las regiones subtropicales (Walkden-Brown *et al.*, 1994; Duarte, 2000) y es controlada por factores ambientales (Marshall, 1937) como el fotoperiodo, el cual organiza el ciclo sexual anual (Malpaux *et al.*, 1989).

El fotoperiodo estacional está dado por las horas luz y oscuridad, y éste es el principal factor ambiental responsable de la actividad reproductiva de las ovejas en latitudes de zona templada, la mayor parte de razas de ovejas están en fase anovulatoria o de anestro durante la primavera y el verano, pero comienza su ciclo conforme decrece la luz diurna durante el otoño lo que permite que los nacimientos sucedan en la época de mayor disponibilidad de forraje. En las zonas tropicales en donde hay menos variación en la duración del día, tienden a procrear durante la mayor parte el año. Las altas temperaturas del medio ambiente y la falta de alimento pueden limitar la actividad sexual durante algunos meses del año; también el genotipo influye sobre la época reproductiva (Hafez, 1989; Chemineau y Delgadillo, 1990; Malpaux *et al.*, 1996).

#### 2.1.2. Ciclo estral ovino

El ciclo reproductivo de las ovejas consiste en una época reproductiva que está caracterizada por ciclos estrales de 16 a 17 días de duración, la cual comienza a finales de verano y una no reproductiva o de anestro estacional (Legan y Karsch, 1979; Goodman, 1994; Caraty y Skinner, 1999). El anestro comienza a finales de otoño y está caracterizado por la ausencia de ciclos ováricos regulares (Legan y Karsch, 1979).

El ciclo estral está dividido en dos fases: una fase lútea que incluye metaestro y diestro hasta la regresión del cuerpo lúteo con una duración de 13 a 14 días y una fase preovulatoria o folicular que incluye proestro y estro hasta el momento de la ovulación con una duración de 3 a 4 días (Legan y Karsch, 1979; Caraty y Skinner, 1999). Los cambios entre una fase y la otra son principalmente debidos a la producción secuencial de dos esteroides ováricos que ejercen una retroalimentación positiva o negativa sobre el generador hipotalámico de pulsos de GnRH. Durante la fase lútea, la progesterona que es producida por el cuerpo lúteo es muy elevada y es un potente inhibidor de la secreción de GnRH. Después de la luteólisis, la elevada concentración de progesterona decrece rápidamente hasta niveles indetectables al día siguiente. Durante la fase folicular la secreción de gonadotropina se incrementa, la cual estimula la secreción de estradiol (E<sub>2</sub>) (Legan y Karsch, 1979).

El aumento de estradiol en la circulación induce el pico preovulatorio de gonadotropinas, lo cual resulta del incremento de la secreción de GnRH. Este efecto de retroalimentación positiva del estradiol sobre la secreción de GnRH ha sido característico en las ovejas. En ovejas la oleada de LH espontánea o inducida por estradiol es acompañada por un incremento sostenido de GnRH que coincide con un incremento de LH y FSH aproximadamente 48 horas después de que los niveles de gonadotropina regresan a su nivel basal (Caraty *et al.*, 1994; Caraty y Skinner, 1999).

El pico preovulatorio de LH en las hembras es un prerrequisito para la ovulación y ocurre en respuesta a un pico en la secreción de GnRH del hipotálamo. La expresión del pico de GnRH y LH es regulado por hormonas esteroides gonadales, estradiol y progesterona. En las ovejas el aumento en la

concentración de estradiol que ocurre durante la fase folicular del ciclo estral estimula el pico preovulatorio de GnRH y LH mediante una retroalimentación positiva en el hipotálamo e hipófisis. En contraste en la fase lútea la progesterona es secretada por el cuerpo lúteo la cual es un fuerte inhibidor del pulso de GnRH y secreción de LH e impide la retroalimentación positiva y el incremento transitorio de estradiol que es acompañado por una oleada y desarrollo folicular en el ovario (Richter *et al.*, 2002).

## 2.2 Hormonas involucradas en el ciclo estral

### 2.2.1 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

La hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) es un decapeptido esencial con funciones endócrinas y neuromoduladoras en los vertebrados. Se pensaba que las células que contienen al GnRH tenían origen en la placa olfatoria y migraban hacia el sistema nervioso central y al cerebro medio para seguir y localizarse en el tubo neural. Las células productoras de GnRH se encuentran localizadas dentro y fuera del sistema nervioso, el GnRH tiene funciones endócrinas y neuromoduladoras (Whitlock, 2005).

Función endócrina: en los mamíferos, aves, reptiles y anfibios el GnRH es liberado desde los nervios terminales en la eminencia media hacia la pituitaria anterior a través de la irrigación portal. Además de localizarse en el hipotálamo se han encontrado otras formas de GnRH aisladas y localizadas en los nervios terminales del cerebro (GnRH3) y el cerebro medio (GnRH2). El GnRH3 neuronal de los nervios terminales tiene una función neuromoduladora en el cerebro y en el epitelio olfatorio y también actúa como modulador del comportamiento mediado por el olfato. De manera similar las células del

cerebro medio que contienen GnRH2 también actúan como modulador del comportamiento sexual. Por lo tanto, las células que contienen GnRH3 de los nervios terminales y las del cerebro medio (GnRH2) actúan mediando la actividad reproductiva y las células del hipotálamo que contienen GnRH1 juegan un papel endocrino (Whitlock, 2005).

Según Buffet y Bouchard (2001), el ciclo estral está regulado por la retroalimentación ejercida entre mensajes endócrinos liberados por los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico. Dichas señales, de origen hipotalámico e hipofisario, son enviadas para generar el establecimiento de una fase folicular y otra lútea, las cuales en conjunto dan como resultado un ciclo estral de 16 a 17 días en la oveja y 21 días en la cabra. La función ovárica es controlada por las hormonas gonadotróficas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH), secretadas por la pituitaria (Wuttke *et al.*, 1998).

Por su parte el patrón de secreción de LH y FSH es gobernado principalmente por la frecuencia del pulso de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) secretada por el hipotálamo, cuyo patrón de secreción (pulso y frecuencia) es modulado por la retroacción de señales endócrinas ováricas. Sin embargo, debido a la naturaleza cíclica de la función ovárica, los efectos tanto de LH como de FSH en la función ovárica dependerán de la etapa del ciclo estral, ya que conforme este progresa el tejido endócrino dominante cambia de un folículo (fase folicular) a un cuerpo lúteo (fase lútea) (Buffet y Bouchard, 2001; Erickson y Shimasaki, 2001; Weebb *et al.*, 2002).

Las ovejas de latitudes templadas muestran variaciones estacionales en la actividad reproductiva, estos cambios son debidos a los efectos de la secreción de gonadotropinas principalmente LH; los cambios en la secreción

de LH reflejan variaciones en la frecuencia de los pulsos, lo cual es controlado por la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y la frecuencia de los pulsos de GnRH son inhibidos por estradiol. El núcleo dopaminérgico A15 que se encuentra en el área retroquiasmática del hipotálamo (RCh) y el núcleo A14 ubicado en el área preóptica posterior (POA) están involucrados en esta inhibición, además de aminoácidos excitatorios y ácido  $\gamma$  aminobutírico (GABA), la localización de los receptores de  $E_2$  en el cerebro de ovinos son el POA, núcleo arcuato, núcleo ventromedial e hipotálamo mediobasal (MBH) (Gallegos *et al.*, 1996).

### 2.2.2 Hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH)

La función de la FSH en la hembra es estimular el crecimiento y maduración de los folículos de Graaf en el ovario y en presencia de LH estimula la producción de estrógenos del folículo (Hafez, 1989).

Los cambios en el estado reproductivo son controlados por modificaciones en la actividad del eje gonadotrófico a través de las variaciones en la secreción pulsátil de LH. Durante el anestro estacional la frecuencia de pulsos de LH es baja (2 pulsos  $\times$  24  $h^{-1}$ ). La inhibición de la secreción pulsátil de LH es mantenida durante todo el anestro estacional y es responsable de la baja actividad reproductiva durante este periodo (Goodman *et al.*, 1982; McLeod *et al.*, 1982).

Las variaciones cíclicas de las hormonas FSH y LH están a su vez bajo el control de las hormonas esteroideas ováricas estradiol ( $E_2$ ) y progesterona ( $P_4$ ), así como otras peptídicas (inhibina). La interacción de la cascada de señales de dichas hormonas esteroideas y peptídicas a nivel ovárico son

críticas para que ocurra en forma secuenciada, el desarrollo folicular, la ovulación, el proceso de luteinización, la síntesis de secreción de  $P_4$  y el proceso de reconocimiento materno de la gestación (Buffet y Bouchard, 2001; Richards *et al.*, 2002; Spencer y Bazer, 2002).

El patrón de secreción de la  $P_4$  refleja la actividad secretora del cuerpo lúteo (CL) y está influenciado por factores estimuladores de origen hipofisario e inhibido por el útero; el estradiol es secretado por los folículos ováricos los cuales se desarrollan y después sufren atresia en cada uno de los ciclos. El patrón de circulación de la hormona luteinizante (LH) refleja que está regulada por dos sistemas regulatorios; un sistema tónico el cual produce pocos cambios en la secreción pulsátil de gonadotropinas durante la mayor parte del ciclo y el sistema cíclico el cual genera un cambio masivo en la secreción preovulatoria de LH. Este aumento en la secreción de LH está acompañado por el comportamiento sexual y aproximadamente 24 horas después se da la ovulación (Legan y Karsch, 1979).

