



Tomado de: <https://pixabay.com/es/ovejas-cabras-rebaño-cuadrúpedo-1563110/>

Sincronización del estro en ovejas de pelo mediante protocolo basado en prostaglandinas + GnRH

Estrous synchronization in hair sheep using a protocol based on prostaglandin + GnRH

Blas Rogelio Ávila-Castillo¹, Enrique Octavio García-Flores², Pedro Molina-Mendoza³, J. Jesús German Peralta-Ortiz¹, María Teresa Sánchez-Torres-Esqueda^{4*}

RESUMEN

El uso de progestágenos puede contaminar el medio ambiente y el tejido animal, por lo que el uso de prostaglandinas $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) y hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) pueden representar una alternativa viable. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de aplicar una dosis de GnRH en el intervalo de aplicación de dos dosis de $PGF_{2\alpha}$, y compararlo con protocolos basados en progestágenos y $PGF_{2\alpha}$, comúnmente utilizados en la sincronización de estros, con respecto al pico pre-ovulatorio de la hormona luteinizante (LH), concentraciones de progesterona post-estro, tasa de preñez, pariciones y prolificidad. Después de una pre-sincronización con doble aplicación de $PGF_{2\alpha}$, 30 ovejas adultas multíparas (peso vivo = 45 ± 3.1 kg, condición corporal = 3.2 ± 0.5 unidades y tiempo post-parto = 60 d a 90 d) fueron asignadas aleatoriamente a uno de tres tratamientos ($n = 10$). Grupo 1: P (Testigo), recibieron dosis única de 125 μ g de cloprostenol por vía IM (intramuscular); Grupo 2: FP, recibieron esponjas intravaginales que contenían 20 mg de acetato de fluorogestona por 5 d, y al retiro de la esponja fueron inyectadas con 125 μ g de cloprostenol vía IM; Grupo 3: GP, recibieron 50 μ g de GnRH IM, y 7 d después fueron inyectadas con 125 μ g de cloprostenol. El inicio del estro fue más rápido ($P \leq 0.05$) en el grupo P comparado con el grupo FP. El grupo GP ($P \leq 0.05$) tuvo mayores concentraciones de progesterona después de 5 d post-estro, comparado con los grupos P y FP. La tasa de preñez no fue diferente ($P > 0.05$) entre grupos. Los protocolos de sincronización evaluados fueron semejantes en su efectividad para mejorar el comportamiento reproductivo en ovejas de pelo. Se recomienda usar protocolos basados en su aplicación de $PGF_{2\alpha}$, debido a su facilidad de aplicación.

PALABRAS CLAVE: cuerpo lúteo, progesterona, hormona luteinizante, estro, gestación.

ABSTRACT

The use of progestogens can contaminate the environment and animal tissue. Therefore, the use of prostaglandins $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) may represent a viable alternative. The aim of the present work was to evaluate the effect of applying a dose of GnRH within the range of application of two doses of $PGF_{2\alpha}$, and compare it with protocols based on progestogens and $PGF_{2\alpha}$, commonly used in the synchronization of estrus, with respect to the pre-ovulatory peak of luteinizing hormone (LH), post-estrus progesterone concentrations, pregnancy rate, calving and prolificacy. After a pre-synchronization with a double application of $PGF_{2\alpha}$, 30 multiparous adult ewes (live weight = 45 ± 3.1 kg, body condition = 3.2 ± 0.5 units and postpartum time = 60 d to 90 d, were randomly assigned to one of three treatments ($n = 10$). The ewes in Group 1: P (Control) received a single dose of 125 μ g of cloprostenol via IM (intramuscular); the ewes in Group 2: FP received intravaginal sponges containing 20 mg of fluorogestone acetate for 5 d; and upon removal of the sponge, they were injected with 125 μ g of cloprostenol via IM; the ewes in Group 3: GP received 50 μ g of GnRH IM, and 7 d later they were injected with 125 μ g of cloprostenol. The onset of estrus was detected faster ($P \leq 0.05$) in P and GP groups than in the FP group. The GP group ($P \leq 0.05$) had higher concentrations of progesterone after 5 d post-estrus, compared to the P and FP groups. The pregnancy rate was not different ($P > 0.05$) between groups. All the synchronization protocols evaluated were similar in the effectiveness to improve the reproductive behavior in hair sheep. Therefore, the use of protocols based on the application of $PGF_{2\alpha}$ is recommended, due to their ease of application.

KEYWORDS: corpus luteum, progesterone, luteinizing hormone, estrus, gestation.

*Correspondencia: teresa@colpos.mx/Fecha de recepción: 1 de noviembre de 2017/Fecha de aceptación: 13 de septiembre de 2018/Fecha de publicación: 31 de enero de 2019

¹Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Medicina Veterinaria y Zootecnia. Rancho Universitario, Av. Universidad, km 1, Ex Hacienda de Aquetzalpa, Tulancingo, Hidalgo, México, C. P. 43600. ²Universidad de Guadalajara, Ingeniería en Recursos Naturales y Agropecuarios. ³Universidad Intercultural del Estado de Puebla, División de Ciencias Naturales, Ingeniería Forestal Comunitaria. ⁴Colegio de Postgraduados, Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería, Campus Montecillo.

