



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

APLICACIÓN ESTRATÉGICA DE PROGESTERONA EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELOS CON ESPONJAS INTRAVAGINALES EN OVEJAS CRIOLLAS

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

CHRISTIAN GARCÍA RAMÍREZ

Bajo la supervisión de: RAYMUNDO RANGEL SANTOS, Ph.D.



Abril 2010

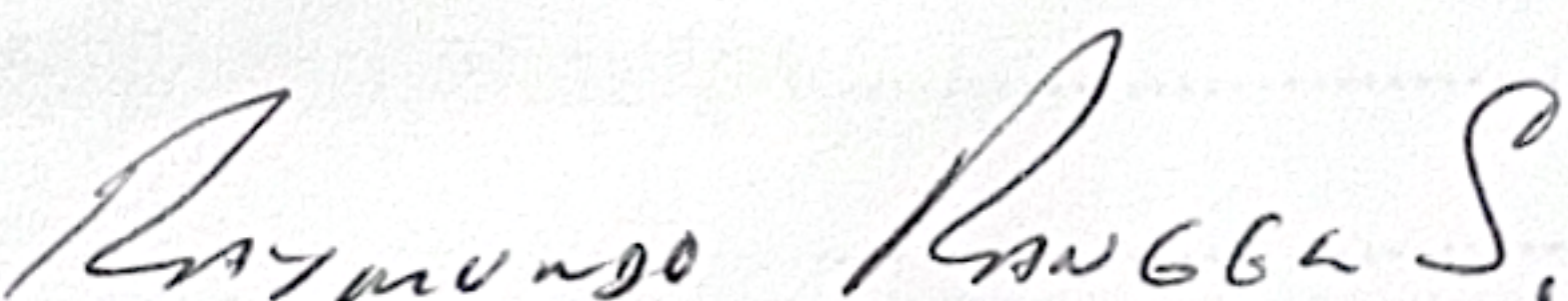
Chapingo, Estado de México

APLICACIÓN ESTRATÉGICA DE PROGESTERONA EN LA
SINCRONIZACIÓN DE CELOS CON ESPONJAS INTRAVAGINALES EN
OVEJAS CRIOLLAS

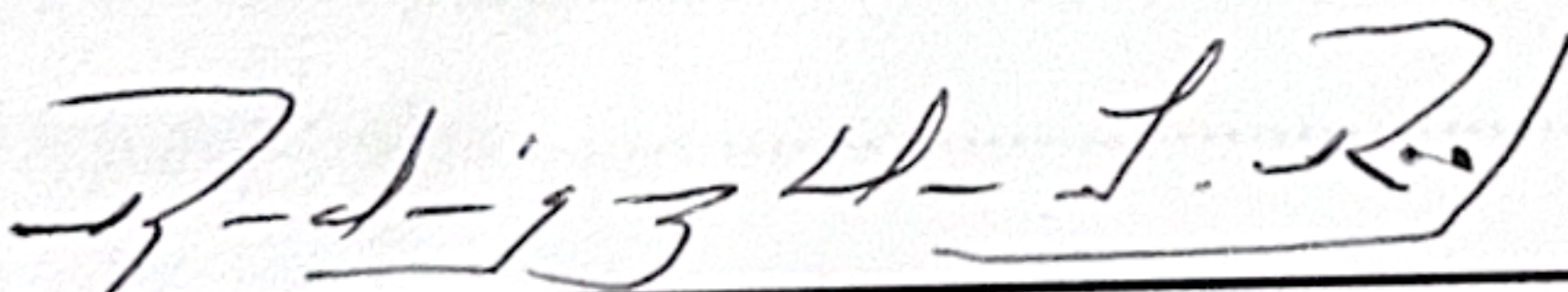
Tesis realizada por **CHRISTIAN GARCÍA RAMÍREZ** bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

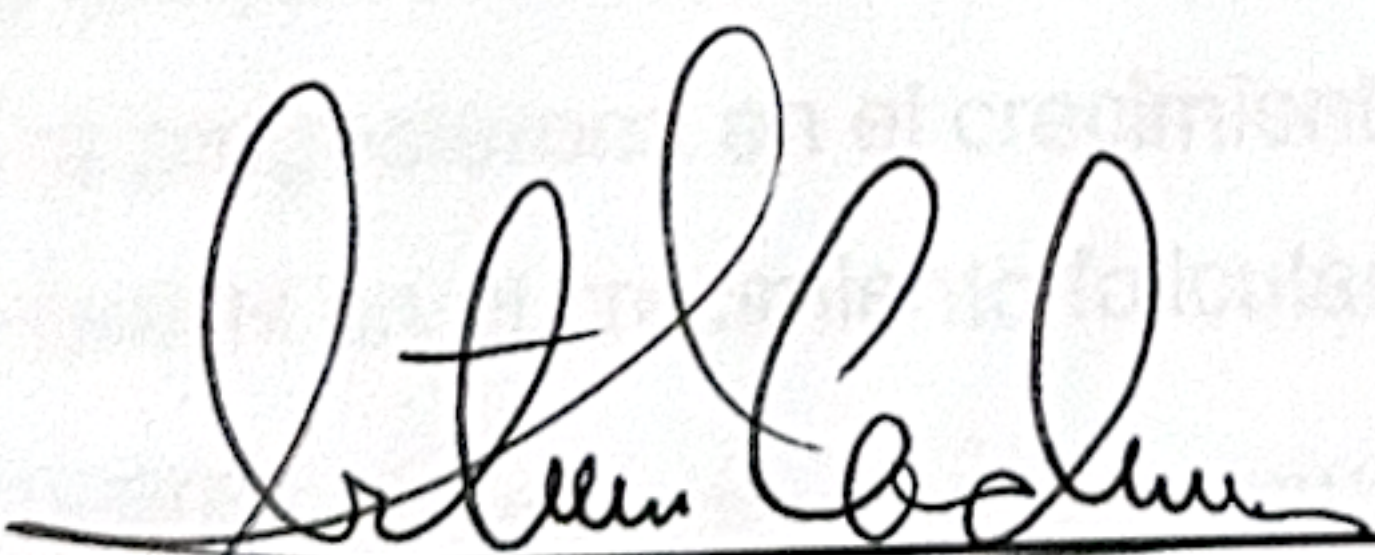
DIRECTOR:


Ph.D. RAYMUNDO RANGEL SANTOS

ASESOR:


Ph.D. RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA

ASESOR:


Dr. JOSÉ ARTEMIO CADENA MENESES

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
DEDICATORIAS	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	ix
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Generalidades.....	3
2.1.1 Factores que afectan la dinámica folicular	5
2.1.2 Ultrasonografía aplicada al estudio de la dinámica folicular	6
2.2 Sincronización de celos	7
2.2.1 Métodos de sincronización	8
Método natural	8
<i>Efecto macho</i>	8
Método farmacológico.....	9
<i>Progesterona y progestágenos</i>	9
2.2.2 Vías de aplicación y agentes de sincronización	10
Dispositivos intravaginales.....	10
Implantes	11
Prostaglandinas	12
2.3 Factores que afectan el crecimiento folicular	13
2.3.1 Efecto de la progesterona en el crecimiento folicular	13
2.3.2 Efecto de GnRH en el crecimiento folicular	14
Hormona luteinizante	14
Hormona folículo estimulante.....	15
2.3.3 Efecto del estradiol en el crecimiento folicular	16

2.4	Literatura citada	18
3.	APLICACIÓN ESTRATÉGICA DE PROGESTERONA EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELOS CON ESPONJAS INTRAVAGINALES EN OVEJAS CRIOLLAS	24
3.1	Resumen.....	24
3.2	<i>Abstract</i>	25
3.3	Introducción	26
3.4	Materiales y métodos	26
3.4.1	Localización.....	26
3.4.2	Tratamientos y diseño experimental	27
3.4.3	Análisis estadístico	28
3.5	Resultados y discusión	28
3.5.1	Incidencia de celos	28
3.5.2	Inicio del celo.....	29
3.5.3	Dinámica folicular	31
3.5.4	Porcentaje de gestación y prolificidad	35
3.6	Concentración de progesterona.....	38
3.7	Conclusiones	39
3.8	Literatura citada	40

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Efecto ^z del tratamiento en el porcentaje e inicio del celo ($\bar{x} \pm$ error estándar) de ovejas Criollas sincronizadas.....	29
Cuadro 2. Medias ^z ($\pm$ error estándar) para el número de folículos ≥ 2 mm de diámetro en la hora cero, 24 y 48 h después en ovejas Criollas sincronizadas.	32
Cuadro 3. Medias ^z ($\pm$ error estándar) para el diámetro folicular en la hora cero, 24 y 48 h después en ovejas Criollas sincronizadas.....	33
Cuadro 4. Medias ^z ($\pm$ error estándar) para el diámetro del folículo más grande en la hora cero, 24 y 48 h después en ovejas Criollas.	34
Cuadro 5. Efecto ^z del tratamiento en el porcentaje de gestación, prolificidad ($\bar{x} \pm$ error estándar) y sexo de las crías de ovejas Criollas sincronizadas.....	36
Cuadro 6. Concentración ^z de progesterona ($\bar{x} \pm$ error estándar) 12 días después de la inseminación de ovejas Criollas gestantes y vacías por tratamiento.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Hora de inicio de celos de ovejas Criollas sincronizadas con esponjas intravaginales. Tratamiento Testigo; T P ₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P ₄ el día 10; T P ₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P ₄ el día 11; y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10.	31
---	----

DEDICATORIAS

Dedicado:

A mí madre Elena Ramírez García por su gran amor y apoyo incondicional.