La relación temporal entre la LH, estradiol y  $P_4$  es aproximadamente 48-60 horas previos a comenzar el pico de LH, la progesterona circulante comienza a descender precipitadamente como consecuencia de una rápida regresión del cuerpo lúteo (Legan y Karsch, 1979).

### 2.2.3. Estradiol ( $E_2$ )

Los estrógenos actúan en el sistema nervioso central para inducir el comportamiento de estro en la hembra y en el caso de ovejas y vacas se requieren pequeñas cantidades de progestágenos con estrógenos para inducir

estro (Hafez, 1989); el folículo ovárico es el principal productor de estrógenos (Fortune y Quirk, 1988).

Algunos estudios mencionan que el tratamiento con progesterona es un requisito importante para la expresión total de la retroalimentación positiva de la acción del estradiol sobre la secreción de GnRH en las ovejas. Sin embargo, algunos datos sugieren que no toda la secreción de GnRH durante este pico es necesaria para inducir una gran amplitud en el pico de LH (Caraty y Skinner, 1999).

Durante el verano los ovarios de las ovejas en fase de anestro desarrollan folículos y secretan estradiol cuando son estimuladas con hormona luteinizante. La frecuencia de las descargas de LH dependen de la respuesta al efecto de retroalimentación negativa del estradiol; la respuesta es baja durante la estación reproductiva, aumenta durante la transición al anestro y persiste elevada hasta el comienzo de la siguiente estación reproductiva, cuando disminuye de nuevo (Hafez y Hafez, 2002).

El pico preovulatorio de gonadotropinas en las ovejas y en otros mamíferos es inducido por un incremento en la concentración de estradiol, donde ambas secreciones son estimuladas por el GnRH desde el hipotálamo (Bowen *et al.*, 1998).

#### 2.2.4. Progesterona (P<sub>4</sub>)

La progesterona es el esteroide que se presenta en mayor cantidad en forma natural y es secretada por el cuerpo lúteo, la placenta y la glándula suprarrenal. Prepara al útero para la implantación y el mantenimiento de la

gestación; actúa de forma sinérgica con los estrógenos para inducir el comportamiento del estro en la oveja (Hafez, 1989).

El patrón de circulación de la progesterona refleja la actividad secretora del cuerpo lúteo y está determinado por una interacción entre factores estimuladores de la pituitaria y factores inhibidores del útero (Legan y Karsch, 1979).

Es un requisito importante para la máxima expresión de la acción de retroalimentación positiva del estradiol sobre la secreción de GnRH en las ovejas, incrementa la sensibilidad a los estrógenos y a la máxima habilidad de los estrógenos para desencadenar el pico preovulatorio de GnRH sin embargo se ha reportado que no toda la secreción de GnRH durante la oleada es necesaria para inducir la máxima amplitud del pulso de LH (Caraty y Skinner, 1999).

Foote (1968) reporta que la frecuencia de estros, ovulación y gestación es mayor en ovejas en anestro tratadas con progestágeno y eCG, que en ovejas tratadas solo con progestágeno.

#### 2.2.5. Prostaglandinas

El ácido araquidónico es un ácido graso esencial precursor de las prostaglandinas  $F_{2\alpha}$  y  $E_2$ .

La prostaglandina  $F_{2\alpha}$  es el agente luteolítico natural que finaliza la fase lútea del ciclo estral en ausencia de fertilización; también es un agente vasoconstrictor potente el cual puede finalizar la gestación temprana. Las prostaglandinas regulan varios fenómenos fisiológicos y farmacológicos, como la contracción del músculo liso en los aparatos gastrointestinal y reproductivo,

la erección, eyaculación, el transporte de espermatozoides, la ovulación, formación del cuerpo lúteo, el parto y la eyección de la leche (Hafez y Hafez, 2002).

Un aumento en los estrógenos que promueven el crecimiento del miometrio en el útero, estimula la síntesis y liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . En animales gestantes el embrión manda una señal (reconocimiento materno) para prevenir los factores luteolíticos de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ; en ovejas el periodo crítico para el reconocimiento materno son los días 12 y 13 del ciclo estral, y la sustancia antiluteolítica en ovejas es  $\text{IFN-}\tau$  que es producido por las células mononucleares del trofotodermo embrionario antes llamado trofoblastina, esta proteína tiene potente actividad antiviral, antiproliferativa e inmunomoduladora. El  $\text{IFN-}\tau$  actúa localmente para prevenir o alterar el patrón de secreción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . La secreción basal uterina de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  es muy alta en la gestación temprana, pero no hay una amplitud elevada ni liberación de pulsos episódicos. El  $\text{IFN-}\tau$  aparece para interactuar con los receptores de  $\text{IFN}$  tipo 1 en el endometrio para bloquear la expresión de los receptores de estrógenos y oxitocina el cual es un evento para prevenir la luteolisis uterina (Knobil and Neill's, 2006). Por lo que se ha aprovechado la capacidad de las  $\text{PGF}_{2\alpha}$  para inducir luteólisis para manipular el ciclo estral e inducir el parto (McCracken *et al.*, 1999; Hafez y Hafez, 2002).

La longitud del ciclo estral en la oveja está estrechamente relacionada con la duración de la fase lútea y particularmente con el momento en que se establece un patrón de secreción pulsátil de prostaglandina  $\text{F}_{2\alpha}$  ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) que provoca la regresión del cuerpo lúteo. La secreción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  es regulada por complejas interacciones entre el cuerpo lúteo, los folículos ováricos y el útero.

Inicialmente es necesaria una exposición a P<sub>4</sub> durante 10 a 12 días para inducir la presencia de receptores de estradiol en el endometrio; después el E<sub>2</sub> producido por los folículos y principalmente por el folículo dominante, estimula en el endometrio la síntesis de receptores para oxitocina, con lo cual ésta puede actuar en el útero desencadenando la secreción de PGF<sub>2α</sub> (Hernández *et al.*, 2004).

#### 2.2.6. Fotoperiodo y melatonina

El fotoperiodo es una de las señales más importantes del medio ambiente que determina la época reproductiva o inicio a la pubertad y es mediado por la glándula pineal mediante la secreción de melatonina (Stellflug *et al.*, 1994).

La melatonina tiene un patrón de secreción circadiana es decir los niveles de ésta se incrementan durante periodos de oscuridad y disminuyen durante el día, por lo que una alteración del fotoperiodo modifica la amplitud y duración de la secreción (Arendt, 1986; Williams y Helliwell, 1993). La duración de la secreción provee información de la longitud del día. Esta hormona actúa en el hipotálamo mediobasal para regular la actividad reproductiva (Malpoux *et al.*, 1993; Stellflug *et al.*, 1994).

La melatonina ha sido utilizada en implantes de liberación lenta ya que las concentraciones elevadas de ésta en sangre por cinco semanas son necesarias para adelantar la época reproductiva, éste tratamiento se ha utilizado en conjunto con otras técnicas como son la imitación de días cortos, efecto macho o esponjas vaginales (Arendt, 1986).

### 2.3. Sincronización del ciclo estral

La primer sustancia utilizada para la sincronización de estros fue la progesterona en la década de los 50's y los estros fértiles en anestro fueron inducidos en ovejas utilizando progesterona y gonadotropina. La fertilidad del estro inducido solo por progestágenos o con gonadotropinas es más bajo que el estro natural de las ovejas (Safranski *et al.*, 1992; Knights *et al.*, 2001). El incremento de la fertilidad con altas concentraciones de progestágenos resulta probablemente de un apropiado desarrollo folicular con la coordinación del pico de LH y el transporte de espermatozoides. La tasa de ovulación es baja durante el anestro pero es incrementada por eCG o por FSH al retirar el progestágeno (Knights *et al.*, 2001).

La sincronización de estros en el ganado se enfoca en la manipulación de la fase lútea o de la fase folicular del ciclo estral. En ovejas hay un mayor control durante la fase lútea, la cual tiene una duración más larga y es más sensible a la manipulación. Las estrategias pueden ser empleadas para extender la fase lútea mediante el suministro de progesterona exógena o cortando esa fase por regresión prematura del cuerpo lúteo. No solo las técnicas de sincronización de estros son exitosas, también favorecen un nivel aceptable de fertilidad en inseminación artificial y monta natural. Las condiciones de la sincronización de estros deben de mantenerse ya que es la base del éxito de la inseminación artificial y programas de transferencia de embriones (Wildeus, 2000).

La demostración del efecto de los niveles de progesterona sobre la dinámica folicular tiene importantes aplicaciones prácticas. Desde hace muchos años se han usado tratamientos con análogos de progesterona

(progestágenos) para sincronizar el estro en la oveja y la cabra. La duración de dichos tratamientos de acuerdo a lo sugerido por los laboratorios es prolongada, de 12 a 14 días en ovinos y de 14 a 16 días en caprinos. Por otra parte, la fertilidad de los estros sincronizados es menor a la observada luego de un estro espontáneo (Rubianes, 2000).