INTRODUCCIÓN

Los protocolos de sincronización del estro, en la oveja, se han basado principalmente en imitar la fase lútea del ciclo estral, a través de dispositivos o esponjas impregnadas con progestágenos, tales como acetato de medroxiprogesterona (MAP, por sus siglas en inglés: Medroxiprogesterone acetate), acetato de melengestrol (MGA, por sus siglas en inglés: Melengestrol acetate) y acetato de fluorogestona (FGA, por sus siglas en inglés: fluorogestone acetate) (Abecia y col., 2012); no obstante, existe una tendencia a reducir el empleo de progestágenos, debido a los riesgos de contaminar el medio ambiente y los tejidos que se encuentran en contacto con residuos propios de los progestágenos utilizados, además de antibióticos usados para evitar vaginitis en la oveja (Manes y col., 2016), implicando un cambio en el método tradicional del control de la reproducción en los pequeños rumiantes (Delgadillo y Martin, 2015). En respuesta a lo anterior, algunos investigadores han disminuido el tiempo de exposición de los progestágenos, obteniendo protocolos de sincronización de corta duración, con resultados aceptables en la inducción y la sincronización de estros en ovejas durante las temporadas reproductiva y no reproductiva (Fleisch y col., 2012; Martínez y col., 2015). Sin embargo, existe la tendencia de usar solamente prostaglandinas $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), porque son rápidamente metabolizadas en pulmón y, por lo tanto, no se acumulan en los tejidos (Abecia y col., 2012), además de tener ventajas prácticas, como fácil aplicación, costo reducido y menor contaminación, comparada con dispositivos intravaginales impregnados con progestágenos (Fierro y col., 2013). Cabe mencionar que las $PGF_{2\alpha}$, al ser utilizadas de manera individual, en una sola dosis, no proveen una sincronía aceptable de estro en las ovejas (Fierro y col., 2017), por lo que una alternativa para mejorar el nivel de sincronía de estro y fertilidad, provista por $PGF_{2\alpha}$ es, asociarla al uso de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH, por sus siglas en inglés: Gonadotropin-releasing hormone), aplicándola al inicio del tratamiento para eliminar folículos grandes por ovulación o atresia,

e induciendo la emergencia de una nueva onda folicular en los siguientes 3 d o 4 d después de su administración. Se ha documentado que GnRH puede ser empleada para controlar la función folicular y lútea, así como incrementar la precisión del estro y sincronización de la ovulación en ovejas durante la época reproductiva (Hashem y col., 2015). La asociación de GnRH y $PGF_{2\alpha}$ se ha evaluado como alternativa a tratamientos basados con progestágenos, obteniéndose resultados prometedores de fertilidad en la época reproductiva (Rekik y col., 2016), pero no en la época no reproductiva (Almadaly y col., 2016), observándose para este último, que el protocolo de sincronización con dos aplicaciones de $PGF_{2\alpha}$, a intervalo de 9 días, y la administración de gonadotropina coriónica equina en la segunda aplicación de $PGF_{2\alpha}$, logró mejorar la tasa de preñez (100 %) pero la respuesta a estro fue baja (30 %).

La GnRH es utilizada para inducir la ovulación o bien la luteinización de un folículo (Rekik y col., 2016), sin embargo, si se aplica en un programa de sincronización antes de la inserción de progestágenos, puede influir en el reclutamiento de folículos, iniciando una nueva oleada folicular e indirectamente influir en la función del cuerpo lúteo (Karaca y col., 2009), lo cual podría a su vez contribuir en la fertilidad. Investigaciones recientes en ovejas (Bartlewski y col., 2017) y vacas *Bos indicus* (Simões y col., 2018), registraron que la aplicación exógena de progesterona durante la fase lútea del ciclo estral, incrementó la tasa de crecimiento de los folículos antrales grandes, y redujo el número y porcentaje de folículos ovulatorios emergentes en la penúltima oleada del ciclo estral estudiado, aunque también disminuyó la tasa de ovulación. Resulta interesante que incrementara la tasa de crecimiento de algunos folículos, lo cual puede contribuir a que al momento de la ovulación se tenga un folículo lo suficientemente grande para generar un subsecuente cuerpo lúteo, que pueda producir concentraciones altas de progesterona, lo que puede ser benéfico para mejorar la fertilidad en ovejas.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar, durante la época reproductiva, el efecto de administrar una dosis de GnRH a la mitad del intervalo de aplicación de dos dosis de PGF_{2α} sobre el pico pre-ovulatorio de hormona luteinizante (LH), las concentraciones progesterona post-estro, la tasa de preñez, la fertilidad y la prolificidad en ovejas de pelo, además de comparar la eficiencia reproductiva de ovejas sincronizadas con PGF_{2α} + GnRH *versus* progestágeno + PGF_{2α}.

MATERIALES Y MÉTODOS

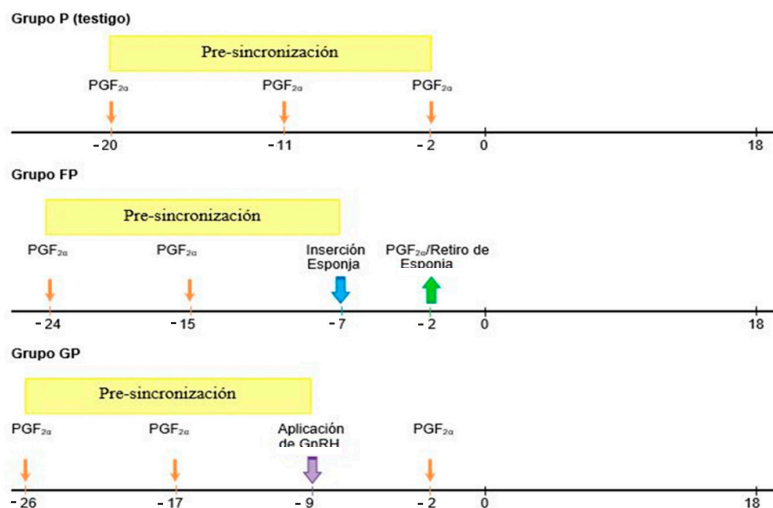
Localización del área de estudio

El experimento se realizó en una granja de ovinos ubicada en el municipio de Autlán de Navarro, Jalisco, México (19°48' N, 104°24' W y 1 013 msnm), donde el clima es templado seco, con lluvias en verano (García, 2004). El estudio se llevó a cabo durante la época reproductiva (septiembre a octubre). Todos los animales fueron manejados con base en los lineamientos indicados en las siguientes Normas Oficiales Mexicanas: NOM-062-ZOO-1999 (especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) y NOM-051-ZOO-1995 (especificaciones del trato humanitario en la movilización de animales).