A la memoria de mi padre Crescenciano García Martínez.

Al amor de mi vida Nadja Thürbeck por alegrar mis días.

A mi hermana Anahí por sus consejos.

A mi hermana Areli y a su esposo Juan por sus consejos y todo su apoyo.

A mis sobrinos Mitzio y Obed por compartir ratos de diversión conmigo.

A mi tía Esperanza Ramírez García.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco:

A la Universidad Autónoma Chapingo por las facilidades otorgadas para realizar mis estudios de Maestría.

Al Posgrado en Producción Animal por la formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para realizar mis estudios de Maestría.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para concluir con mis estudios de Maestría.

Al Ph.D. Raymundo Rangel Santos por su amistad, consejos y apoyo durante mis estudios.

Al Ph.D Raymundo Rodríguez, Dr. José A. Cadena y Ph.D. Rufino López por su colaboración en la realización de la presente tesis.

A mis amigos Adán Hernández Argüello y José Manuel Hernández por sus consejos y por su apoyo en la fase experimental de la presente investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre:	Christian García Ramírez
Fecha de nacimiento:	14 de enero de 1984
Lugar de nacimiento:	Iguala de la Independencia, Guerrero
Cartilla militar:	7737717
Profesión:	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia
Cédula profesional:	5944247

Desarrollo académico

1999-2002	Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 194
2002-2007	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia Departamento de Zootecnia Universidad Autónoma Chapingo
2008-2009	Maestro en Ciencias en Innovación Ganadera Posgrado en Producción Animal Departamento de Zootecnia Universidad Autónoma Chapingo

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La oveja Criolla es una reserva genética para realizar cruzas con otras razas, ya que resiste a enfermedades y se adapta a medios extremos. Su eficiencia reproductiva se puede mejorar utilizando métodos que controlen la interacción hormonal que sucede en el ciclo estral. Un método es la sincronización de celos, el cual permite el manejo eficiente de la monta, aprovechar la disponibilidad de forraje, recursos de mano de obra o la demanda del mercado, así como el desarrollo e implementación de procedimientos de inseminación artificial y de transferencia de embriones (Godfrey *et al.*, 1997). La sincronización de celos se puede realizar utilizando progesterona (P_4) o progestágenos, los cuales actúan en el hipotálamo causando un bloqueo de la secreción de la hormona luteinizante (LH), retrasando la maduración folicular.

La concentración de P_4 durante la sincronización del celo puede influir en el desarrollo folicular (Johnson *et al.*, 1996); niveles subluteales de P_4 promueven el crecimiento y persistencia de un folículo dominante (Viñoles *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2001), incrementando su edad y retrasando la ovulación (Johnson *et al.*, 1996), lo que se manifiesta en baja fertilidad de la oveja (Viñoles *et al.*, 1999). En contraste, el suplemento con P_4 al final de la sincronización de celos con dispositivos intravaginales, aumenta el desempeño reproductivo en ovejas (Husein y Abadneh, 2008). La P_4 induce regresión del folículo dominante, y emergencia y ovulación de un nuevo folículo (Anderson y Day, 1994; McDowell *et al.*, 1998). El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de utilizar P_4 uno o dos días antes de terminar el protocolo de sincronización de celos con esponjas intravaginales, en la incidencia de celos y fertilidad de ovejas Criollas.

En el Capítulo 2 se presenta una revisión de literatura de los temas concernientes a la presente investigación, en el tema 2.1 se describen algunas generalidades del desarrollo folicular de la oveja, así como los factores que afectan la dinámica folicular y la importancia de la aplicación de la ultrasonografía en el estudio de la dinámica folicular de la oveja. En el tema 2.2 se menciona acerca de la sincronización de celos, su uso potencial, los métodos de sincronización, naturales como el efecto macho y farmacológicos aplicando P_4 o progestágenos; también se describen las vías de aplicación y agentes de sincronización como dispositivos intravaginales, implantes y prostaglandinas. En la parte final de la revisión de literatura (tema 2.3) se describe el efecto que tiene la P_4 , la gonadotropina coriónica equina (eCG) y el estradiol (E_2) en el crecimiento folicular.

El presente documento integra un artículo científico (Capítulo 3) el cual describe los antecedentes y procesos que se siguieron para obtener los resultados de la presente investigación, así como las explicaciones a los fenómenos ocurridos y la conclusión de la investigación.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades

El crecimiento folicular y luteal, su diferenciación y la secreción de hormonas ováricas esteroidales e inhibina se estimulan principalmente por las hormonas gonadotrópicas hormona folículo estimulante (FSH) y LH, siendo estos factores endócrinos los que regulan la función de los ovarios, al actuar en sus estructuras blanco. La acción hormonal es medida por el tipo y número de receptores específicos que actúan en los folículos y hacen que éstos se desarrollen. El estímulo de las gonadotropinas en los folículos depende de la etapa en que se encuentren, el inicio y crecimiento folicular dependen de cambios internos (Fortune *et al.*, 2004).

El ovario contiene un depósito de folículos primordiales reduciéndose de forma gradual y regular, dejando la fosa donde se localizan quiescentes y comienzan su crecimiento, el cual depende de cambios en el balance de factores internos (inhibitorios, estimulatorios o permisivos) de cada folículo (Fortune *et al.*, 2004). La foliculogénesis inicia con la selección de folículos primordiales de la fosa, siguiendo una irreversible fase de crecimiento del ovocito, proliferación de células de la granulosa y diferenciación de células de la teca. Los folículos preantrales resultantes son altamente receptivos a la FSH y son inducidos a diferenciar la fase preovulatoria. Los folículos preovulatorios son caracterizados por el incremento en la capacidad de sintetizar altos niveles de E_2 , por la aromatización de andrógenos derivados de las células de la teca, la formación de un antro grande lleno de fluido y la adquisición de receptores de LH (Couse *et al.*, 2005). El ovario de la oveja adulta (dependiendo de la raza) tiene entre 12,000 y 86,000 folículos primordiales y entre 100 y 400 folículos en crecimiento y sólo de 10 a 40 se visualizan en la superficie ovárica (Rubianes, 2000).

El desarrollo folicular en la oveja ocurre en ondas, predominado dos a tres por ciclo estral, cuando se presentan dos ondas foliculares el número de folículos

pequeños, medianos y grandes de la primera onda se presentan en el día 4, 5 y 8, y en la segunda onda los días 10, 12 y 16, respectivamente. Existiendo un progresivo crecimiento folicular de una clase de tamaño a otro en el número de días en una onda de desarrollo (Evans *et al.*, 2000).

Las ondas foliculares se presentan en un rango de dos a cinco en cada ciclo estral, prevaleciendo tres ondas que emergen los días 0, 6 y 11 del ciclo, también se ha encontrado una cuarta onda el día 14. En las ondas foliculares, se ha observado normalmente que el folículo mayor de la onda 1 es más grande que el mayor de la onda 2; el crecimiento desde el día de emergencia (primer día con un diámetro de 3 mm) al día de mayor diámetro es aproximadamente 1 mm por día; dependiendo de la raza, en promedio de 1.2 a 1.5 folículos alcanzan 5 ó más mm de diámetro en cada onda; el intervalo entre la onda 1 y 2 es más largo que entre la onda 2 y 3; los folículos menores a 3 mm de diámetro emergen y regresionan de forma más continua (Rubianes, 2000).

La dominancia folicular en la vaca dentro de una onda tiene dos fenómenos, la diferencia en el crecimiento del folículo mayor y el segundo mayor, y la disminución del número de folículos pequeños asociada con el crecimiento del folículo mayor (Rubianes, 2000). En la oveja también ocurre la dominancia folicular en la fase luteal temprana, observando la diferencia entre el crecimiento del folículo dominante y el subordinado (segundo más grande) durante la onda 1. Además, el número de folículos mayores de 2 mm de diámetro emergen y regresionan, manteniéndose bajos durante la fase de crecimiento del folículo dominante (Viñoles *et al.*, 1999). Rubianes (2000) menciona que en tratamientos de superovulación el número de ovulaciones es mayor cuando se aplica FSH en ausencia de un folículo dominante.