Ungerfeld y Rubianes (1999) realizaron experimentos durante el anestro estacional en ovinos utilizando progestágenos por periodos cortos (5 o 6 días) y los resultados muestran que los tratamientos cortos son tan efectivos en inducir estros como los largos y que son seguidos de una buena fertilidad. Por otra parte en experimentos realizados durante la estación reproductiva si bien no se logró una excelente sincronización de estros, la fertilidad subsecuente a los mismos fue significativamente mejor con los tratamientos cortos que con los tratamientos largos (Rubianes, 2000).

#### 2.4. Protocolos de sincronización

Los protocolos de sincronización de estros utilizando esponjas vaginales con medroxiprogesterona (MAP) y acetato de fluorogestona (FGA) han sido muy exitosos durante la época reproductiva con un 100% de estros en 4 días, con tratamientos de 14 días y una dosis de 60 mg de MAP con 500 UI de eCG (Whitley y Jackson, 2004).

El fotoperiodo también se utiliza como método de inducción fuera de la época reproductiva en la industria ovina y caprina, sin embargo, el tiempo y la infraestructura necesaria son imprácticos. La administración de melatonina para alterar el fotoperiodo puede ser una alternativa efectiva mediante la administración de implantes de melatonina o bien administrados por vía oral

por 3 meses (enero a abril), se pueden combinar tratamientos cortos de luz y melatonina para aumentar el efecto (Whitley y Jackson, 2004).

La eficacia de la sincronización de estros es afectada por varios factores, incluyendo la época, exposición a los machos, raza y edad entre otros (Wildeus, 2000; Whitley y Jackson, 2004).

En la mayoría de las ovejas estacionales sus actividades reproductivas dependen de los cambios de estación, latitud/longitud, duración del fotoperiodo y otros factores. La sincronización de estros junto con la inseminación artificial es importante para incrementar la eficiencia reproductiva en ovejas. El control reproductivo de las ovejas implica el control artificial del estro y de la ovulación con tratamientos con hormonas exógenas (Dogan y Nur, 2006).

La inducción del estro y la ovulación se puede lograr en las ovejas, de tal manera que puedan ciclar durante la época de anestro estacional. Los métodos farmacológicos para la inducción del estro se pueden usar de la forma siguiente: los progestágenos se aplican en diferentes periodos, seguido de la administración de estrógenos y hormona folículo estimulante (FSH) en forma de gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG) la cual actualmente es denominada eCG (gonadotropina coriónica equina) que ejerce una actividad de FSH y también de LH (Córdova *et al.*, 1999).

El tratamiento combinado de progestágenos y gonadotropinas ha sido empleado para la inducción del celo y ovulación en animales anéstricos en dosis de 30 mg de FGA y de 400 a 550 UI de eCG, dependiendo de la condición corporal del animal; obteniéndose el 97 % de estros dentro de las primeras 48 horas, una fertilidad de 73 % y una prolificidad relativa del 190% (Córdova *et al.*, 1999; Whitley y Jackson, 2004).

Knights *et al.* (2001) mencionan que la tasa de gestación en ovejas en anestro tratadas con progesterona son similares a las observadas en ovejas ciclando tratadas con MAP (acetato de medroxiprogesterona) o CIDR, pero menor que en los observados durante la época reproductiva natural.

Las gonadotropinas placentarias y pituitarias han sido usadas por muchos años en la producción animal para la terapéutica o protocolos de reproducción. En estudios previos la administración repetida de gonadotropina (eCG/hCG) en ratones, borregos y caballos desarrollan una marcada resistencia al tratamiento. Para la inducción de estro, sincronización y superovulación en ovejas y cabras lo más común es el uso de gonadotropinas. La gonadotropina coriónica equina (eCG) es frecuentemente asociada con progestágenos como son el acetato de fluorogestona, acetato de medroxiprogesterona o norgestomet, los cuales son administrados por un periodo similar a la vida media del cuerpo lúteo (Drion *et al.*, 2001).

#### 2.4.1. Esponjas vaginales

Las esponjas intravaginales impregnadas con progesterona o análogos sintéticos de ésta como el acetato de medroxiprogesterona (MAP) y el acetato de fluorogestona (FGA), son usualmente insertados por periodos de 6 a 14 días y usados en conjunto con eCG fuera de la época reproductiva o bien con prostaglandina  $F_{2\alpha}$ , aplicada en el momento en que la esponja es removida o 48 horas después de ser removida (Ungerfeld y Rubianes, 2002; Dogan y Nur, 2006). Se ha demostrado que la administración de gonadotropinas tales como la eCG estimulan el crecimiento folicular e incrementan la tasa ovulatoria así como la fertilidad e induce la ovulación y sincronización en época de anestro,

mientras que las prostaglandinas  $F_{2\alpha}$  y análogos sintéticos son un factor luteolítico en ovejas (Dogan y Nur, 2006).

Las esponjas intravaginales han sido el tratamiento tradicional para la sincronización de estros en pequeños rumiantes durante la época reproductiva y el anestro estacional. Éstas son impregnadas con progestágenos que son tan efectivos a dosis bajas (15 y 30 mg de acetato de medroxiprogesterona, MAP) como la progesterona natural. Hay dos tipos de esponjas comerciales: las que contienen acetato de fluorogestona (FGA) Chronogest (Intervet, Angers, France) o acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Pharmacia & Upjohn, Orangeville, Canadá). Las esponjas intravaginales impregnadas con MAP que contienen dosis de 15, 30, 45 o 60 mg son usualmente insertadas por periodos de 9 a 19 días y usadas junto con eCG, éste se inyecta al momento en que se retira la esponja o 48 horas después de removerla. Las esponjas intravaginales tienen una tasa de retención mayor a 90% y generalmente las hembras muestran estro de 24 a 48 horas después de haber removido las esponjas; cabe mencionar que cuando se utiliza FGA a una dosis de 40 mg el periodo de tratamiento puede ser de 7, 9 o bien 11 días (Wildeus, 2000).

#### 2.4.2. Eficacia de las esponjas vaginales

La respuesta al estro y la fertilidad cuando se aplican esponjas se ve afectada por la raza, los co-tratamientos y los sistemas de apareamiento (Wildeus, 2000). No obstante, han sido exitosos en época reproductiva obteniendo hasta un 100% de presentación de estros con tratamientos de 14 días y una dosis de 60 mg de MAP con 500 UI de eCG (Whitley y Jackson, 2004).

Una comparación de esponjas intravaginales que contenían 15, 30, 45, o 65 mg de MAP en época anovulatoria en ovejas Corriedale demostró que no hay diferencias entre el porcentaje de ovulación (96.8%) lo cual sugiere que una dosis de 25% de la formulación comercial (60 mg) es suficiente para inducir estros en esta raza (Iglesias *et al.*, 1997).

La manipulación nutricional por periodos cortos resulta en un incremento en la tasa de ovulación seguido de la sincronización de estros utilizando esponjas intravaginales (Wildeus, 2000).

#### 2.4.3. Co-tratamientos con gonadotropinas

El uso de las gonadotropinas se ha incorporado de rutina en los sistemas de sincronización intravaginal, lo que induce la ovulación en ovejas. El producto comúnmente utilizado es la eCG, estimulan el crecimiento folicular e incrementan la tasa ovulatoria y fertilidad e inducen una estrecha sincronización de ovulación en anestro y cuando la oveja está ciclando (época reproductiva) (Cline *et al.*, 2001; Dogan y Nur, 2006).

Hay varios estudios que evalúan las diferentes dosis de eCG; Zaiem *et al.* (1996) evaluaron tres dosis diferentes de ésta 300, 450 y 600 UI utilizando esponjas con FGA de 40 mg por 14 días durante la época de anestro en ovejas; donde se sugiere que 450 a 600 UI son los niveles óptimos en este escenario. Otra limitación de eCG ha sido la declinación de la fertilidad después de usarlo por periodos prolongados (Wildeus, 2000).

#### 2.4.4. CIDR (Controlled Internal Drug Release)

Los CIDR están hechos de elastómeros de silicón impregnados con 330 mg de progesterona y fueron desarrollados en Nueva Zelanda, hay dos tipos disponibles para pequeños rumiantes los CIDR-S (<0.4 g de P<sub>4</sub>) y CIDR-G (0.82 g de P<sub>4</sub>) éste último es el más utilizado en la actualidad (Wildeus, 2000; Knights *et al.*, 2001).

Los CIDR han sido usados en ovejas en anestro donde la liberación de progesterona del CIDR declina después de algunas horas. Sin embargo, el tratamiento con progesterona por solo 5 días en vacas en anestro o 6 días en ovejas en anestro ha sido efectivo para inducir el estro y la ovulación (Rodríguez-Iglesias, 1996). El CIDR "polycaprolactone" contiene más progesterona (0.82 g; PCL insert) que el CIDR original (<0.4 g "progesterona in silicone elastomer") (Knights *et al.*, 2001).

Debido a que con los protocolos con progestágenos se obtienen resultados similares usando diferentes dosis, en la presente investigación se utilizan esponjas vaginales con FGA (45 mg) las cuales se dividieron a la mitad y estas mitades nuevamente a la mitad, para obtener en teoría dosis de 22.5 y 11.25 mg de FGA y evaluar estas dosis.

Con base en lo anterior se plantea el presente experimento con la siguiente hipótesis.

### **III. HIPOTESIS**

Con dosis reducidas de progestágenos ( $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{4}$  de esponja en teoría con 22.5 y 11.25 mg respectivamente de acetato de fluorogestona, (FGA), se induce la sincronización de estros en ovejas en la época reproductiva de manera similar que con las dosis que actualmente se emplean (30-45 mg de FGA).