Animales experimentales y tratamientos

Se utilizaron 30 ovejas hembras adultas multíparas (cruzas de las razas Katahdin y Pelibuey), con un peso promedio de 45 ± 3.1 kg, una condición corporal de 3.2 ± 0.5 unidades (escala 1 a 5) (Russel y col., 1969) y 60 d a 90 d postparto, considerándose aptas para los protocolos de sincronización (Ungerfeld y Sanchez-Davila, 2012). Las ovejas se encontraban separadas de los machos, sin embargo, se realizó la confirmación de que estuvieran en una condición fisiológica de “no gestantes”, a través de ultrasonografía de tiempo real, usando un equipo de ultrasonido (Medison®, modelo Sonovet 2000, Seúl, Korea) equipado con el transductor lineal rectal de 7.5 MHz (Medison®, modelo Sonovet 2000, Seúl, Korea). Las ovejas fueron asignadas al azar a uno de tres tratamientos (n = 10), después de haber sido presincronizadas con PGF_{2α} (cloprostenol sódico, Celosil®, MSD, salud animal, New Jersey, USA) (Figura 1).

Grupo P (Testigo): Las ovejas de este grupo recibieron la primera dosis de 125 µg de cloprostenol sódico en el día -20, (día 0, presentación del estro), la segunda dosis se aplicó el día -11, correspondiendo estas dos apli-



■ Figura 1. Cronograma de pre-sincronización y sincronización del estro en las ovejas. Día 0 = día de estro.

Figure 1. Schedule of pre-synchronization and synchronization of estrus in ewes. Day 0 = day of estrus.

caciones al periodo de pre-sincronización, la última aplicación de cloprostenoil sódico se realizó en el día - 2.

Grupo FP: Las ovejas de este grupo recibieron la primera dosis de 125 µg de cloprostenoil en el día - 24, y la segunda el día - 15, correspondiente al periodo de pre-sincronización, en el día - 7, cada oveja fue tratada con una esponja intravaginal impregnada de 20 mg de acetato de fluorgestona (FGA; Chronogest® CR; MSD Salud Animal, New Jersey, Estados Unidos) por un periodo de 5 d (- 7 d al - 2 d), y al término, se aplicó una dosis de 125 µg de cloprostenoil sódico por vía IM.

Grupo GP: Las ovejas de este grupo recibieron la primera dosis de 125 µg cloprostenoil sódico el día - 26, y una segunda aplicación el día - 17, comprendiendo estas dos aplicaciones el periodo de pre-sincronización, en el día - 9 las ovejas fueron inyectadas, vía IM, con 50 µg de gonadorelina, un análogo sintético de GnRH (Fertagyl®; MSD salud animal, New Jersey, Estados Unidos); y en el día - 2 se administraron 125 µg de cloprostenoil sódico por vía IM.

Alojamiento y alimentación

Las ovejas estuvieron en condiciones de estabulación con un espacio de 1.0 m² por animal, techo de lámina de 10 m x 8 m y un espacio abierto de 10 m x 20 m con paredes de malla, alimentadas con 1.0 kg/d de alimento comercial por oveja, conteniendo 90 % de materia seca (DM, por sus siglas en inglés: dry matter), 2.40 Mcal/kg de energía metabolizable y 16 % de proteína cruda, más rastrojo de maíz *ad libitum*; el alimento se ofreció en dos comederos de metal de 80 cm de ancho y 4 m de largo, con acceso libre al agua en bebedero de cemento de 60 cm de ancho, 2 m de largo y 40 cm de hondo.

Observación de la presentación y duración del estro

El comportamiento del estro de las ovejas fue monitoreado a partir de las 24 h después de la aplicación de la última dosis de PGF_{2α}, co-

rrespondiente al programa de sincronización del estro. Las observaciones fueron realizadas por 30 min, a intervalos de 4 h durante 4 d. Se utilizó un macho con mandil (para evitar la preñez) para detectar las ovejas en estro. Las ovejas detectadas en estro fueron servidas por el semental, repitiéndose la monta 12 h después (Molina-Mendoza y col., 2005). Se trabajó con 6 machos adultos de una edad de 4 ± 0.2 años, de la raza pelibuey, a los cuales, se les realizaron pruebas para determinar su viabilidad espermática. Los resultados fueron: volumen 1.0 ± 0.2 mL, motilidad 85.0 ± 5.0 %, concentración espermática 1.7 ± 0.1x 10⁹/mL y espermatozoides vivos 60.0 ± 4.0 %. Se asignaron dos sementales, de forma aleatoria, por grupo de oveja, para realizar un sistema de monta controlada, la cual consistió en que cada semental montara dos veces a cada oveja. Las ovejas servidas fueron llevadas a otro corral.

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se realizó 45 d después del servicio, utilizando un equipo de ultrasonido (Sonovet, 2000).

Toma de muestras sanguíneas

Se colectaron muestras sanguíneas mediante venopunción de la vena yugular, obteniéndose 5.0 mL de sangre para determinar concentraciones de progesterona (P₄) y LH. Para determinar las concentraciones de P₄, se colectaron muestras sanguíneas cada 3 d, a partir del día 1 al día 18 del ciclo estral. Para las concentraciones de LH se colectaron muestras cada 4 h, desde las 24 h hasta las 96 h, después de terminados los tratamientos. Posteriormente, las muestras sanguíneas fueron centrifugadas a 1 500 xg durante 15 min, el suero fue separado por decantación para ser congelado y almacenado a - 20 °C hasta su análisis.