2.1.1 Factores que afectan la dinámica folicular

La aptitud reproductiva de la hembra depende del desarrollo posnatal de los ovarios y las fluctuaciones en la concentración hormonal de FSH y LH en ese período, debido a que el crecimiento, la maduración folicular y la esteroidogénesis en el ovario, dependen de dichas hormonas. La elevación temprana de FSH y LH del nacimiento a las 10 semanas de edad en ovejas Ouled Djellel es más correlacionada con un incremento en el peso ovárico y número de folículos antrales menores a 3 mm de diámetro, que al aumento de folículos mayores de 3 mm de diámetro. A partir de las 10 semanas de edad se incrementa el número de folículos mayores a 3 mm de diámetro y disminuyen los menores a 3 mm (Mahdi y Khallili, 2008).

En ovejas, el segundo pico de FSH y LH se presenta a las 18 semanas de edad, correlacionándose con un aumento en el número de folículos ≥ 3 mm y diámetro máximo, debido a un incremento en la frecuencia de pulsos de LH y al crecimiento de folículos de 4 mm de diámetro. El tercer pico de LH y una pequeña elevación de FSH se correlaciona con el acrecentamiento en número, tamaño total y máximo diámetro del folículo a las 24 semanas de edad. El aumento puede estar estimulado por una elevación en la frecuencia de pulsos de LH antes de la primera ovulación. En ovejas Ouled Djellel ocurren de dos a tres picos de FSH y LH en plasma antes de entrar a la pubertad y de que ocurra la primera ovulación, la cual se presenta alrededor de 24 a 26 semanas de edad. El incremento en el número y tamaño de los folículos generalmente ha sido relacionado con las concentraciones de FSH y LH en plasma (Mahdi y Khallili, 2008).

La aplicación de esponjas intravaginales impregnadas con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) no afectó las secreciones tónicas de LH/FSH o el desarrollo de la onda folicular (logrando folículos ≥ 5 mm de diámetro) en ovejas en anestro (Bartlewski *et al.*, 2004). En ovejas Suffolk cruzadas y Texel con un número alto de folículos (≥ 8) a principios del ciclo estral, tuvieron mejor

respuesta a tratamientos de superovulación, en base a formación de más cuerpos lúteos (CL), en comparación con ovejas con menos folículos (<8) (Mossa *et al.*, 2007). La restricción aguda de nutrientes (ayunos en horas) durante la fase luteal del ciclo estral, provocó cambios endocrinos que tuvieron influencia en el momento del pico de LH y probablemente la ovulación (Kiyama *et al.*, 2004), atrasando el desarrollo folicular y disminuyendo la secreción de E₂ (Alexander *et al.*, 2007).

2.1.2 Ultrasonografía aplicada al estudio de la dinámica folicular

Viñoles *et al.* (2004) mencionan que la ultrasonografía transrectal en la oveja con un transductor lineal (7.5 MHz), es un método preciso para determinar tamaño y número de CL, además de folículos ováricos, observaron en ovejas Corriedale un rango en diámetro folicular de 2 a 6 mm, la mayor parte eran de 2 mm, el rango en el número de folículos de 2 a 3 mm es utilizado para describir el reclutamiento folicular en la emergencia de la onda y su inhibición por el folículo dominante.

El uso de la ultrasonografía puede ser un instrumento para el estudio de la dinámica folicular. Se pueden determinar con alta precisión folículos ≥ 4 mm; sin embargo, la sensibilidad es baja para folículos con diámetro más pequeño (Viñoles *et al.*, 2004). La ultrasonografía transrectal permite diferenciar folículos e identificar sucesivos procesos foliculares. En ovejas Mouflon se observó por medio de ultrasonografía en los patrones de crecimiento folicular, que el folículo preovulatorio fue el más grande de los folículos en crecimiento en ambos ovarios cuando se indujo la luteólisis. También se determinó que el folículo preovulatorio seleccionado para crecer y ovular inhibe el crecimiento de otros folículos en crecimiento, marcando su diferencia en el diámetro folicular con respecto al segundo folículo más grande (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2001). Duggavathi *et al.* (2003) encontraron por medio de ultrasonografía 3.1 ± 0.3 ondas foliculares y 3.1 ± 0.3 picos de FSH por ciclo estral con una correlación

positiva ($r=0.77$). También mencionan que se reclutan 1 a 3 folículos en la emergencia de la onda folicular en ovejas Cara Blanca Occidental.

Barrett *et al.* (2004) al monitorear con ultrasonido ovarios de ovejas Cara Blanca Occidental en anestro, 10 días después de inducir el celo con esponjas intravaginales (60 mg de MAP) y eCG (500 UI), determinaron que el número de folículos por onda fue 3.3 ± 0.4 , 2.4 ± 0.4 y 1.6 ± 0.2 para la primera, segunda y tercera onda, respectivamente. También reportaron que el intervalo entre la remoción de la esponja y la emergencia de la onda folicular fue de 2.0 ± 0.4 , 5.7 ± 0.5 y 8.7 ± 0.5 días para la primera, segunda y tercera onda, respectivamente. El diámetro máximo del folículo más grande de la primera onda fue de 5.4 ± 0.1 mm. Sin embargo, cuando se repitió el mismo experimento pero en época reproductiva se encontró que el número de folículos en la primera onda fue de 2.0 ± 0.3 , el intervalo entre la remoción de la esponja y la emergencia de la primera onda folicular fue de 3.6 ± 0.4 días y el diámetro máximo del folículo más grande en la primera onda fue de 5.2 ± 0.1 mm.

En ovejas Cara Blanca Occidental en anestro, se determinó que la presencia de estructuras luteales acortaron la duración de folículos antrales emergentes (creciendo de 3 a ≥ 5 mm antes de la regresión). Sin embargo, en ovejas ciclando no fue modificada la duración de las fases de duración de folículos emergentes ni el número de ovulaciones por ovario (Bartlewski *et al.*, 2001).

2.2 Sincronización de celos

La utilización de la sincronización e inducción de celos permite reproducir las ovejas cuando existen variaciones estacionales, aprovechar la disponibilidad de forraje, recursos de mano de obra o la demanda del mercado, así como el desarrollo e implementación de procedimientos de inseminación artificial y de transferencia de embriones (Godfrey *et al.*, 1997). La inducción del celo se utiliza para lograr que las ovejas ciclen durante la época de anestro estacional (Córdova *et al.*, 1999), caracterizada por la disminución de la frecuencia de

pulsos de LH, ausencia de celo y ovulación (Goodman *et al.*, 1982). La sincronización de celos permite regular el tiempo de aparición del celo y estimar el tiempo de ovulación, y se puede lograr causando la lisis del cuerpo lúteo (CL) o controlando la concentración de P₄ endógena.

2.2.1 Métodos de sincronización

El fundamento de sincronizar celos es bloquear la liberación de GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas), para lo cual se aplica progesterona o algún progestágeno (análogo sintético de progesterona), estos actúan en el hipotálamo ejerciendo retroalimentación negativa en la secreción de FSH y LH, retrasando el crecimiento folicular. Al suspender la progesterona o el progestágeno, se reanuda la secreción de FSH y LH y por lo tanto el crecimiento folicular, la producción de 17- β estradiol, el celo y la ruptura del folículo. Otra forma de sincronizar celos es causar la lisis del CL con prostaglandinas.

Método natural

En la oveja el elemento principal de la regulación reproductiva natural es el fotoperíodo, en la época con días cortos la oveja comienza su actividad reproductiva y ésta se puede inducir (adelantar) o sincronizar de forma natural (efecto macho), siendo un método de bajo costo, sin embargo, los celos no se presentan homogéneamente.

Efecto macho

El efecto macho es un fenómeno de bioestimulación que consiste en aislar las ovejas del macho en la época de anestro estacional, y al reintroducir el macho, las ovejas responden exhibiendo celo en un periodo relativamente similar en el siguiente ciclo estral (Abecia *et al.*, 2002). La época de anestro estacional es caracterizada por el descenso de pulsos de LH sin oleadas preovulatorias de FSH y LH. El carnero estimula a la oveja por medio de feromonas, contacto

visual y conductas táctiles que actúan de forma sinérgica. La lana impregnada con el aceite secretado por la piel del macho es una fuente de feromonas, las cuales pueden estimular la frecuencia de pulsos de LH y la ovulación de ovejas en anestro. La mayoría de las ovejas ovula cuando se unen a machos que expresan mayor libido, en relación a las que se unen a machos con menor libido. Los pulsos de LH se incrementan en ovejas prepúberes en época de anestro al introducirles un macho (Ungerfeld, 2003). La exposición continua de machos inmediatamente después de remover la esponja, aceleró la aparición del celo y redujo la distribución de inicio, en un tratamiento de sincronización realizado durante la época reproductiva (Romano *et al.*, 2000).