### **IV. OBJETIVO**

Realizar la sincronización de estros en ovinos utilizando acetato de fluorogestona a menores dosis que las ya probadas para comprobar si se afectan la presentación del estro y sus características de inicio y duración así como la presentación del pico preovulatorio de LH y sus características de duración y amplitud.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Localización del experimento

La investigación se llevó a cabo en otoño de 2005 en la Unidad de Ovinos de la Granja Experimental del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, ubicada en Montecillo, Municipio de Texcoco al oriente del Estado de México, con coordenadas geográficas 98°48'27" de longitud oeste y 19°48'27" de longitud norte; la altura media sobre el nivel del mar es de 2241 m y el clima es templado semiseco, con un verano fresco largo tipo C (Wo)(W)b(1') y la temperatura anual media de 15° C al año. La precipitación media anual es de 632.5 mm y el mayor porcentaje se presenta durante los meses de verano (García, 1988).

### 5.2. Animales

En la fase experimental se utilizaron 30 ovejas de la raza Dorset y Suffolk estabuladas en época reproductiva con una edad promedio de 4.5 años, un peso promedio de 71 kg y una condición corporal de 3 a 3.5 en una escala del 1 a 5 (Cottle, 1991).

### 5.3. Protocolo de sincronización del estro

Las ovejas fueron asignadas aleatoriamente en tres grupos con diferente tratamiento hormonal:

Para los 3 tratamientos el protocolo consistió en aplicar la esponja impregnada con acetato de fluorogestona (FGA) (Chrono-Gest®, Intervet) en diferentes dosis según el tratamiento por vía intravaginal la cual se insertó en el día -12 considerando al día 0 como el día de la presentación del estro

sincronizado, permaneció *in situ* durante doce días y dos días antes de retirar las esponjas (día -3) se les administró una dosis de 15 mg de PGF<sub>2α</sub> (Lutalyse-Upjohn, México) por vía i.m. Posteriormente, el día -1 se retiraron las esponjas y 4 h después de retiradas comenzó el muestro sanguíneo cada 4 horas por 96 horas consecutivas para determinar el pico de la LH, y 8 horas después de retiradas se inició la detección de estros durante cuatro días para que al presentarse éstos se les diera servicio mediante monta natural. (Figura 1)

El tratamiento testigo (n=10) consistió en aplicar una esponja completa que contiene 45 mg de acetato de fluorogestona (FGA).

El tratamiento 2 (n=10) consistió en la aplicación de ½ esponja que en teoría contenía 22.5 mg de FGA.

En el tratamiento 3 (n=10) se les aplicó ¼ de esponja donde en teoría contenía 11.25 mg de FGA.

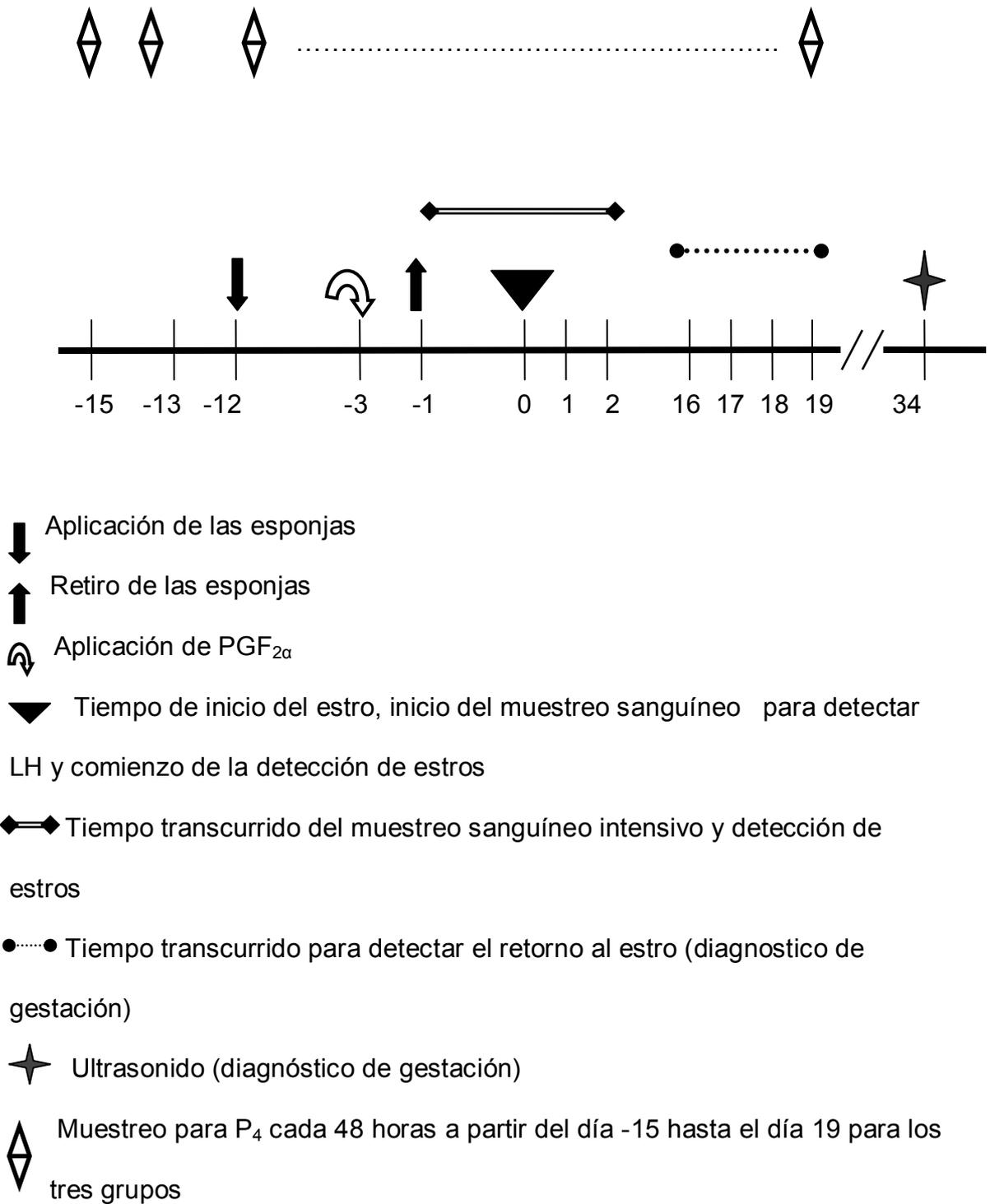


Figura 1. Protocolo experimental

#### 5.4. Aplicación de las esponjas

La aplicación de las esponjas (Chrono-Gest®, Intervet) se realizó por vía intravaginal con la ayuda de un aplicador que permitió la introducción de la esponja al interior de la vagina, una vez retirado el aplicador se verificó que el hilo estuviera fuera y que la esponja estuviera correctamente colocada.

#### 5.5. Muestreo sanguíneo

Para detectar la concentración de progesterona se tomaron muestras de sangre por punción de la vena yugular cada tercer día (cada 48 horas) comenzando en el día -15 y terminando el día 19 del experimento (considerando al día 0 como el día de la presentación del estro sincronizado). Los muestreos sanguíneos para la detección de pico preovulatorio de LH se tomaron por punción de la vena yugular cada 4 horas por 96 horas consecutivas, comenzando 4 h después de retirar las esponjas (día -1). Una vez colectadas las muestras se centrifugaron a 2500 r.p.m. durante 15 minutos, posteriormente el suero fue separado por decantación y se almacenó a -20° C hasta el momento de realizar los análisis hormonales (LH y P<sub>4</sub>).

#### 5.6. Detección de estros

La detección de estros se inició 8 horas después de que se retiraron las esponjas (día -1) con ayuda de 8 sementales adultos de las razas Suffolk y Dorset, este manejo se realizó cada 4 horas por un periodo de 45 a 50 minutos durante 4 días consecutivos. Se consideró que la hembra estaba en estro cuando se quedaba inmóvil permitiendo la monta.

### 5.7. Monta natural

Se realizó mediante la presentación del macho a la hembra permitiendo dos montas por servicio, se utilizaron 8 machos adultos los cuales se asignaron al azar a cada hembra que entró en estro.

### 5.8. Diagnóstico de gestación

Se monitoreó el retorno al estro a partir del día 16 a 19 después del estro sincronizado dos veces al día (mañana y tarde) para asegurarse de que si alguna hembra repetía estro se identificara inmediatamente, se utilizaron 2 sementales que permanecieron en el corral por un lapso de 45 minutos durante 4 días. Además, a los 35 días después de la primera monta a todas las hembras se les realizó un ultrasonido transrectal (Sonovet 600, Medison) con un transductor de 7.5 Mhz en donde se observaron estructuras que indicaban gestación.

### 5.9. Radioinmunoanálisis (RIA) para detección de progesterona y hormona luteinizante

#### 5.9.1. Progesterona

Los análisis de progesterona se realizaron mediante ensayo inmunoenzimático (EIA) de Immunometrics (UK Ltd, 280 Muster Road, London SW6 6BQ). El análisis se realizó en el laboratorio de Biología de la Reproducción en el Instituto de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán. La sensibilidad analítica fue de 0.4 nmol/L con coeficiente de variación intra e inter ensayo de 9.59% y 13.70% respectivamente.