Al finalizar este periodo de muestreo, todas las ovejas fueron suplementadas durante 15 d con minerales Superbayphos® Bayer (10 mg por oveja) y además, se aplicó vitamina K, dosis única de 1.5 mg/kg de peso vivo.

Análisis hormonales

La concentración de P₄ se determinó por el método inmunoenzimático, con un kit comercial (Inmunometrics UK Ltd. 280 Munster Road, London SW6 6BQ). La sensibilidad del análisis fue de 0.12 ng/mL, con coeficientes de variación intra e inter ensayo de 8.3 % y 10.7 %, respectivamente. Las concentraciones de LH fueron determinadas por radioinmunoanálisis (Niswender y col., 1969). La sensibilidad de la prueba fue de 0.7 ng/mL y el coeficiente de variación intra ensayo fue de 7.0 % e inter ensayo de 13.3 %.

Variables de respuesta

-Porcentaje de presentación de estro: se determinó como el resultado de dividir el número de hembras que presentaron estro entre ovejas que recibieron tratamiento, multiplicadas entre 100.

-Inicio del estro: se estableció como la resultante de las horas transcurridas desde el momento de la última aplicación de croplostenol, hasta el momento que la oveja manifiesta estro.

-Duración del estro: se determinó como el resultado de la diferencia entre el inicio y fin del estro.

-Inicio y duración del pulso pre-ovulatorio de LH: el inicio de la elevación de LH se definió como el tiempo en el cual, las concentraciones de LH fueron mayores a 2 desviaciones estándar con respecto a la secreción promedio basal, y permanecieron así, mínimo 4 h. El fin de la elevación fue definida como el tiempo en el cual las concentraciones de LH regresaron a su concentración basal (Van-Cleeff y col., 1998).

-Amplitud del pulso pre-ovulatorio de LH: fue establecido como el punto más alto del pico, menos la concentración nadir precedente del Pico (Mattioli y col., 1986).

-Porcentaje de preñez: se determinó como resultado de dividir el número de ovejas que que-

daron preñadas entre el número de ovejas que presentaron estro, multiplicando el cociente por 100.

-Porcentaje de pariciones: se definió como resultado de dividir el número de ovejas que parieron entre el número de ovejas que estaban preñadas, multiplicando el cociente por 100.

-Prolificidad: se determinó como resultado de dividir el número de corderos vivos entre el número de ovejas que parieron.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, donde la unidad experimental fue cada oveja. Los resultados de presentación del estro, gestación y parto fueron analizados mediante la prueba exacta de Fisher, a través del sistema de análisis estadístico (SAS) con el PROC FREQ (SAS, 2008). Mediante el análisis de varianza de los datos de inicio, duración del estro e inicio, amplitud y duración de LH y prolificidad, se obtuvieron valores promedio \pm error estándar de la media (EEM), con el programa SAS, usando el PROC GLM (SAS, 2008). Para determinar las diferencias entre las medias de los tratamientos ($P \leq 0.05$) se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey. Para las concentraciones de P₄, se elaboró un análisis de mediciones repetidas en el tiempo, con el software SAS, empleando el PROC MIXED para un diseño completamente al azar (Littell y col., 1998), teniendo como factor fijo al tratamiento, y factor aleatorio a la oveja y al tiempo. La estructura de covarianza fue obtenida de acuerdo a la metodología establecida por Wang y Goonewardene (2004), utilizando una arreglo de covarianza auto regresiva de primer orden AR (1).

RESULTADOS

Porcentaje de presentación, inicio y duración del estro

El 100 % de las ovejas del grupo FP presentaron estro, pero los grupos P y GP, presentaron una diferencia de 20 % y 10 %, respectivamente con respecto al grupo FP (Tabla 1). El aplicar los diferentes programas de sincroniza-

■ Tabla 1. Presentación, inicio y duración del estro, porcentaje de gestación y partos, para los diferentes tratamientos.

Table 1. Presentation, onset and duration of estrus, percentage of gestation and lambing for the different treatments.

Tratamientos*	Presentación de estro (%)	Inicio de estro (h)	Duración de estro (h)	Gestación (%)	Partos (%)	Prolificidad**
P	80 (8/10)	40.00 ± 2.92 ^a	36.50 ± 3.94 ^a	87 (7/8)	71 (5/7)	1.66 ± 0.21 ^a
FP	100 (10/10)	55.20 ± 4.80 ^b	31.55 ± 1.04 ^a	90 (9/10)	78 (7/9)	2.12 ± 0.12 ^a
GP	90 (9/10)	43.55 ± 1.23 ^a	34.22 ± 1.89 ^a	89 (8/9)	100 (8/8)	1.88 ± 0.35 ^a

^{ab}Literales distintas en una misma columna indican diferencia ($P < 0.05$).

*Grupo P (grupo testigo), aplicación de PGF_{2α}; Grupo FP, 20 mg de FGA por 5 d y Grupo GP, 50 µg de GnRH y 7 d después 125 µg de cloprostenol.

**Promedio de corderos nacidos por oveja parida.

ción de estros a mitad de la fase lútea no registró diferencia ($P > 0.05$) para la variable duración del estro, donde la duración para los tres grupos estuvo en el rango de 31.55 h a 36.50 h.

Descripción del pulso pre-ovulatorio en las variables de inicio, amplitud y duración del pico

Las ovejas de los tres grupos presentaron al menos un pulso pre-ovulatorio durante un periodo de 120 h, después de la última aplicación de PGF_{2α} (Figura 2), registrando los valores individuales más altos en un rango de 48 ng/mL a 70 ng/mL, en los diferentes grupos. No se observó efecto alguno ($P > 0.05$) entre los grupos de tratamiento sobre el inicio, amplitud y duración del pulso pre-ovulatorio, donde los promedios para amplitud y duración fueron muy cercanos entre los diferentes grupos (Tabla 2).