El efecto macho acorta el intervalo de aparición de celo después de retirar la esponja intravaginal en época reproductiva (Underfeld y Rubianes, 1999). La exposición de machos vasectomizados a ovejas durante 17 días aumentó el número de animales gestantes al inicio de la época reproductiva (Kenyon *et al.*, 2008). Sin embargo, la unión de ovejas y carneros antes de la pubertad es insuficiente para mejorar el desempeño reproductivo de los carneros (Kridli y Al-Yacoub, 2006).

Método farmacológico

El uso de fármacos permite sincronizar e inducir celos en ovejas de manera más eficaz. Sin embargo, para su utilización se requiere de personal capacitado, elegir el fármaco más adecuado para la sincronización, además de que se elevan los costos.

Progesterona y progestágenos

La sincronización de celos se puede realizar utilizando P₄ o progestágenos usando diversas vías de aplicación (subcutánea, intramuscular, oral y tópica). La forma más usual es la aplicación de dispositivos intravaginales impregnados con MAP o FGA (acetato de fluorogestona) (Iida *et al.*, 2004). Hashemi *et al.* (2006) compararon tres tratamientos en ovejas Karakul; aplicación i.m. de 20

mg cada dos días de P₄ por 12 días más 500 UI de eCG el día 12; aplicación de un CIDR (dispositivo de liberación interna controlada) con 0.3 g de P₄ por 12 días más 500 UI eCG el día de la remoción del dispositivo y aplicación de una esponja intravaginal con 60 mg de MAP más 500 UI el día 12, encontrando que la incidencia de celos fue mayor con CIDR (93.3%) y con la esponja con MAP (100%) que con la aplicación de P₄ i.m. (80%). La hora de inicio de celos fue menor con CIDR (30.1±7.6) y con la esponja conteniendo MAP (29.6±5.6) que con la aplicación de P₄ (51.4±10). Los tratamientos de sincronización en ovejas Suffolk con P₄ (CIDR: 0.3 g; esponja intravaginal: 0.5 g) inducen el celo más rápido, en comparación con los que contienen progestágenos (esponjas con MAP: 60 mg; esponjas con FGA: 40 mg). El inicio del celo al utilizar CIDR fue 5 y 10 h más temprano que al usar esponjas con MAP o FGA (Fukui *et al.*, 1999).

2.2.2 Vías de aplicación y agentes de sincronización

Dispositivos intravaginales

Las esponjas intravaginales son ampliamente utilizadas para la sincronización e inducción de celos, son fabricadas de poliuretano con un hilo integrado para retirarlas y están impregnadas con algún progéstageno (FGA, MAP o cronolona) o P₄. La concentración del producto activo varía según el fabricante. La inserción de la esponja dentro de la vagina se realiza utilizando un aplicador compuesto de un tubo de plástico y un émbolo. La esponja se impregna de algún antibiótico tópico para evitar una infección vaginal, se coloca en la parte contraria al émbolo, se inserta el aplicador en la vagina, el cual previamente desinfectado y lubricado, y se presiona el émbolo para colocar la esponja en el fondo de la vagina, con el hilo fuera de ésta para facilitar su retiro. La esponja permanece insertada por 12 días simulando la fase lútea de la oveja, cuando se retira el dispositivo se libera la GnRH continuando con el ciclo.

Das *et al.* (2000) obtuvieron una mayor incidencia de celos ($p \leq 0.05$) en ovejas Merino cruzadas cuando se les insertó una esponja con 350 mg de P₄ por 12

días (75%), comparativamente con 300 mg (42%). En ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas en época de baja fertilidad, el 100% fueron detectadas en celo al utilizar esponjas con 65 mg de MAP por 12 días más la aplicación de 200 UI de eCG 48 h antes de la remoción de la esponja, al retiro o al momento en que el macho montó la oveja. Sin embargo, el porcentaje de gestación (80) fue mayor ($p \leq 0.05$) cuando la eCG se aplicó la momento de retirar la esponja (Martínez *et al.*, 2007). Zarkawi *et al.* (1999) cuando indujeron celos en ovejas Awassi con esponjas (60 mg de MAP) por 14 días más eCG (600 UI) al retirar la esponja, encontraron 82% de celos y 80% de pariciones. También encontraron 32.6% de celos y 32.6% de pariciones cuando sólo se insertó la esponja por 14 días. Fukui *et al.* (1999) no encontraron diferencia ($p \geq 0.05$) en el porcentaje de gestación, al sincronizar ovejas con esponjas conteniendo 60 mg de MAP (44.4%) o 40 mg de FGA (45.5%).

Implantes

La actividad reproductiva de la oveja se puede manipular por medio de implantes subcutáneos impregnados de algún progestágeno, insertados bajo la piel en el pabellón de la oreja. También se pueden utilizar implantes de melatonina en época de anestro para inducir celos. El fotoperiodo regula el comportamiento reproductivo de la oveja, la luz es captada por los ojos y traducida por la glándula pineal para secretar melatonina de forma rítmica. Ésta secreción hormonal se traduce en información lumínica al hipotálamo, para que se presenten las pulsaciones de la hormona liberadora de LH en la estación adecuada, manifestándose principalmente cuando los días son cortos (Recabarren *et al.*, 2000).

DeNicolo *et al.* (2008) encontraron que la incidencia de celos fue del 85.8% al utilizar un CIDR (0.3 g P_4) más eCG (600 UI) y 81.5% cuando se utilizó lo anterior más un implante de melatonina (18 mg), estos resultados fueron superiores ($p \leq 0.05$) a la utilización de un CIDR más un implante de melatonina (18 mg). El porcentaje de gestación que encontraron fue mayor (66.7%) cuando

aplicaron un CIDR (0.3 g P_4) más eCG (600 UI) más un implante de melatonina (18 mg) que al utilizar los demás tratamientos (46.6 y 42.9% para CIDR más eCG o CIDR más implante de melatonina). La respuesta inductiva completa de la actividad ovárica en las hembras, se logra cuando el tratamiento de melatonina se mantiene durante un período mayor a 40 días (Staples *et al.*, 1992). Los implantes de melatonina reduce la estacionalidad, mejoran la respuesta al efecto macho y la tasa de ovulación de las ovejas (Zúñiga *et al.*, 2002).

Prostaglandinas

El descubrimiento y la manipulación química de las prostaglandinas ha permitido la producción de formas análogas sintéticas de la hormona para inducir la regresión del CL y la manifestación de celo en la oveja (Urviola, 2005). La prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) es la principal hormona luteolítica, la cual es transportada por medio de un mecanismo de corriente negativa de la vena uterina a la arteria ovárica ipsilateral al ovario donde se localiza el CL.

La $PGF_{2\alpha}$ se produce en forma natural en las células endometriales y en el CL. La sensibilidad del CL a la $PGF_{2\alpha}$ depende de su estado de madurez, determinada por una vascularización desarrollada y la producción de P_4 superior a 1 ng mL^{-1} (Olivera *et al.*, 2007). El sistema vascular del CL desaparece durante la luteólisis, asociada con apoptosis de las células endoteliales del CL (Fraser y Wulff, 2003). La $PGF_{2\alpha}$ causa la luteólisis del CL por medio de la inhibición de la esteroidogénesis y la inducción de la apoptosis, por medio de la transmisión de señales en cadena involucrando la prolactina, el Factor de Necrosis Tumoral alfa, el interferón gamma y especies reactivas de oxígeno (Olivera *et al.*, 2007).

La aplicación de dos dosis de 15 mg de $PGF_{2\alpha}$ cada una con un intervalo de 10 días en un tratamiento de sincronización en ovejas St. Croix indujo celos en 2.9 ± 0.4 días (Godfrey *et al.*, 1997). Urviola *et al.* (2005) reportaron que la

aplicación de 0.175 mg i.m. de Tiaprost (análogo de $\text{PGF}_{2\alpha}$) en ovejas Corriedale el día cuatro del ciclo estral, indujo el celo más temprano ($p \leq 0.01$) ($34:28 \pm 4:26$ h) que al aplicar la prostaglandina el día 10 ($47:45 \pm 7:06$ h), con incidencia de celos del 100% en ambos tratamientos. Al sincronizar celos en ovejas de la raza Manchega aplicando dos dosis de 100 μg i.m. de cloprostenol (análogo de $\text{PGF}_{2\alpha}$) con un intervalo de 10 días, el 81.5% de las ovejas manifestó celo (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005).