### 5.9.2 Hormona Luteinizante

La LH se analizó en el laboratorio de Biología de la Reproducción en el Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zuvirán y se cuantificó por medio de radioinmunoanálisis (RIA) heterólogo de doble anticuerpo; el primer anticuerpo fue suero de conejo anti LH ovina (CSU 204, producido por G.D. Niswender), a una dilución inicial de 1:30,000. La hormona de referencia en la curva patrón USDA-bLH-B5 (AFP-5,500) y la USDA-bLH-I-1 (AFP-6,000) marcada con I-125 (12,000 cpm por tubo). El segundo anticuerpo fue suero de ovino antigama-globulina de conejo con dilución inicial 1:10. La sensibilidad analítica fue de 0.4 ng/ml, con coeficiente de variación de intra e inter ensayo de 2.78% y 8.5% respectivamente.

### 5.10. Variables analizadas

#### Presentación de estros

Se definió como el porcentaje de hembras que presentaron estro después del retiro de la esponja intravaginal, es decir, el número de ovejas tratadas que mostraron estro multiplicado por 100.

#### Inicio de estro

Se cuantificaron las horas desde el retiro de las esponjas intravaginales hasta el inicio del estro.

#### Duración del estro

Se cuantificaron las horas desde el inicio hasta el fin del estro.

#### Inicio del pulso preovulatorio de LH

Se obtuvo al medir el tiempo transcurrido desde el retiro de las esponjas intravaginales hasta que la secreción promedio basal de LH excedió por dos desviaciones estándar y permaneció por arriba de estas concentraciones por lo menos 4 horas (Van Cleeff *et al.*, 1998).

#### Duración del pulso preovulatorio de LH

Se consideró el inicio del pico preovulatorio cuando la concentración de LH fue mayor dos desviaciones estándar a la concentración media de manera individual, se mantuvo por lo menos cuatro horas y terminó cuando la concentración nuevamente fue basal (Van Cleeff *et al.*, 1998).

#### Amplitud del pico preovulatorio de LH

Se obtuvo al restar de manera individual a la máxima concentración de LH la concentración basal, esta última se obtiene al promediar la concentración de LH en los periodos que se encuentran antes y después del pulso preovulatorio de LH (Mattioli *et al.*, 1986).

#### Concentración promedio de progesterona

Cuando las concentraciones de progesterona son mayores a  $1 \text{ ng mL}^{-1}$  por un periodo de 11 días (Garverick *et al.*, 1985).

#### Tasa de gestación

Número de ovejas gestantes/número de ovejas servidas multiplicado por 100.

### 5.11. Diseño experimental

El diseño utilizado fue un completamente al azar donde la unidad experimental fue cada hembra. Los animales se distribuyeron de manera aleatoria a cada tratamiento.

Para el análisis de las variables expresadas como porcentajes tales como presentación de estros y gestación se utilizó la prueba de ji-cuadrada.

El análisis estadístico para las variables inicio del estro, duración de estro, inicio, duración y amplitud del pulso preovulatorio de LH, se realizó mediante un análisis de varianza utilizando el PROC GLM de (SAS, 2003), para un diseño completamente al azar, cuyo modelo es el siguiente:

Efecto del tratamiento

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + \varepsilon_{ij}$$

donde:  $Y_{ij}$  = variable de respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento;  $\mu$  = media general;  $\delta_i$  = efecto del i-ésimo tratamiento y  $\varepsilon_{ij}$  = error aleatorio.

La concentración promedio de progesterona fue analizada según un diseño completamente al azar con mediciones repetidas, utilizando el procedimiento MIXED SAS, cuyo modelo fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + d_{ik} + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde:  $Y_{ijk}$  = variable de respuesta;  $\mu$  = media general;  $\alpha_i$  = efecto de  $i$ -ésimo tratamiento;  $d_{ik}$  = error aleatorio para  $k$ -ésima ovejas dentro del  $i$ -ésimo

tratamiento;  $\beta_j$  = efecto del  $j$ -ésimo tiempo;  $(\alpha\beta)_{ij}$  = interacción entre tratamiento y tiempo;  $\varepsilon_{ijk}$  = error experimental aleatorio.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Presentación de estros

En este estudio no se encontraron diferencias entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) teniendo el 100% de presentación de estros, iniciando la detección 8 h después de retirar las esponjas cada 4 h durante 4 días (Cuadro 2). El tratamiento 1 (esponja completa) obtuvo el 100% (10/10) de presentación de estros en las ovejas lo cual ocurrió a las 36 h con un tiempo promedio de  $28.7 \pm 1.6$  h (media  $\pm$  error estándar) después del retiro de las esponjas, mientras que el tratamiento 2 (1/2 esponja) logró el 100% (10/10) de estros a las 47 h y el tiempo promedio fue de  $37.8 \pm 2.6$  h después de retirar las esponjas, y el tratamiento 3 (1/4 de esponja) alcanzó el 100% (10/10) de estros hasta las 51 h y en promedio la presentación de estros ocurrió a las  $28.5 \pm 3.5$  h después de retirar la esponja (Cuadro 1 y Figura 2).

La presentación de estros en el estudio fue mayor que los obtenidos por Ucar *et al.* (2005) quienes obtuvieron el  $77.8 \pm 14.7\%$  aplicando esponjas vaginales con 30 mg de FGA y 600 UI de eCG (grupo I). Sin embargo, para el grupo II fue del 100% sin incluir eCG. Los resultados del presente estudio son mayores a los reportados por Dogan *et al.* (2005) quienes obtuvieron el 71.4% de presentación de estros en ovejas tratadas con esponjas vaginales con 40 mg de FGA por 11 días más 500 UI de eCG y 125  $\mu$ g de cloprostenol ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) en época reproductiva.

Comparativamente, los resultados obtenidos en los tres tratamientos de este trabajo son similares a los reportados por Córdova *et al.* (1999) quienes sincronizaron ovejas anéstricas con esponjas vaginales impregnadas con 30 mg de FGA por 14 días y 460 UI de eCG aplicada el día del retiro de las esponjas, obteniendo así una presentación de estros del 95.8%, aunque cabe mencionar que el mayor número de ovejas presentaron estro (50%) entre las 49 y 72 horas después del retiro de las esponjas, esto pudiera explicarse por la época reproductiva en la que se encontraban estas ovejas.

Cuadro 1. Distribución de la presentación de estros (horas) después del retiro de las esponjas impregnadas con acetato de fluorogestona.

Tratamiento	n	Inicio del estro después del retiro de las esponjas (horas)		
		48	72	96
<b>T1 (testigo, esponja completa)</b>	10	10	0	0
<b>T 2 (1/2 esponja)</b>	10	9	1	0
<b>T 3 (1/4 esponja)</b>	10	9	1	0

T1 esponja completa con 45 mg de acetato de fluorogestona; T2 ½ esponja con 22.5 mg de acetato de fluorogestona; T3 ¼ de esponja con 11.25 mg de acetato de fluorogestona.

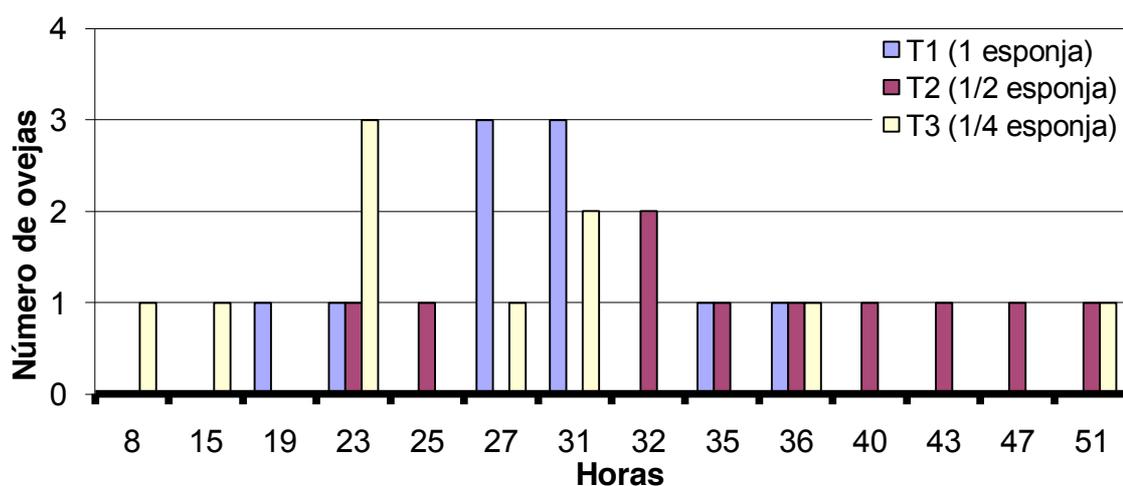


Figura 2. Distribución acumulada de estros para los diferentes tratamientos: T1 testigo, T2 ½ esponja y T3 ¼ de esponja

## 6.2. Inicio del estro

Los tratamientos con diferentes dosis de progestágenos no presentaron diferencias ( $p>0.05$ ) en el inicio del estro. El tiempo promedio de inicio de estro para los tratamientos 1, 2 y 3 fue a las  $28.7 \pm 1.6$  h,  $37.8 \pm 2.6$  h y a las  $28.5 \pm 3.4$  h respectivamente.