Concentración de progesterona posterior al estro

Las concentraciones de P₄ no variaron ($P > 0.05$) entre tratamientos durante los primeros 5 d de post-finalizados los protocolos (Figura 3); no obstante, después de 8 d de finalizados los tratamientos, se detectó una diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en las concentraciones séricas promedio de P₄ entre tratamientos, siendo esta más alta para el grupo GP en relación a los grupos P y FP. Se mantuvo dicha diferencia entre grupos al día 18 de finalizados los

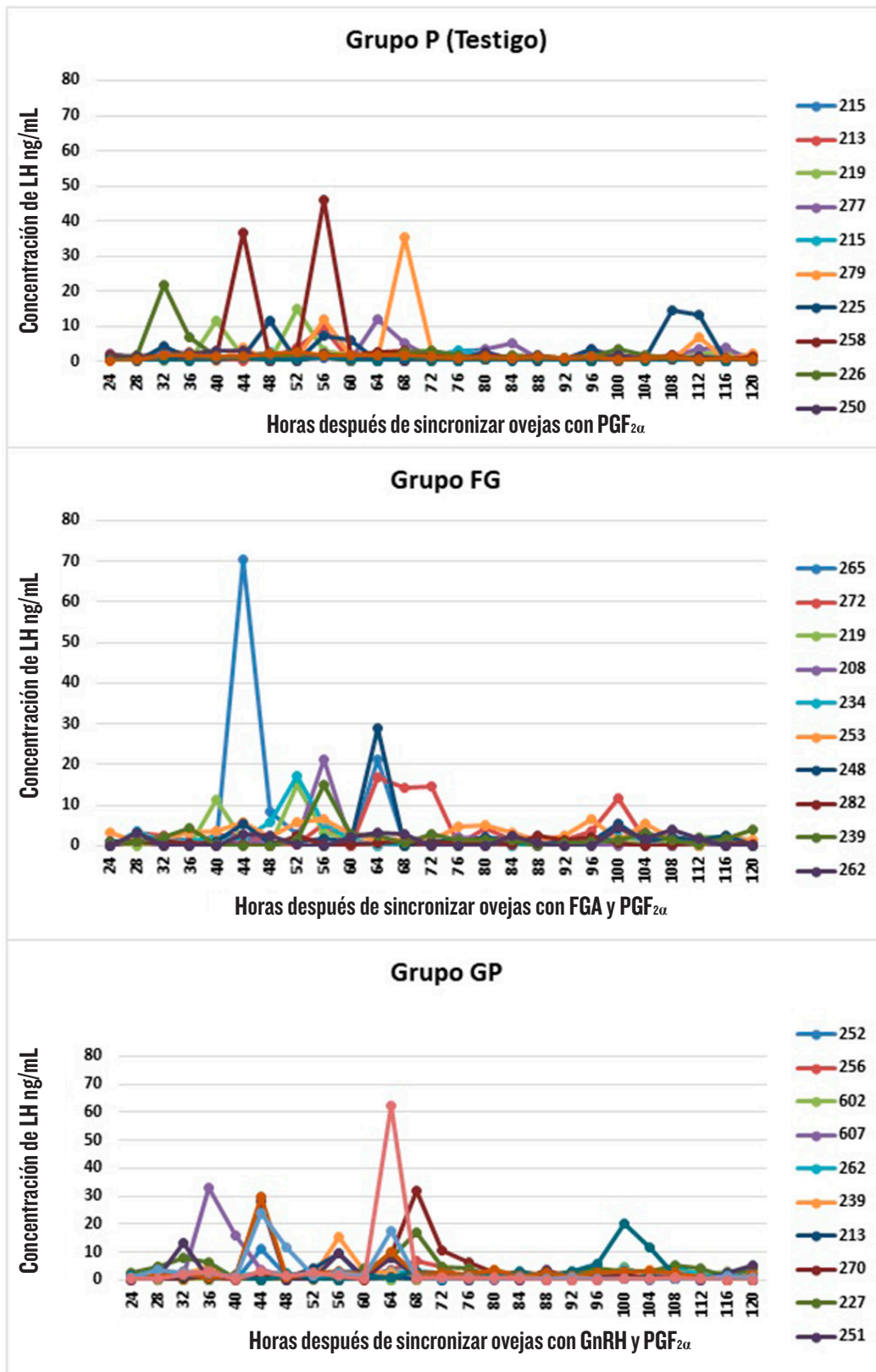
tratamientos, observándose esta diferencia en un rango de 4 ng/mL a 8 ng/mL, para este periodo.

Gestación, parto y prolificidad

El porcentaje de gestación fue muy parecido entre los diferentes protocolos de sincronización de estro. En tanto que, el porcentaje de partos varió del 71 % al 100 % (Tabla 1). Las ovejas del grupo GP lograron mantener la gestación hasta el momento del parto. La prolificidad no fue afectada ($P > 0.05$) por los tratamientos.

DISCUSIÓN

Los resultados de presentación del estro se esperaban, ya que esta variable se encuentra relacionada con la concentración de P₄ al momento de la elevación de estradiol, GnRH y gonadotropinas, pero no con la concentración sérica de P₄ durante la fase lútea (Swelum y col., 2018). La duración del estro se ha reportado que se encuentra influida por el tiempo que dure los niveles altos de estradiol, y los niveles de estradiol registrados durante el estro dependen de la cantidad y el tamaño de los folículos dominantes (Martinez-Ros y col., 2018). También la cantidad de P₄ durante la fase lútea, previa al estro, juega un rol importante en los niveles de estradiol que pueden presentarse en el estro subsecuente (Skinner y col., 2000). Sin embargo, en el presente estudio no se encontraron efectos de los tra-



■ Figura 2. Secreción individual de la hormona luteinizante a partir de 24 h a 120 h, después de la última aplicación de la dosis de $PGF_{2\alpha}$ para los grupos P, FP y GP, donde se muestran los pulsos preovulatorios.