2.3 Factores que afectan el crecimiento folicular

2.3.1 Efecto de la progesterona en el crecimiento folicular

La acción de las hormonas esteroideas sexuales se presenta al unirse con sus receptores intracelulares específicos, causando el efecto biológico y determinando el estado funcional del tracto genital (Vasconcellos *et al.*, 2005).

Los efectos fisiológicos de la P_4 incluyen diferenciación del endometrio, control de la implantación del embrión, maduración del epitelio mamario, modulación de los pulsos de GnRH y liberación del ovocito. La forma en que actúa la P_4 en los órganos blanco es modulada por receptores a nivel del núcleo, éstos comparten una base estructural similar y son ligando-activadores de factores de transcripción. Los receptores existen de dos isoformas la A y la B, expresadas por un simple gen. La P_4 una vez dentro de la célula blanco induce un cambio en la conformación de su receptor transformándolo de ADN no ligado (en su forma inactiva) a ligado a ADN, ésta transformación es acompañada por pérdida de calor asociada a las proteínas impactadas y a la dimerización. La activación del receptor de P_4 dimerizado liga secuencias específicas de ADN dentro de la región promotora de genes receptivos de P_4 , llamados elementos de respuesta de P_4 (Chabbert *et al.*, 2005).

En vacas, la atresia del folículo dominante se puede causar al elevar la concentración sistémica de P_4 por 24 h. Además, el uso de un progestágeno por 24 h puede regular el crecimiento y persistencia de folículos ováricos e

incrementar la fertilidad (McDowell *et al.*, 1998). El desarrollo de folículos ováricos es inhibido por la P_4 , existiendo una correlación negativa entre los niveles de P_4 en suero y la tasa de crecimiento folicular (Peluso *et al.*, 2006).

2.3.2 Efecto de GnRH en el crecimiento folicular

La GnRH es un dodecapéptido regulador del sistema reproductivo de los mamíferos (Kraus *et al.*, 2001), esta hormona modula la síntesis y secreción de FSH y LH de la adenohipófisis. Se sintetiza y almacena en el hipotálamo y proporciona un enlace entre el sistema neural y endocrino (Hafez y Hafez, 2000).

Hormona luteinizante

La LH es una glucoproteína compuesta por una subunidad alfa y una beta, sus niveles basales deben actuar conjuntamente con la FSH para inducir la producción de E_2 del folículo más grande. La ruptura de la pared del folículo y en consecuencia la ovulación es causada por el pico de LH. La concentración tónica de LH se muestra en rangos de cada hora aproximadamente, su pico induce las etapas finales de la maduración del ovocito a la metafase II, antes de la ovulación (Hafez y Hafez, 2000).

El pico preovulatorio de LH es evidente antes de la ovulación, el aumento de la concentración de E_2 circulante tiene un efecto de retroalimentación positiva en el hipotálamo, induciéndose un pico repentino de liberación de GnRH, acompañado por un pico preovulatorio de LH y FSH, Estos últimos picos duran 6 a 12 h y son responsables de la ovulación (Hafez y Hafez, 2000). La reducción de los pulsos de LH tiene como resultado un desarrollo folicular pobre y una disminución de la síntesis de E_2 , lo cual hace más débiles los mensajes endócrinos que inician el pico de LH teniendo un impacto negativo en la fertilidad (Dobson *et al.*, 1999).

Hormona folículo estimulante

La FSH es una glicoproteína secretada en pulsos desde los gonadotropos de la hipófisis. Se compone de dos subunidades alfa y beta. La alfa es similar a la de la LH, la gonadotropina coriónica humana y la hormona estimulante de la tiroides. La subunidad beta es distinta y es la que da la especificidad de acción biológica (Recabarren *et al.*, 2006). La FSH es la responsable del crecimiento y maduración folicular. Knights *et al.* (2000) encontraron en ovejas Suffolk y Dorset, que al aplicarles un CIDR por cinco días más 55 mg de FSH vía i.m. 24 h antes de retirar el dispositivo incrementó ($p=0.06$) la prolificidad, en relación a ovejas que recibieron sólo un CIDR por 5 días (1.67 ± 0.1 vs 1.50 ± 0.1).

La eCG es una hormona placentaria que se secreta en las copas endometriales del útero de la hembra equina, formadas a los 40 días de la gestación y permanecen hasta el día 85. La eCG es una glucoproteína con subunidades alfa y beta similares a las de la FSH y LH, pero posee mayor número de carbohidratos como el ácido siálico, el cual le confiere un efecto de duración más largo. Tiene efecto de FSH principalmente (LH en menor proporción) estimulando el desarrollo folicular. Los folículos que no ovulan se luteinizan por su acción de LH (Hafez y Hafez, 2000).

La eCG aumenta la tasa de ovulación de la oveja al reclutar folículos pequeños, por el incremento de la tasa de crecimiento de folículos antrales y por la modificación de las proporciones de tamaño del folículo en la fase de celo. La aplicación de 500 UI de eCG puede alterar el número de folículos preantrales, tamaño, capacidad esteroidogénica, características de crecimiento o patrones de reclutamiento. En ovejas Cara Blanca Occidental con anestro estacional tratadas con esponjas intravaginales (60 mg de MAP) por 12 días y aplicando 500 UI de eCG el día de la remoción de la esponja, la tasa de ovulación fue de 2.3 ± 0.3 y el intervalo del retiro de la esponja a la ovulación fue de 2.9 ± 0.1 . El grupo control (sólo esponja) no manifestó celo y el intervalo de retiro de la esponja a la ovulación fue de 4 días (Barrett *et al.*, 2004).

Uribe-Velázquez *et al.* (2008) encontraron en ovejas Bergamacia sincronizadas con un CIDR (0.3 g de P₄) por 14 días más la aplicación de 500 UI de eCG el día de retiro del dispositivo, que el 100% de los animales manifestaron celo y el intervalo del celo a la ovulación fue de 36±0.7 h.

2.3.3 Efecto del estradiol en el crecimiento folicular

Los estrógenos son producidos por las células de la granulosa del folículo, bajo el control de la FSH y LH. Los estrógenos tienen un papel esencial en la regulación de la maduración del folículo, el ovocito y su fertilización. También están involucrados en la preparación funcional del oviducto para la interacción de gametos, el medio donde ocurrirá el desarrollo embrionario y la preparación del útero para la implantación. Los estrógenos están involucrados en una serie de eventos claves en el proceso de maduración folicular. El incremento de estrógenos en suero durante la fase folicular ha sido asociado con el término de la maduración del folículo (Guo *et al.*, 2004).

En ovejas Corriedale en anestro, la aplicación vía intramuscular de E₂ (1 µg Kg⁻¹) indujo oleadas simultáneas de LH y FSH. Sin embargo, una segunda aplicación 24 h después no incrementó la sensibilidad de la hipófisis al E₂, hubo regresión del folículo más grande y la sincronización de una nueva onda folicular, además no se indujo la ovulación (Meikle *et al.*, 2001).

La reducción de la fertilidad por el incremento de la dominancia del folículo preovulatorio se puede deber a la prolongada fase de persistencia del folículo dominante y al aumento de la concentración de 17β-estradiol (Kinder *et al.*, 1996). En vacas, la aplicación de altos niveles de P₄ suprimen la secreción de 17β-estradiol disminuyendo la frecuencia de pulsos de LH, y la tasa de crecimiento y tamaño del folículo dominante es menor (Sanchez *et al.*, 1995). El porcentaje de gestación en vacas disminuye cuando la dominancia folicular se extiende hasta 9 días, pero esta disminución es más marcada cuando excede de los 9 días, la fertilidad es mayor cuando la dominancia folicular es menor de

5 días (Austin *et al.*, 1999). Los tratamientos con P_4 causan atresia del folículo dominante, elevando el índice de apoptosis de las células de la granulosa. Además, la actividad de la aromatasa se reduce, disminuyendo la producción de E_2 (Manikkam y Rajamahendran, 1997).

La muerte embrionaria temprana se asocia a concentraciones de E_2 prolongadas. Los mecanismos por los cuales los folículos persistentes y las altas concentraciones de E_2 reducen la fertilidad incluyen acciones que disminuyen la función luteal, acciones independientes de la función luteal o ambas. La baja fertilización se asocia con la ovulación de un folículo que inició con un ciclo estral con CL de vida corta, por su regresión prematura, resultando en la ovulación de un ovocito con un defecto inherente adquirido que impide su desarrollo oviductual y un ambiente uterino hostil para el desarrollo del embrión (Breuel *et al.*, 1993). En Ratas, las altas concentraciones de estrógenos pueden ser perjudiciales al alterar el ovocito preovulatorio y el ambiente intrauterino posovulatorio (Butcher y Pope, 1979).