Algunas investigaciones han reportado que el inicio del estro ocurre dentro de las 6-120 horas después de retirar el progestágeno (Romano, 1998). En un estudio realizado por Dogan *et al.* (2005) el tiempo promedio del inicio del estro fue de  $18.0 \pm 1.9$  h utilizando esponjas vaginales con dosis de 40 mg de FGA por 11 días más 500 UI de eCG y 125  $\mu$ g de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en época reproductiva.

Córdova *et al.* (1999) realizaron un trabajo utilizando FGA a una dosis de 30 mg y 460 UI de eCG en ovejas anéstricas en las cuales el 25% de las ovejas presentaron estro durante las primeras 24 h de terminado el tratamiento, a las siguientes 48 h presentaron estro el 20.8% de los animales y a las 72 h lo presentaron el 50% de los animales, obteniendo un porcentaje acumulado de 95.8%.

En el presente estudio la media general del inicio del estro fue de 31.7 h y no hay diferencias entre los tres tratamientos, sin embargo, el inicio promedio del estro en el T3 fue menor en comparación con los T1 y T2, obteniéndose un tiempo mayor que el reportado por Dogan *et al.* (2005), pero menor al informado por Córdova *et al.* (1999), donde el 95.8% de las ovejas alcanzaron el inicio del estro entre las 45 y 72 horas.

Los resultados de esta variable son similares a los de Dogan y Nur (2006), donde el inicio promedio del estro fue de  $31.1 \pm 1.8$  h para el grupo que

fue sincronizado con esponjas intravaginales impregnadas con 60 mg de MAP mas 500 UI de eCG i.m. y también es similar para el grupo sincronizado con esponjas intravaginales con 60 mg de MAP mas 500 UI de eCG vía intramuscular y 125 µg de cloprostenol donde el inicio del estro fue a las  $32.4 \pm 2.5$  h, es conveniente aclarar que en ambos grupos la sincronización se realizó en época no reproductiva.

En el presente estudio la presentación del estro ocurrió en menor tiempo que lo reportado por Ucar *et al.* (2005), quienes utilizaron, para la sincronización de estros para el grupo I, esponjas vaginales con 30 mg de FGA y 600 UI de eCG y para el grupo II esponjas vaginales con 30 mg de FGA pero sin eCG; el inicio del estro para el grupo I fue a las  $45.1 \pm 0.7$  h y para el grupo II a las  $48.8 \pm 2.5$  h. Esto indica que las terapias con dosis bajas de los progestágenos FGA y MAP (22.5 y 11.25 mg de FGA) son tan efectivas para sincronizar estro como las dosis altas (30, 40-45 mg de FGA, 60 mg de MAP).

### 6.3. Duración del estro

Para esta variable no se encontraron diferencias entre las medias de tratamientos ( $p > 0.05$ ); el tratamiento 1 presentó una duración promedio de estro de  $40.6 \pm 3.7$  h,  $32.6 \pm 2.2$  h y  $31.4 \pm 3.4$  h para los tratamientos 2 y 3, respectivamente.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Dogan *et al.* (2005) quienes utilizaron esponjas vaginales con dosis de 40 mg de FGA por 11 días más 500 UI de eCG y 125 µg de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en época reproductiva y reportan una duración promedio del estro de  $34.5 \pm 3.0$  h. Los resultados de los tratamientos 2 y 3 ( $32.6 \pm 2.2$  h y  $31.4 \pm 3.4$  h respectivamente) del

presente experimento son similares a los obtenidos por Ucar *et al.* (2005) donde la duración del estro fue de  $33.1 \pm 7.7$  h para el grupo sincronizado con esponjas vaginales con 30 mg de FGA y 600 UI de eCG.

#### 6.4. Inicio de pulso preovulatorio de LH

El 100% de las ovejas presentaron pico preovulatorio de LH. El inicio del pulso preovulatorio de LH no fue diferente entre tratamientos ( $p > 0.05$ ), el inicio del pico preovulatorio de LH ocurrió a las  $28 \pm 3.4$  h,  $36.4 \pm 3.8$  h y  $24.4 \pm 3.1$  h para los tratamientos 1, 2 y 3, respectivamente.

Los resultados de este estudio son similares a los reportados por Yildiz *et al.* (2004) donde los tiempos mínimo y máximo en que ocurrió el pico preovulatorio de LH fue a las 38 y 312 h para ovejas en fase lútea, 144 y 272 h para ovejas en fase folicular, de 42 y 72 h para ovejas con introducción del macho y de 50 y 96 h para el grupo testigo, a todas las ovejas se les sincronizó con esponjas vaginales de 30 mg de FGA durante 13 días y no se les aplicó eCG. Los resultados son similares principalmente en el momento mínimo de presentación del pico de LH en el grupo 3 es decir en ovejas en fase lútea (38 h) comparado con el resultado obtenido en el presente trabajo el T2 (1/2 esponja) donde el pico se presenta a las 36.4 h. En el trabajo realizado por Yildiz *et al.* (2004) los resultados pudieran ser tan variados porque las ovejas de los diferentes tratamientos se encontraban en diferentes momentos del ciclo estral a diferencia de este trabajo donde las ovejas sincronizadas se encontraban en la misma fase del ciclo.

## 6.5. Duración del pico preovulatorio de LH

En cuanto a la duración del pico preovulatorio de LH no se encontraron diferencias entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) al igual que en la comparación de medias entre tratamientos; donde la duración media fue de  $11.2 \pm 1$  h,  $14 \pm 1.1$  h y  $13.2 \pm 1.0$  h, para los tratamientos 1, 2 y 3, respectivamente.

Los resultados obtenidos del presente estudio son mayores ya que la duración del pico preovulatorio es superior que los reportados por Caraty y Skinner (1999) quienes trabajaron con ovejas ovariectomizadas que fueron tratadas con CIDR por 12 días e implantes cerebrales con 10-mm de estradiol (3 cm) que fueron colocados 16 h después de retirar los implantes de  $P_4$  en época de anestro, reportan una duración del pico de LH de  $6.6 \pm 1.2$ ,  $6.0 \pm 2.1$ ,  $7.5 \pm 1.3$  y  $8.0 \pm 0.4$  en cuatro ciclos 1-4 respectivamente; también la duración es mayor que los reportados por Richter *et al.* (2002) quienes trabajaron con ovejas ovariectomizadas que recibieron 2 CIDR por 10 días y 24 h después de retirar los CIDR se les aplicó 3 cm de implante de estradiol en época reproductiva y reportan una duración del pico de LH de  $10.0 \pm 1.0$  para el grupo 1 quienes recibieron la señal de estradiol 2 h.

Los resultados del presente trabajo son similares a los reportados por Molina-Mendoza *et al.* (2005) quienes realizaron la sincronización de estros para el grupo testigo mediante la aplicación de CIDR-G (300 mg de  $P_4$  natural), para el grupo SPCL (sin presencia de cuerpo lúteo) utilizando una presincronización mediante dos inyecciones de 15 mg de  $PGF_{2\alpha}$  aplicadas 10 y 2 días antes de aplicar el CIDR-G y 7 días después de colocado se aplicó 15 mg de  $PGF_{2\alpha}$ ; y para el grupo con presencia de cuerpo lúteo (PCL) se utilizó una sincronización previa con dos inyecciones de 15 mg de  $PGF_{2\alpha}$ , 16 y 8 días

antes de colocar los CIDR-G, en los tres grupos los CIDR-G permanecieron 12 días además de que la investigación se realizó en época reproductiva, los resultados reportados fueron para el grupo testigo  $13.8 \pm 1$  ,  $13.3 \pm 1$  y  $14.0 \pm 2$  para el grupo SPCL y PCL respectivamente.

#### 6.6. Amplitud del pico preovulatorio de LH

En la amplitud del pulso preovulatorio si se encontraron diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ), donde la concentración promedio fue de  $101.9 \pm 53.1$  ng  $\text{ml}^{-1}$  para el T1  $103.7 \pm 15.9$  y  $117.3 \pm 73.1$  ng  $\text{ml}^{-1}$ , para el T2 y para el T3 respectivamente; por lo que se puede observar que hubo diferencias en los tratamientos 1 y 2 con respecto al 3.

Los resultados de la presente investigación son mayores ya que la amplitud fue más elevada a los reportados por Molina-Mendoza et al. (2005) quienes reportan una amplitud del pico de LH para el grupo testigo de  $71. \pm 11$ ,  $54 \pm 8$  y  $57 \pm 11$  para los grupos SPCL y PCL respectivamente.