Figure 2. Individual secretion of luteinizing hormone from 24 h to 120 h after last application of $PGF_{2\alpha}$ for ewes synchronized for P, FP and GP groups, showing the pre-ovulatory pulses.

■ Tabla 2. Inicio, amplitud y duración de la elevación de LH (medias \pm error estándar) en los grupos de ovejas.

Table 2. Onset, amplitude and duration of surge LH (means \pm standard error) in ewes groups.

Evento	Tratamientos*		
	P	FP	GP
Inicio de la elevación de LH (h)	55 \pm 3	54 \pm 2	66 \pm 15
Amplitud del pico de LH (ng/mL)	26 \pm 8	25 \pm 6	27 \pm 6
Duración del pico de LH (h)	5 \pm 1	4 \pm 0.6	5 \pm 1

*Grupo P (grupo testigo), aplicación de PGF_{2 α} ; Grupo FP, 20 mg de FGA por 5 d; Grupo GP, 50 μ g de GnRH al inicio del programa y 7 d después 125 μ g de Cloprostenol.

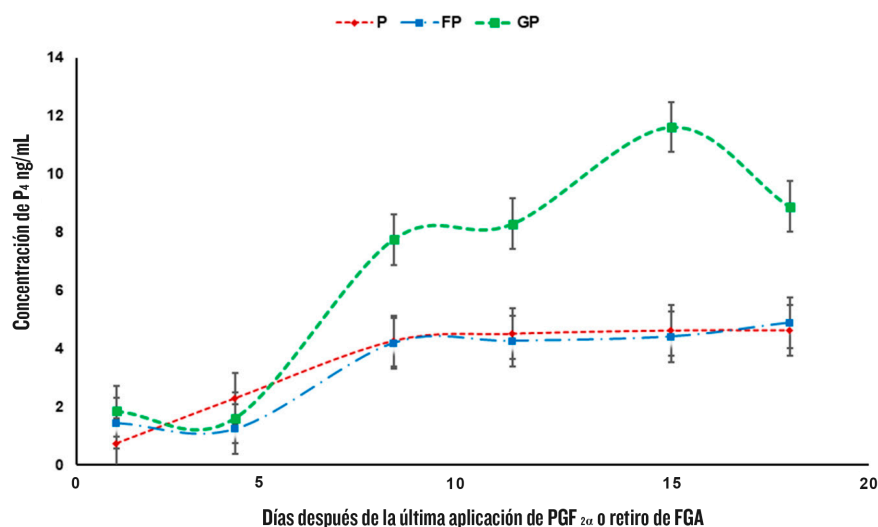
tamientos sobre la duración del estro (Tabla 1), lo cual sugiere que las variaciones en las concentraciones de P₄ en el ciclo previo, y la actividad folicular fueron similares entre tratamientos.

Si bien, la duración del estro no fue afectada por los tratamientos, el inicio de estro fue más rápido en el grupo P (testigo), que solo utilizó PGF_{2 α} , comparado con el grupo FP, donde se usó FGA+ PGF_{2 α} (Tabla 1). Esta diferencia puede ser explicada por el lento metabolismo de los progestágenos, en comparación a la progesterona natural (Swelum y col., 2015), y la efectiva acción de la PGF_{2 α} sobre un cuerpo lúteo maduro, con una gran cantidad de receptores (Fierro y col., 2017). Por su parte, la aplicación de GnRH días antes de administrar PGF_{2 α} , no mostró ninguna alteración en el tiempo de aparición del estro. Esto puede ser debido a que el GnRH se aplicó a la mitad de la fase lútea, que es cuando el cuerpo lúteo alcanza concentraciones altas de progesterona, evitando con ello que la GnRH tenga efecto completo sobre la secreción de gonadotropinas, sin alcanzar a luteinizar u ovular un folículo dominante (Titi y col., 2010).

El pulso pre-ovulatorio de LH, en sus variables de inicio, amplitud y duración, no se afectó por comenzar los diferentes tratamientos a mitad de la fase lútea (Tabla 2). Skinner y col. (2000) observaron que una mayor concentración y duración de P₄ durante la fase lútea,

retrasa el inicio del pulso pre-ovulatorio de LH, durante un periodo de muestreo de 40 h, después de retiradas las esponjas, siendo este efecto dependiente de la dosis. Para el presente experimento, el inicio de la elevación del pulso pre-ovulatorio de LH no fue diferente entre tratamientos (Tabla 2), por lo que es posible que la concentración de P₄ durante la fase lútea, no difiriera lo suficiente para causar un efecto en esta variable, lo que explicaría la ausencia de diferencias entre ellos. En relación con la amplitud y duración, los resultados de este trabajo coinciden con los de Skinner y col. (2000), quienes demostraron que diferentes concentraciones de P₄ en la fase lútea anterior al estro, no afecta la amplitud y duración del pulso pre-ovulatorio de LH.

La diferencia de concentraciones de progesterona posteriores al estro, siendo mayores para el grupo GP, en comparación a los grupos P y FP (Figura 3), podría deberse al grado de madurez del folículo pre-ovulatorio, al momento de la aplicación de PGF_{2 α} , y con ello un mayor grado de hipertrofia o luteinización en las células de la granulosa que rodean al antrum folicular después de la ovulación (Sangha y col., 2002). En este sentido, la aplicación de GnRH a la mitad de la fase lútea, puede provocar un aumento en el crecimiento y desarrollo de las células foliculares, propiciando que en la subsecuente ovulación y formación del nuevo cuerpo lúteo haya un aumento en la concentración de P₄, después del estro sincro-



■ **Figura 3.** Concentraciones plasmáticas post-estro de P₄. Grupo P, aplicación de 125 µg Cloprostenol (testigo); Grupo FP, 20 mg de FGA por 5 d; Grupo GP, 50 µg de GnRH 7 d después 125 µg de cloprostenol. **Figure 3.** Concentrations of post-estrous plasma P₄. P Group, application of 125 µg cloprostenol (Control); FP Group, 20 mg of FGA for 5 d; GP Group, 50 µg g of GnRH 7 d after 125 µg of cloprostenol.

nizado, como consecuencia de un mayor número y desarrollo de células luteales.