2.4 Literatura citada

- Abecia, J. A., F. Forcada, and O. Zuñiga. 2002. A note on the effect of individual housing conditions on LH secretion in ewes after exposure to a ram. *Applied Animal Behaviour Science* 75: 347-352.
- Alexander, B. M., Z. Kiyama, M. McFarland, E. A. van Kirk, D. M. Hallford, D. E. Hawkins, K. K. Kaneb, and G. E. Moss. 2007. Influence of short-term fasting during the luteal phase of the estrous cycle on ovarian follicular development during the ensuing proestrus of ewes. *Animal Reproduction Science* 97: 356-363.
- Austin, E. J., M. Mihm, M. P. Ryan, D. H. Williams, and J. F. Roche. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility. *Journal of Animal Science* 77: 2219-2226.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 2001. Ultrasonographic study of the effects of the corpus luteum on antral follicular development in unilaterally ovulating Western White-Faced ewes. *Animal Reproduction Science* 65: 231-244.
- Bartlewski, P. M., J. Aravindakshan, A. P. Beard, M. L. Nelson, A. M. Batista, S. J. Cooka, and N. C. Rawlings. 2004. Effects of medroxyprogesterone acetate (MAP) on ovarian antral follicle development, gonadotrophin secretion and response to ovulation induction with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) in seasonally anoestrous ewes. *Animal Reproduction Science* 8: 63-75.
- Barrett, D. M. W., P. M. Bartlewski, M. A. Batista, A. Symington, and N. C. Rawlings. 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology* 61: 311-327.
- Breuel, K. F., P. E. Lewis, F. N. Schrick, A. W. Lishman, E. K. Inskeep, and R. L. Butcher. 1993. Factors affecting fertility in the postpartum cow: role of the oocyte and follicle in conception rate. *Biology of Reproduction* 48: 655-661.
- Butcher, R. L., and R. S. Pope. 1979. Role of estrogen during prolonged estrous cycles of the rat on subsequent embryonic death or development. *Biology of Reproduction* 21: 491-495.
- Chabbert, B. N., G. Meduri, P. Bouchard, and I. M. Spitz. 2005. Selective progesterone receptor modulators and progesterone antagonists: mechanisms of action and clinical applications. *Human Reproduction Update* 11(3): 293-307.
- Córdova I., A., G. Ruiz L., J. Saltijeral O., J. F. Pérez G., y T. Degefa, D. 1999. Inducción y sincronización de celos en ovejas Criollas anéstricas

- estacionales con esponjas vaginales impregnadas en FGA y PMSG inyectable. *Archivos de Zootecnia* 48: 437-440.
- Couse, J. F., M. M. Yates, B. J. Deroo, and K. S. Korach. 2005. Estrogen receptor- β is critical to granulosa cell differentiation and the ovulatory response to gonadotropins. *Endocrinology* 146(8): 3247-3262.
- Das, G. K., S. M. K. Naqvi, R. Gulyani, S. R. Pareek, and J. P. Mittal. 2000. Effect of two doses of progesterone on estrus response and fertility in acycling crossbred Bharat Merino ewes in a semi-arid tropical environment. *Small Ruminant Research* 37: 159-163.
- DeNicolo, G., S. T. Morris, P. R. Kenyon, P. C. H. Morel, and T. J. Parkinson. 2008. Melatonin-improved reproductive performance in sheep bred out of season. *Animal Reproduction Science* 109: 124-133.
- Dobson, H., J. E. Tebble, J. B. Phogat, and R. F. Smith. 1999. Effect of transport on pulsatile and surge secretion of LH in ewes in the breeding season. *Journal of Reproduction and Fertility* 116: 1-8.
- Duggavathi, R., P. M. Bartlewski, D. M. W. Barrett, and N. C. Rawlings. 2003. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology* 60: 495-510.
- Evans, A. C. O., P. Duffy, N. Hynes, and M. P. Boland. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 53: 699-715.
- Fortune, J. E., G. M. Rivera, and M. Y. Yang. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 109-126.
- Fraser, H. M., and C. Wulff. 2003. Angiogenesis in the corpus luteum. *Reproductive Biology and Endocrinology* 1: 88. <http://www.rbej.com/content/1/1/88>. Consultada el 10 de diciembre de 2009.
- Fortune, J. E., G. M. Rivera, and M. Y. Yang. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 109-126.
- Fukui, Y., D. Ishikawa, N. Ishida, M. Okada, R. Itagaki, and T. Ogiso. 1999. Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four different intravaginal devices during the breeding season. *Journal of Reproduction and Development* 45: 337-343.
- Godfrey, R. W., M. L. Gray, and J. R. Collins. 1997. A comparison of two methods of oestrous synchronisation of hair sheep in the tropics. *Animal Reproduction Science* 47: 99-106.

- Goodman, R. L., E. L. Bittman, 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. *Biology of Reproduction* 27: 580-589.
- Gonzalez-Bulnes, A., J. Santiago-Moreno, R. M. Garcia-Garcia, A. del Campo, A. Gómez-Brunet, and A. Lopez-Sebastian. 2001. Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrous cycle. *Animal Reproduction Science* 65: 265-272.
- Gonzalez-Bulnes, A., A. Veiga-Lopez, P. Garcia, R. M. Garcia-Garcia, C. Ariznavarreta, M. A. Sanchez, J. A. F. Tresguerres, M. J. Cocero, and J. M. Flores. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology* 63: 2523-2534.
- Guo, Y., Ken-jun Guo, L. Huang, Xiao-guang Tong, and X. Li. 2004. Effect of estrogen deprivation on follicle/oocyte maturation and embryo development in mice. *Chinese Medical Journal* 117: 498-502.
- Hafez, E. S. E., y B. Hafez. 2000. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 7ma. ed. McGraw-Hill Interamericana, México. 519 p.
- Iida, K., N. Kobayashi, H. Kohno, A. Miyamoto, and Y. Fukui. 2004. A comparative study of induction of estrus and ovulation by three different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. *Journal of Reproduction and Development* 50: 63-69.
- Kenyon, P. R., P. C. H. Morel, S. T. Morris, and D. M. West. 2008. A note on the effect of vasectomised rams and short-term exposures to entire rams prior to the breeding period on the reproductive performance of ewe lambs. *Applied Animal Behavior Science* 110: 397-403.
- Kinder, J. E., F. N. Kojima, E. G. Bergfeld, M. E. Wehrman, and K. E. Fike. 1996. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science* 74: 1424-1440.
- Kiyma, Z., B. M. Alexander, E. A. van Kirk, W. J. Murdoch, D. M. Hallford, and G. E. Moss. 2004. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *Journal of Animal Science* 82: 2548-2557.
- Knights, M., T. D. Maze, P. J. Bridges, P. E. Lewis, and E. K. Inskip. 2000. Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrus ewes. *Theriogenology* 55: 1181-1191.
- Kraus, S., Z. Naor, and R. Seger. 2001. Intracellular signaling pathways mediated by the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor. *Archives of Medical Research* 32: 499-509.

- Kridli, R. T., and A. N. Al-Yacoub. 2006. Sexual performance of Awassi ram lambs reared in different sex composition groups. *Applied Animal Behaviour Science* 96: 261-267.
- Mahdi, D., and K. Khallili. 2008. Relationship between follicle growth and circulating gonadotrophin levels during postnatal development of sheep. *Animal Reproduction Science* 106: 100-112.
- Manikkam, M., and R. Rajamahendran. 1997. Progesterone-induced atresia of the proestrous dominant follicle in the bovine ovary: changes in diameter, insulin-like growth factor system, aromatase activity, steroid hormones, and apoptotic index. *Biology of Reproduction* 57: 580-587.
- Martínez T., J., J. F. Izaguirre F., L. Sánchez O., C. G. García C., G. Martínez P., y G. Torres H. 2007. Comportamiento reproductivo de ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas con MPG y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. *FCV-LUZ XVII*(1): 47-52.
- McDowell, C. M., L. H. Anderson, J. E. Kinder, and M. L. Day. 1998. Duration of treatment with progesterone and regression of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science*. 76: 850-855.
- Meikle, A., M. Forsberg, E. G. Garófalo, M. A. Carlsson, N. Lundeheim, and E. Rubianes. 2001. Circulating gonadotrophins and follicular dynamics in anestrus ewes after treatment with estradiol-17 β . *Animal Reproduction Science* 67: 79-90.
- Mossa, F., P. Duffy, S. Naitana, P. Lonergan, and A. C. O. Evans. 2007. Association between numbers of ovarian follicles in the first follicle wave and superovulatory response in ewes. *Animal Reproduction Science* 100: 391-396.
- Olivera A, M., A. Tarazona M., T. Ruíz C., y C. Giraldo E. 2007. Vías implicadas en la luteólisis bovina. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 20: 387-393.
- Peluso, J. J. 2006. Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. *Biology of Reproduction* 75: 2-8.
- Recabarren, S. E., M. S. A. Lobos, C. Robinson, P. Orellana, y J. M. Parilo. 2000. Efecto de melatonina sobre la secreción pulsátil de hormona luteinizante y de hormona del crecimiento en borregos con restricción alimenticia. *Archivos de Medicina Veterinaria* 32: 147-156.
- Recabarren, S. E., P. Muñoz, A. Lobos, C. Vilches, and J. Parilo. 2006. Análogo de GnRH disminuye la secreción de hormona folículo estimulante (FSH) en ovejas prepúberes. *Archivos de Medicina Veterinaria* 38(1): 39-46.
- Romano, J. E., C. J. Christians, and B. G. Crabo. 2000. Continuous presence of rams hastens the onset of estrus in ewes synchronized during the breeding season. *Applied Animal Behaviour Science* 66: 65-70.