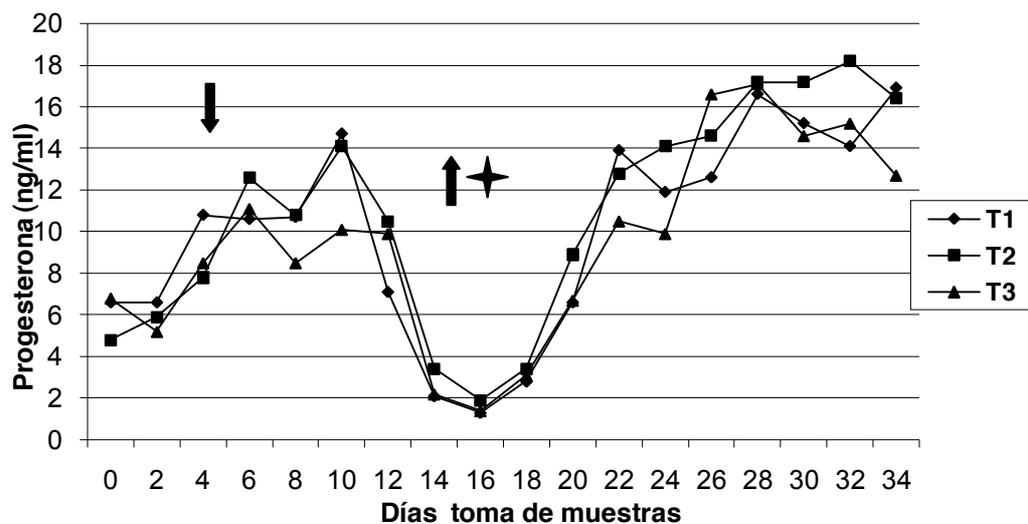
#### 6.7. Concentración promedio de progesterona

Para esta variable no se encontraron diferencias entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) (Figura 3) donde la concentración promedio del T1 fue de  $10.1$  ng  $\text{mL}^{-1}$ , para el T2  $10.8$  y para el T3 de  $9.3$  ng  $\text{mL}^{-1}$ . Pero si se encontraron diferencias significativas entre periodos ( $p < 0.05$ ), esto pudiera deberse a la fase del ciclo en la que se encontraban las ovejas además de que al aplicar el progestágeno los niveles de progesterona en la circulación aumentan y no se encontraron diferencias entre la interacción tratamiento-periodo.

La concentración promedio de progesterona del presente trabajo fue mayor a la reportada por Molina-Mendoza *et al.* (2005) quienes reportan una concentración de progesterona para el grupo PCL (presencia de cuerpo lúteo) de 8.6 ng mL<sup>-1</sup>, para el testigo 6.3 ng mL<sup>-1</sup> y 4.1 ng mL<sup>-1</sup> para el grupo SPCL (sin presencia de cuerpo lúteo).

La concentración de la progesterona puede estar asociada a la capacidad del cuerpo lúteo para secretar P<sub>4</sub> y ésta puede estar afectada por la época reproductiva en la que se encuentren los animales.

Figura 3. Concentración promedio de progesterona desde 72 horas antes de la aplicación de la esponja hasta un ciclo estral posterior inmediato en los diferentes tratamientos. T1= esponja completa, T2= ½ esponja y T3= ¼ des esponja



↓ Aplicación de la esponja    ↑ retiro de la esponja    ✦ presentación de estro.

### 6.8. Tasa de gestación

En esta variable no se encontraron diferencias entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 2), obteniendo el 90% para T1 y T2 y el 100% para el T3. Las

ovejas que no quedaron gestantes en el estro sincronizado, presentaron estro al siguiente ciclo y recibieron servicio por monta natural.

La tasa de gestación fue mayor que la obtenida por Bonev *et al.* (2005) que fue de 76% utilizando esponjas vaginales con 40 mg de FGA y 300 UI de eCG en ovejas en época reproductiva, aunque cabe mencionar que en ese experimento a las ovejas se les inseminó por vía laparoscópica con semen congelado lo cual influyó directamente sobre los resultados. Sin embargo, los resultados son mayores en los tres tratamientos que los obtenidos por Dogan *et al.* (2005) donde la tasa de gestación obtenida fue de 71.5% utilizando esponjas vaginales con dosis de 40 mg de FGA por 11 días mas 500 UI de eCG y 125 µg de PGF<sub>2α</sub> en época reproductiva.

Sin embargo los resultados son semejantes a los reportados por Timurkan y Yildiz (2005) quienes sincronizaron por 14 días a los grupos 1, 2 y 3 con esponjas vaginales que contenían 40 mg de FGA y 14 días después de retirar las esponjas se les aplicó una dosis de intramuscular de 500, 600 y 750 UI de eCG para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente, y reportan una tasa de gestación de 90.6, 93.8 y 100% para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente.

Los resultados indican que con menores dosis de progestágenos se obtienen buenos resultados en la presentación, inicio y duración de estros así como buena fertilidad obteniendo en este caso de 90 a 100% en la tasa de gestación.

Cuadro 2. Influencia de las esponjas con diferentes dosis de FGA sobre la tasa de gestación a primer estro sincronizado en ovejas Suffolk y Dorset

Tratamiento	n	Ovejas en Celo (%)	Gestación (%)	Probabilidad
<b>Grupo 1</b>	10	100 (10/10)	90 (9/10)	<b>p&gt;0.05</b>
<b>Grupo 2</b>	10	100 (10/10)	90 (9/10)	
<b>Grupo 3</b>	10	100 (10/10)	100 (10/10)	

Grupo 1 = Testigo (esponja completa, 45 mg de FGA).

Grupo 2 = ½ esponja (22.5 mg de FGA).

Grupo 3 = ¼ de esponja (11.25 mg de FGA).

## VII. CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo la aplicación de acetato de fluorogestona a ovejas en época reproductiva resultó en un 100% de estros, no encontrando diferencias entre tratamientos, de igual manera en inicio y duración del estro, ni en el inicio y duración del pico preovulatorio de LH, sin embargo, en la amplitud del pico preovulatorio de LH se encontraron diferencias entre el grupo 1 y 2 con respecto al grupo 3; en el caso de patrón de secreción de progesterona y tasa de gestación tampoco existieron diferencias.

Por lo tanto se concluye que es posible sincronizar ovejas en época reproductiva utilizando dosis menores de FGA (22.5 y 11.25) a las comercialmente recomendadas (45 mg) además no se afectó la presentación de estros ni sus características de inicio y duración, tampoco se afectó la presentación, inicio y duración del pico preovulatorio de LH, además las diferencias que se encontraron en la amplitud del pico preovulatorio de LH no afectó la tasa de gestación.

### VIII. Literatura citada.

- Arendt, J. 1986. Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Rev. Repr. Biol.* 8. 566-32.
- Bonev, G. B. N. Y. Vassilev, M. A. Dimitrov, S. A. Yotov, and P. Penchev. 2005. Adjustment of echography and laparoscopic insemination to the reproductive particularities of pleven Blackhead sheep. *Bulgarian J. Vet. Med.* 9. No 1, 61-65.
- Bowen, J. M., G. E. Dahl, N. P. Evans, L. A. Thrun, Y. Wang, M. B. Brown, and F. J. Karsch. 1998. Importance of the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) surge of the ewe: Dose-response relationship and excess of GnRH. *Endocrinology* 139:588-595.
- Buffet, N. C., and P. Boucherd. 2001. The neuroendocrine regulation of the human ovarian cycle. *Chronobiol. Int.* 18:893-919.
- Caraty, A., A. Locatelli, S. M. Moenter, and F. J. Karsch. 1994. Sampling of hypophyseal portal blood of conscious sheep for direct monitoring of hypothalamic neurosecretory substances. In: *Pulsatility in Neuroendocrine Systems, Methods in Neuroscience.* (Ed) Levine J.E. Academic Press, San Diego. Vol. 20:163-183.
- Caraty, A., and D. C. Skinner. 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.
- Chemineau, P., J. A. Delgadillo. 1990. Neuroendocrinología de la Reproducción en el Caprino. In: *Memorias del VII Congreso Nacional*

- de Caprinocultura; 1990 diciembre 5-8; Culiacan (Sin) México. México (D.F.). Asociación Mexicana de Zootecnistas y Técnicos en Caprinocultura A. C. pp.1-10.
- Cline, M. A., J. N. Ralston, R. C. Seals, and G. S. Lewis. 2001. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. *J. Anim. Sci.* 79:589-594.
- Córdova, I. A., L. G. Ruíz, O. J. Saltijeral, G. J. F. Pérez y D. T. Degefa. 1999. Inducción y sincronización de celos en ovejas criollas anéstricas estacionales con esponjas vaginales impregnadas en PGA y PMSG inyectable. *Arch. Zootec.* 48:437-440.
- Cottle, D. J. 1991. *Australian Sheep and Wool Handbook*. Innata Press Melbourne, Australia. Pp. 357-362.
- Dogan, I. and Z. Nur. 2006. Different estrous induction methods during the non-breeding season in Kivircik ewes. *Veterinari Medicina.* 51 (4):133-138.
- Dogan, I. Z. Nur, U. Gunay, H. Sagirkaya, M. K. Soylu, C. Sonmez. 2005. Estrous synchronization during the natural breeding season in Anatolian black does. *Vet. Med. Czech.* 50 (1): 33-38.
- Drion, P. V., V. Furtoss, G. Baril, E. Manfredi, F. Bouvier, J-L. Pougard, D. Bernelas, P. Caugnon, E. McNamara, B. Remy, J. Sulon, J-F. Beckers, L. Bodin, and B. Lebceuf. 2001. Four years on induction/synchronization of estrus in dairy goats: Effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 41:401-412.