Es reconocido el papel que tiene la LH, en la luteinización de las células de la granulosa y vascularidad sanguínea, transporte de oxígeno, nutrientes y hormonas, así como varios factores (Sangha y col., 2002), lo que podría influir en su posterior producción de P₄. Sin embargo, en este experimento no existieron diferencias en la amplitud o duración del pulso preovulatorio, que pueda sostener esta idea (Tabla 2).

Se podría esperar que las altas concentraciones de P₄, después del estro, como las observadas para el grupo GP, influyeran en una mayor tasa de gestación en comparación a los grupos P y FP, pero en este trabajo no existió diferencia entre tratamientos para dicha variable, resultado similar a lo reportado por Miranda y col. (2018). Al parecer, en el presente estudio, los diferentes protocolos de sincronización de estros fueron capaces de generar cuerpos lúteos con la suficiente producción de P₄, para permitir la implantación y desarrollo embrionario, lo que puede atribuirse al momento en el que se iniciaron los protocolos de sincronización de estro que, en este caso,

fue a mitad de la fase lútea, cuando las concentraciones de P₄ son altas, lo que permite el desarrollo de un folículo adecuado para su ovulación y subsecuente formación del cuerpo lúteo (Johnson y col., 1996).

En lo que respecta al parto, no existió diferencia entre grupos (Tabla 2), sin embargo, en el grupo GP ninguna oveja perdió su gestación, lo cual podría estar influenciado por las altas concentraciones de P₄ registradas para este grupo, coincidiendo con lo reportado por de-Brun y col. (2016), quienes observaron que, las ovejas que tuvieron más altas concentraciones de P₄ mantuvieron su gestación hasta el parto, sugiriendo que el medio endocrino entre los d 7 a 18, condiciona el desarrollo del producto, guiando a la pérdida de la preñez después del d 18.

En este estudio, la variable de prolificidad no fue afectada, lo cual es un resultado esperado, debido a que no se utilizó algún fármaco que estimulara el crecimiento de varios folículos, tales como gonadotropina coriónica equina u hormona folículo estimulante de origen porcino (Hasani y col., 2018; Kraisoorn y col., 2018).

CONCLUSIONES

Los protocolos de P, FP y GP, iniciados durante la mitad de la fase lútea, fueron efectivos en sincronizar el estro en ovejas de pelo durante la época reproductiva, así como en una fertilidad aceptable con monta natural, considerando que, bajo las condiciones del presente estudio, los protocolos P y GP pueden ser una alternativa al uso de progestágenos. Por lo tanto, se recomienda usar protocolos basados en la aplicación de PGF_{2α}, debido a su facilidad de aplicación y aceptable fertilidad.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo al MVZ. Ramón Andrade Mancilla, por darnos las facilidades para trabajar con sus animales, para la realización del presente experimento. También agradecemos al laboratorio de reproducción del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, departamento de Biología de la Reproducción, por el apoyo en el proceso, manejo y determinación de hormonas proteínicas y esteroidales.

REFERENCIAS

- Abecia, J. A. A., Forcada, F., and González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 130(3-4):173-179.
- Almadaly, E., Ashour, M., El-Kon, I., Heleil, B., and Fatouh, E. S. (2016). Efficacy of various synchronization protocols on the estrus behavior, lambing rate and prolificacy in rahmani egyptian ewes during the non-breeding season. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 11(1):34-43.
- Bartlewski, P. M., Sohal, J., Paravinja, V., Baby, T., Oliveira, M. E. F., Murawski, M., ..., and Keisler, D. H. (2017). Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep? *Domestic Animal Endocrinology*. 58: 30-38.
- de-Brun, V., Meikle, A., Fernández-Foren, A., Forcada, F., Palacín, I., Menchaca, A., ..., and Abecia, J. A. (2016). Failure to establish and maintain a pregnancy in undernourished recipient ewes is associated with a poor endocrine milieu in the early luteal phase. *Animal Reproduction Science*. 173: 80-86.
- Delgadillo, J. A. and Martin, G. B. (2015). Alternative methods for control of reproduction in small ruminants: A focus on the needs of grazing industries. *Animal Frontiers*. 5(1): 57-65.
- Fierro, S., Gil, J., Viñoles, C., and Olivera-Muzante, J. (2013). The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology*. 79(3):399-408.
- Fierro, S., Viñoles, C., and Olivera-Muzante, J. (2017). Long term prostaglandin based-protocols improve the reproductive performance after timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*. 90:109-113.
- Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., ..., and Janett, F. (2012). Comparison of 6-day progestagen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research*. 107(2):141-146.
- García, E. (2004). *Modificaciones al sistema de clasificación climatólogica de Köppen*. Instituto de Geografía. México: Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. 68 Pp.
- Hasani, N., Ebrahimi, M., Ghasemi-Panahi, B., and Hosseini-Khani, A. (2018). Evaluating reproductive performance of three estrus synchronization protocols in Ghezel ewes. *Theriogenology*. 122:9-13.
- Hashem, N. M., El-Azrak, K. M., Nour-El-Din, A. N. M., Taha, T. A., and Salem, M. H. (2015). Effect of GnRH treatment on ovarian activity and reproductive performance of low-prolific Rahmani ewes. *Theriogenology*. 83(2):192-198.
- Johnson, S. K., Dailey, R. A., Inskeep, E. K., and Lewis, P. E. (1996). Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*. 13(1):69-79.
- Karaca, F., Ataman, M. B., and Çoyan, K. (2009). Synchronization of estrus with short- and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. *Small Ruminant Research*. 81(2-3):185-188.
- Kraisoon, A., Redmer, D. A., Bass, C. S., Navanukraw, C., Dorsam, S. T., Valkov, V., ..., and Grazul-Bilska, A. T. (2018). Corpora lutea in superovulated ewes fed different planes of nutrition. *Domestic Animal Endocrinology*. 62:16-23.
- Littell, R. C., Henry, P. R., and Ammerman, C. B. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science*. 76(4):1216-1231.
- Manes, J., Ríos, G., Fiorentino, M. A., and Ungerfeld, R. (2016). Vaginal mucus from ewes treated with progestogen