- 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.
- Sanchez, T., M. E. Wehrman, F. N. Kojima, A. S. Cupp, E. G. Bergfeld, K. E. Peters, V. Mariscal, R. J. Kitok, and J. E. Kinder. 1995. Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 β Estradiol in heifers. *Biology of Reproduction* 52: 46-469.
- Staples, L. D., S. McFhee, D. J. Kennaway, and A. Williams. 1992. The influence of exogenous melatonin on the seasonal patterns of ovulation and oestrous in sheep. *Animal Reproduction Science* 30: 185-223.
- Ungerfeld, R., and E. Rubianes. 1999. Estrus response to the ram effect in Corriedale ewes primed with medroxyprogesterone during the breeding season. *Small Ruminant Research* 32: 89-91.
- Ungerfeld, R. 2003. Reproductive responses of anestrous ewes to the introduction of rams. Doctoral Thesis. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 62 p.
- Uribe-Velásquez, L. F., M. I. Lênz S., y A. M. Loaiza E. 2008. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina- $F_{2\alpha}$ vs CIDR+500 UI de eCG en ovejas Bergamacia durante el inicio de la fase luteal. *FCV-LUZ XVIII(4)*: 368-373.
- Urviola S., M. V. Leyva V., H. Huamán U., y W. García V. 2005. Manipulación de la ovulación del folículo dominante con prostaglandina en diferentes estadios del ciclo estrual sobre las tasas reproductivas en ovinos Corriedale. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 16: 103-113.
- Vasconcellos C., A., N. Sepúlveda B., J. Castillo J., y C. Rosas C. 2005. Presencia de receptores de estrógenos y de progesterona en el endometrio de ovejas prepúberes, estudio inmunocitoquímico. *International Journal of Morphology* 23(4): 393-396.
- Viñoles, C., A. Meikle, M. Forsberg, and E. Rubianes. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351-1361.
- Viñoles, C., A. Meikle, and M. Forsberg. 2004. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. *Animal Reproduction Science* 80: 69-79.
- Zarkawi, M., M. R. Al-Merestani, and M. F. Wardeh. 1999. Induction of synchronized oestrous and early pregnancy diagnosis in Syrian Awassi ewes, outside the breeding season. *Small Ruminant Research* 33: 99-102.

Zúñiga, O., F. Forcada, and J. A. Abecia. 2002. The effect of melatonin implants on the response to the male effect and on the subsequent cyclicity of Rasa Aragonesa ewes implanted in April. *Animal Reproduction Science* 72: 165-174.

3. APLICACIÓN ESTRATÉGICA DE PROGESTERONA EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELOS CON ESPONJAS INTRAVAGINALES EN OVEJAS CRIOLLAS

3.1 Resumen

El objetivo fue determinar la dinámica folicular, la incidencia de celos y la fertilidad de ovejas Criollas, bajo un protocolo de sincronización de celos y aplicación de progesterona (P_4). Se utilizaron 75 ovejas Criollas sincronizadas con esponjas intravaginales por 12 días, distribuidas al azar a cuatro tratamientos: Testigo ($n=18$); T P_4 48 h, 25 mg de P_4 el día 10 ($n=19$); T P_4 24 h, 25 mg de P_4 el día 11 ($n=20$) y T eCG 48 h, 300 UI de eCG (gonadotropina coriónica equina) el día 10 ($n=18$). Se determinó con ultrasonido el número de folículos ≥ 2 mm de diámetro a la hora cero (considerada el día en que se aplicó P_4 o eCG en los tratamientos), y a las 24 y 48 h después. La inseminación fue por laparoscopia y el diagnóstico de gestación por ultrasonografía. Se determinó la concentración de P_4 en plasma 12 d posteriores a la inseminación. Hubo aumento ($p \leq 0.05$) del número de folículos en los tratamientos, excepto en el Testigo, de la hora cero a las 24 h. El diámetro folicular sólo se redujo ($p \leq 0.05$) en T P_4 48 h y T P_4 24 h a las 24 h después de la hora cero. El inicio del celo fue más tardío en T P_4 24 h ($p \leq 0.05$; 167.1 ± 11.0 h) comparativamente con los demás tratamientos. La concentración de P_4 fue mayor ($p \leq 0.05$) en ovejas gestantes que en vacías (10.15 ± 1.3 vs 5.32 ± 1.7 ng mL⁻¹). El porcentaje de gestación de T P_4 24 h fue superior ($p \leq 0.05$) al del Testigo (70.0 vs 33.3). La aplicación de P_4 al final de la sincronización de celos modificó la dinámica folicular, retrasó el inicio del celo y mejoró la fertilidad de ovejas Criollas.

Palabras clave: progesterona, esponja intravaginal, ovejas Criollas.

STRATEGIC APPLICATION OF PROGESTERONE IN THE SYNCHRONIZATION OF ESTRUS WITH INTRAVAGINAL SPONGES IN CREOLE EWES

3.2 Abstract

The objective was to determine the follicular dynamics, the incidence of estrus and the fertility of Creole ewes under an estrus protocol synchronization of estrus and the application of progesterone (P_4). Seventy-five Creole ewes were synchronized with intravaginal sponges for 12 days and were randomly distributed to one of four treatments: control group ($n=18$); T P_4 48 h, 25 mg of P_4 on day 10 ($n=19$); T P_4 24 h, 25 mg of P_4 on day 11 ($n=20$) and T eCG 48 h, 300 UI of eCG (equine chorionic gonadotropin) on day 10 ($n=18$). The number of follicles ≥ 2 mm in diameter was determined with ultrasound at zero hour (considered as the day when P_4 or eCG was applied), and 24 and 48 h after. The ewes were inseminated by laparoscopy and pregnancy was determined by ultrasound. The concentration of P_4 was determined in plasma 12 d after insemination. There was an increase ($p \leq 0.05$) in the number of follicles in the treatments, except for the control group from the zero hour to 24 h. The follicular diameter was reduced ($p \leq 0.05$) only in the treatments T P_4 48 h and T P_4 24 h at 24 h after the zero hour. The onset of estrus was delayed in T P_4 24 h ($p \leq 0.05$; 167.1 ± 11.0 h) compared with the other treatments. The P_4 concentration was higher ($p \leq 0.05$) in pregnant than non-pregnant ewes (10.15 ± 1.3 vs. 5.32 ± 1.7 ng mL^{-1}). The pregnancy rate of T P_4 24 h was higher ($p \leq 0.05$) in the control group (70.0 vs. 33.3%). The application of P_4 at the end of the estrus synchronization altered the follicular dynamics, delayed the onset of estrus and improved the fertility of Creole ewes.

Key words: progesterone, intravaginal sponge, Creole ewes.

3.3 Introducción

La oveja Criolla es descendiente de las razas Churra, Lacha y Manchega introducidas por los españoles a México durante los siglos XV al XVII (Ulloa-Arvizu *et al.*, 2009). El ovino Criollo es una reserva genética para realizar cruza con otras razas, ya que resiste a enfermedades y se adapta a medios extremos. La sincronización de celos en ovinos facilita el manejo eficiente de la monta en época reproductiva y la implementación de técnicas como la inseminación artificial y la transferencia de embriones. La sincronización se puede realizar utilizando esponjas intravaginales impregnadas con P_4 o progestágenos, estas hormonas actúan en el centro cíclico del hipotálamo bloqueando la secreción de hormona luteinizante (LH) y por consiguiente la maduración folicular.