- Duarte, G. 2000. Estacionalidad reproductiva y efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovulatoria de las hembras caprinas de la Comarca Lagunera. Tesis de Doctorado. México (D.F.) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.
- Erickson, G. F., and S. Shimasaki. 2001. The physiology of folliculogenesis: The role of novel growth factors. *Fertil. Steril.* 76:943-949.
- Foote, W. C. 1968. Control of reproduction with or without hormones. *Proc. Symp. Physiology of Reproduction in Sheep.* Sheep Industry Development Program, Stillwater, Oklahoma. Pp 104-129.
- Fortune, J. E. and S. M. Quirk. 1988. Regulation of steroidogenesis in bovine preovulatory follicles. *J. Anim. Sci. (Suppl. 2)*1-8.
- Galina H. C., C. A. Saltiel, M. J. Valencia, A. J. Becerril, C. G. Bustamante, Y. A. Calderón, B. A. Duchateau, B. S. Fernández, B. A. Olguín, M. R. Páramo y Q. L. Zarco. 1986. Reproducción de animales domésticos. Ed. Limusa. México pp:13-15.
- Gallegos, J. S., S. Picard, B. Delaleu, B. Malpoux, and J. C. Thiéry. 1996. Initiation of the oestradiol-induced inhibition of pulsatile LH secretion in ewes under long days: Comparison of peripheral versus central treatment and neurochemical correlates. *J. Endocrinol.* 151:19-28.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Copen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., p. 27.
- Garverick, H. A., M. F. Smith, R. G. Elmore, G. L. Morehouse, L. Sp. Agudo and W. L. Zahler. 1985. Changes and interrelationships among luteal

- LH receptors, adenylate cyclase activity and phosphodiesterase activity during the bovine estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 61:216-223.
- Goodman, R. L., 1994. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: *The Physiology of reproduction*. 2 ed by Knobil E. and Neill J.D. Raven Press, New York, 47:569-709.
- Goodman, R. L., J. E. Robinson, D. L Foster., and F.J. Karsch. 1982. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biol. Reprod.* 27:580-589.
- Hafez E.S.E., and B. Hafez. 2002. Reproducción e inseminación artificial en los animales. 7ª ed. Ed. McGraw-Hill. México. Pp. 13-55.
- Hafez, E.S. 1989. Reproducción e inseminación artificial en animales. 5ª ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México. Pp. 177-187.
- Hernández J., L. Zarco, H. Kindahl, J. Valencia. 2004. Desarrollo folicular, concentraciones de FSH, estradiol y MPGR $\alpha$  asociado con persistencia lútea inducida por la administración de líquido folicular equino libre de esteroides en la oveja. *Vet. Méx.* 35(1):55-64
- Iglesias, R. M. R., N. H. Ciccioili, and H. Irazoqui. 1997. Ram-induce reproduction in seasonally anovular Corriedale ewes: MAP doses for oestrus induction, ram percentages and post-mating progestagen supplementation. *J. Anim. Sci.* 64:119-125.
- Knights, M., T. Hoehn, P.E. Lewis, and E. K. Inskeep. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone insert and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *J. Anim. Sci.* 79:1120-1131.

- Knobil and Neill's. 2006. Physiology of reproduction. 3a ed. Ed. Elsevier. Vol.1. Pp. 497-503.
- Legan, S. J., and F. J. Karsch. 1979. Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biol. of Reprod.* 20:74-85.
- Malpoux, B., A. Daveau, F. Maurice, V. Garyard, and J. C. Thiéry. 1993. Short days effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: Evidence for a central site of action in the mediobasal hypothalamus. *Biol. Reprod.* 48:752-760.
- Malpoux, B., C. Viguié, D. C. Skinner, J. C. Thiéry, J. Pelletier, and P. Chemineau. 1996. Seasonal Breeding in Sheep: Mechanism of action of melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 42:109-117.
- Malpoux, B., J. E. Robinson, N. L. Wayne, and F. J. Karsch. 1989. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe, importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *J. Endocrinol.* 122:269-278.
- Marshall, F. H A. 1937. On the change over in the oestrous cycle in the animals alter transference across the equator, with further observations on the incidence of the breeding seasons and factors controlling sexual periodicity. *Proc. Roy. Soc. London (B)* 122:413-428.
- Mattioli, M., F. Conte, G. Giovanna, and E. Seren. 1986. Effect of naloxone on plasma concentration of prolactin and LH in lacting sows. *J. Reprod. Fert.* 76:167-173.

- McCracken, J.A., E.E. Custer, and J.C. Lamsa. 1999. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. *Physiol. Rev.* 79(2):264-324.
- McLeod B. J., W. Haresign, G. E. Lamming. 1982. The induction of ovulation and luteal function in seasonally anoestrous ewes treated with small-dose multiple injection of GnRH. *J. Reprod. Fertil.* 65:215-221.
- Molina-Mendoza, P., Sanchez-Torres-Esqueda, T., Garcia-Flores, E. O., Martinez-García, A., Cardenas-León, M., Peralta-Ortíz, J., Cordero-Mora, J. L., Hizarza-Espinoza, A. y Ortega-Cerrilla, M. E. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia* 39(1):11-18.
- Powell, M. R., M. Kaps, W. R. Lamberson, and D. H. Keisler. 1996. Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 74:2292-2303.
- Richards, J. S., D. L. Russell, S. Ochsner, M. Hsieh, K. H. Doyle, A. E. Falender, Y. K. Lo, and S. C. Sharma. 2002. Novel signaling pathways that control ovarian follicular development, ovulation, and luteinization. *Recent Prog. Horm. Res.* 57:195-220.
- Richter, T. A., J. E. Robinson, and N. P. Evans. 2002. Progesterone blocks the estradiol-stimulated luteinizing hormone surge by disrupting activation in response to a stimulatory estradiol signal in the ewe. *Biol. Reprod.* 67:119-125.
- Rodríguez-Iglesias R. M., N. H. Ciccioli, H. Irazoqui, and C. Giglioli. 1996. Ovulation rate in ewe alter single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. *Anim. Reprod. Sci.* 44:211-221.

- Romano, J. E. 1998. The effect of continuous presence of bucks on hastening the onset of estrus in synchronized does during the breeding season. *Small Rum. Res.* 30:99-103.
- Rubianes, E. 2000. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Actas de Fisiología* 6:93-103.
- Rubianes, E. y R. Ungerfeld. 2002. Perspectivas de la investigación sobre producción ovina en América Latina en el marco de las actuales tendencias productivas. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 10(12):117-125.
- Safranski, T. J., W. R. Lamberson, and D. H. Keisler. 1992. Use of melengestrol acetate and gonadotropins to induce fertile estrus in seasonally anestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 70:2935-2941.
- SAS Institute. 2003. SAS language: Release 8.2 for Windows. Cary, North Caroline, USA.
- Spencer, T. E., and F. W. Bazer. 2002. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front. Biosci.* 1(7):1878-1898.
- Stellflug, J. N., F. Rodríguez, V. A. LaVoie, and H.A. Glimp. 1994. Influence of simulated photoperiod alteration and induced estrus on reproductive performance of spring-born Columbia and Targhee ewe lambs. *J. Anim. Sci.* 72:29-33.
- Timurkan, H., H. Yildiz. 2005. Synchronization of oestrus in Madani ewes: The use of different PMSG doses. *Bull Vet. Inst. Pulawy* 49:311-314.
- Ucar, O., M. Kaya, S. Yildiz, F. Onder, M. Cenesiz, and M. Uzun. 2005. Effect of progestagen/PMSG treatment for oestrus synchronization of

- Tuj ewes to be bred after the natural breeding season. *ACTA VET. BRNO.* 74:385-393.
- Ungerfeld, R. and E. Rubianes. 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA, and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rum. Res.* 46:63-66.
- Ungerfeld, R., and E. Rubianes. 1999. Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim. Sci.* 68: 349-353.
- Van Cleeff, J., F. J. Karsch and V. Padmenabhan. 1998. Characterization of endocrine events during the peri-estrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. *Domest. Anim. Endocrinol.* 15:23-34.
- Walkden-Brown, S. W., B. J. Restall, B. W. Norton, R. J. Scaramizzi, and G. B. Martin. 1994. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian Cashmere goats. *J. Reprod. Fertil.* 102:351-360.
- Weeb, R., K. J. Woad, and D. G. Amstrong. 2002. Corpus luteum (CL) function: Local control mechanisms. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23:277-285.
- Whitley, N. C., and D. J. Jackson. 2004. An update on estrus synchronization in goats: A minor species. *J. Anim. Sci.* 82(E. Suppl.):E270-E276.
- Whitlock, K. E. 2005. Origin and development of GnRH neurons. *TRENDS Endocrinol. Metabolism* Vol.16 No.4 May/June. Pp. 145-151

- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.* Pp. 1-9.
- Williams, L.M., and R.J.A. Helliwell. 1993. Melatonin and seasonality in the sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 159-183.
- Wuttke, W., K. Theiling, B. Hinney, and L. Pitzel. 1998. Regulation of steroid production and its function within the corpus luteum. *Steroids* 63:299-305.
- Yildiz, S., M. Uzun, M. Kaya, Ö. UÇard, and M. Çenesiz. 2004. Effects of rams and luteal or follicular phase ewes on preovulatory LH surge characteristics in ewes. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 28:669-673.
- Zaiem, I., D. Tainturier, J. Chemli, and M. Soltani. 1996. Vaginal sponge and different PMSG doses to improve breeding performance of Black Thibar ewe. *Rev. Med. Vet.* 147:305-310.