- sponges affects quality of ram spermatozoa. *Theriogenology*. 85(5): 856-861.
- Martinez-Ros, P., Astiz, S., Garcia-Rosello, E., Rios-Abellan, A., and Gonzalez-Bulnes, A. (2018). Effects of short-term intravaginal progestagens on the onset and features of estrus, preovulatory LH surge and ovulation in sheep. *Animal Reproduction Science*. 197: 317-323.
- Martinez, M. F., McLeod, B., Tattersfield, G., Smaill, B., Quirke, L. D., and Juengel, J. L. (2015). Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy in adult ewes and ewe lambs out of the breeding season using a GnRH+ progesterone oestrus synchronisation protocol. *Animal Reproduction Science*. 155: 28-35.
- Mattioli, M., Conte, F., Galeati, G., and Seren, E. (1986). Effect of naloxone on plasma concentrations of prolactin and LH in lactating sows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 76(1): 167-73.
- Miranda, V. O., Oliveira, F. C., Dias, J. H., Vargas-Júnior, S. F., Goularte, K. L., Sá Filho, M. F., ..., and Gasperin, B. G. (2018). Estrus resynchronization in ewes with unknown pregnancy status. *Theriogenology*. 106: 103-107.
- Molina-Mendoza, P., Sánchez-Torres-Esqueda, T., García-Flores, E. O., Martínez-García, A., Cárdenas-León, M., Peralta-Ortiz, J., ..., and Ortega-Cerrilla, M. E. (2005). Manipulation of corpus luteum presence at estrus synchronization in Dorset ewes. *Agrociencia*. 39(1): 11-18.
- Niswender, G. D., Reichert, L. E., Midgley, A. R., and Nalbandov, A. V. (1969). Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormone. *Endocrinology*. 84(5): 1166-1173.
- NOM-051-ZOO-1995 (1995). Trato humanitario en la movilización de animales. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, en *Diario Oficial de la Federación*. [En línea]. Disponible en: http://www.omecega.org.mx/uploads/1/6/5/2/16526694/nom-051-zoo-1995_trato_humanitario_en_la_movilizacio%CC%81n_animal.pdf. Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2017.
- NOM-062-ZOO-1999 (1999). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, en *Diario Oficial de la Federación*. [En línea]. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=762506&fecha=22/08/2001. Fecha de consulta: 5 de noviembre de 2017.
- Rekik, M., Haile, A., Abebe, A., Muluneh, D., Goshme, S., Ben-Salem, I., ..., and Rischkowsky, B. (2016). GnRH and prostaglandin-based synchronization protocols as alternatives to progestogen-based treatments in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*. 51(6): 924-929.
- Russel, A. J. F., Doney, J. M., and Gunn, R. G. (1969). Subjective assessment of body fat in live sheep. *The Journal of Agricultural Science*. 72(03): 451-454.
- Sangha, G. K., Sharma, R. K., and Guraya, S. S. (2002). Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 43(1): 53-64.
- SAS, Statistical Modeling Software (2008). *User's Guide: Statistics*. USA: Cary, NC, USA Inst. Inc. [En línea]. Disponible en: <https://support.sas.com/documentation/cdl/en/statugstatmodel/61751/PDF/default/statugstatmodel.pdf>. Fecha de consulta: 13 de noviembre de 2017.
- Simões, L. M. S., Orlandi, R. E., Massoneto, J. P. M., Scanduzzi, L. A., Freitas, B. G., Bastos, M. R., ..., and Sales, J. N. S. (2018). Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled Bos indicus cows. *Theriogenology*. 116: 28-33.
- Skinner, D. C., Harris, T. G., and Evans, N. P. (2000). Duration and amplitude of the luteal phase progesterone increment times the estradiol-induced luteinizing hormone surge in ewes. *Biology of Reproduction*. 63(4): 1135-1142.
- Swelum, A. A. A., Alowaimer, A. N., and Abouheif, M. A. (2015). Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology*. 84(4): 498-503.
- Swelum, A. A. A., Saadeldin, I. M., Moumen, A. F., Ali, M. A., and Alowaimer, A. N. (2018). Efficacy of controlled internal drug release (CIDR) treatment durations on the reproductive performance, hormone profiles, and economic profit of Awassi ewes. *Small Ruminant Research*. 166: 47-52.
- Titi, H. H., Kridli, R. T., and Alnimer, M. A. (2010). Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GnRH, Progestagen and prostaglandin F2 α . *Reproduction in Domestic Animals*. 45(4): 594-599.
- Ungerfeld, R. and Sanchez-Davila, F. (2012). Oestrus synchronization in postpartum autumn-lambing ewes: effect of postpartum time, parity, and early weaning. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 10(1): 62-68.
- Van-Cleeff, J., Karsch, F., and Padmanabhan, V. (1998). Characterization of endocrine events during the periestrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) Device. *Domestic Animal Endocrinology*. 15(1): 23-34.
- Wang, L. A. and Goonewardene, Z. (2004). The use of MIXED models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. *Canadian Journal of Animal Science*. 84(1): 1-11.