En algunos estudios se ha comprobado que concentraciones subluteales de P_4 promueven el crecimiento y persistencia de un folículo dominante (Viñoles *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2001), incrementando la edad del folículo y retrasando la ovulación (Johnson *et al.*, 1996), ocasionando finalmente baja fertilidad de la oveja (Viñoles *et al.*, 1999). La aplicación de P_4 al final del tratamiento con esponjas intravaginales aumenta el desempeño reproductivo en ovejas (Husein y Ababneh, 2008). La P_4 induce la regresión del folículo dominante, la emergencia y ovulación de un nuevo folículo (Anderson y Day, 1994; McDowell *et al.*, 1998). El objetivo del presente estudio fue determinar la dinámica folicular, incidencia de celos y fertilidad de ovejas Criollas, bajo un protocolo de sincronización de celos y aplicación de P_4 .

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Localización

El experimento se realizó de noviembre de 2008 a junio de 2009 en el Módulo de Ovicaprinos de la Granja Experimental del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (19°32' N, 98°53' O y 2250 msnm). El clima es

templado subhúmedo con lluvias en verano, temperatura media anual de 15 °C y precipitación media anual de 644.5 mm (García, 1998).

3.4.2 Tratamientos y diseño experimental

Se utilizaron 75 ovejas Criollas multíparas (33 ± 6.3 kg) en época reproductiva, clínicamente sanas. Las ovejas permanecieron en estabulación y fueron alimentadas de acuerdo con sus necesidades fisiológicas de mantenimiento con heno de avena, un concentrado comercial y una premezcla mineral ofrecida a libre acceso. Las ovejas se distribuyeron aleatoriamente a cuatro tratamientos, donde cada oveja se consideró una unidad experimental, se les colocó una esponja intravaginal conteniendo 20 mg de cronolona (Chrono Gest® CR, Intervet, México) por 12 días, teniendo las siguientes variantes: tratamiento Testigo (n=18); T P₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 10 (n=19); T P₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 11 (n=20) y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10 (n=18).

Las esponjas se removieron el día 12 y los celos fueron detectados cada 6 h, iniciando 24 h post remoción de la esponja, utilizando machos marcadores provistos de un mandil para evitar la cópula. Las ovejas se consideraron en celo cuando permanecieron inmóviles al ser montadas por el macho. A 15 ovejas de cada tratamiento se les determinó vía rectal el número de folículos ≥ 2 mm de diámetro en ambos ovarios, el diámetro de todos los folículos ≥ 2 mm, así como el diámetro del folículo más grande en la hora cero (considerada el día en que se aplicó P₄ o eCG en los tratamientos), y posteriormente a las 24 y 48 h, utilizando un aparato de ultrasonido (Sonovet 600®, Madison) equipado con un transductor lineal de 7.5 MHz. Las ovejas se inseminaron mediante laparoscopia 16 h después de detectado el celo, utilizando 100×10^6 de espermatozoides por dosis contenidos en una pajilla de 0.25 mL, provenientes de machos Criollos y fertilidad conocida.

A 10 ovejas del grupo Testigo, T P₄ 48 h y T P₄ 24 h se les extrajo una muestra de sangre 12 días posteriores a la inseminación, por punción de la vena yugular con agujas y tubos vacutainer® de 10 mL sin anticoagulante. Las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos para obtener el plasma. La concentración de P₄ se determinó por radioinmunoanálisis en fase sólida usando un kit comercial. La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng mL⁻¹ y el coeficiente de variación intraensayo fue de 5.5%. El diagnóstico de gestación se realizó 45 días después de la inseminación, utilizando un ultrasonido con un transductor convexo de 3.5 MHz. Al momento del parto se registró la prolificidad y el sexo.

3.4.3 Análisis estadístico

Las variables incidencia de celos y porcentaje de gestación se analizaron mediante pruebas de Ji-cuadrada. El inicio de celo, número de folículos, diámetro folicular, diámetro del folículo más grande, concentración de P₄, prolificidad y sexo se analizaron mediante un análisis de varianza con un modelo lineal, utilizando el procedimiento GLM de SAS (2004). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey. En el análisis preliminar se consideró como covariable el peso de la oveja, sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p \geq 0.05$) y se removió del modelo.

3.5 Resultados y discusión

3.5.1 Incidencia de celos

El efecto del tratamiento no influyó ($p \geq 0.05$) en la incidencia de celos (Cuadro 1). Sin embargo, la incidencia de celos fue alta en todos los tratamientos. Husein y Ababneh (2008) publicaron resultados similares (100%) en ovejas Awassi, cuando utilizaron un CIDR (300 mg de P₄) por 12 días y aplicaron 25 mg i.m. de P₄ el día 11, al igual que al utilizar esponjas intravaginales con acetato de medroxiprogesterona (MAP) y aplicar oralmente 10 mg de MAP 24 h antes de remover la esponja (100% de celos). La incidencia de celos del T eCG

48 h fue similar a la reportada por Martínez *et al.* (2007) quienes aplicaron una esponja intravaginal por 12 días (65 mg de MAP) más 200 UI de eCG el día 10 en ovejas Barbados Barriga Negra, obteniendo 100% de celos.

La incidencia de celos fue similar a la publicada por García (2007), manifestándose un 85% de ovejas en celo, al utilizar una segunda esponja intravaginal (40 mg de FGA) el día 7 para aumentar la concentración de P₄. Sin embargo, los resultados obtenidos en este experimento fueron superiores a los publicados por Das *et al.* (2000), quienes utilizaron esponjas intravaginales con 300 ó 350 mg de P₄ por 12 días en ovejas Merino, reportando 42 y 75% de celos. Las diferencias entre estudios se pueden explicar por el tipo y concentración de P₄ aplicada, genotipo y estado fisiológico de las ovejas. Los resultados muestran que la aplicación i.m. de P₄ al final del tratamiento de sincronización no afectó la incidencia de celos.

Cuadro 1. Efecto^z del tratamiento en el porcentaje e inicio del celo ($\bar{x} \pm$ error estándar) de ovejas Criollas sincronizadas.

Tratamiento ^y	N	Celos, %	Inicio de celos, h
Testigo	18	94.4 ^a	71.8±11.6 ^b
T P ₄ 48 h	19	89.5 ^a	110.4±11.3 ^b
T P ₄ 24 h	20	95.0 ^a	167.1±11.0 ^a
T eCG 48 h	18	88.9 ^a	86.7±11.6 ^b

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas^{a,b}, son diferentes ($p \leq 0.05$). ^yTratamiento Testigo; T P₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 10; T P₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 11; y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10.

3.5.2 Inicio del celo

La hora de inicio del celo a través de los tratamientos se presentó después de las 48 h del retiro de la esponja (Cuadro 1 y Figura 1). No hubo diferencias ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos Testigo, T P₄ 48 h y T eCG 48 h. Sin embargo, en el T P₄ 24 h el inicio del celo fue más tardío ($p \leq 0.05$), en comparación con

los demás tratamientos. El inicio del celo de las ovejas del T P₄ 48 h y T P₄ 24 h fue más tardío en comparación con la manifestación del celo en ovejas Awassi que recibieron oralmente 10 mg de MAP 24 h antes de retirar la esponja que permaneció insertada por 12 días (54.5±2.9 h); también el momento de inicio del celo en este estudio fue más amplio comparativamente con ovejas que recibieron 25 mg i.m. de P₄ 24 h antes de retirar el CIDR (45.4±2.4 h) (Husein y Ababneh, 2008). La tasa de metabolización de la P₄ que contiene el CIDR es más rápida que la de los progestágenos (Zonturlu *et al.*, 2008). Asimismo, el inicio del celos difiere de lo reportado por Hashemi *et al.* (2006) (51.4±10 h), al aplicar 20 mg i.m. de acetato de P₄, cada segundo día por 12 días más 500 UI de eCG. Los resultados del grupo Testigo son similares a los publicados por Das *et al.* (2000) (75.3± 12.4 h) al utilizar una esponja con 300 mg de P₄ por 12 días.

Las ovejas del T P₄ 24 h retrasaron la aparición del celo de forma marcada comparativamente con los otros tratamientos, lo cual se puede deber a una concentración alta de P₄ en ese tratamiento, seguida de una disminución sostenida de la concentración hasta niveles basales después de retirar la esponja, con un reinicio en la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, causando regresión del folículo dominante y reclutando nuevos folículos en un ambiente de baja concentración de LH y 17-β estradiol (Husein y Ababneh, 2008). Además, las ovejas del T P₄ 24 h al recibir P₄ más cerca del retiro de la esponja, tardaron más tiempo en catabolizar la P₄ en los tejidos viscerales, principalmente en hígado (Freetly y Ferrell, 1994).

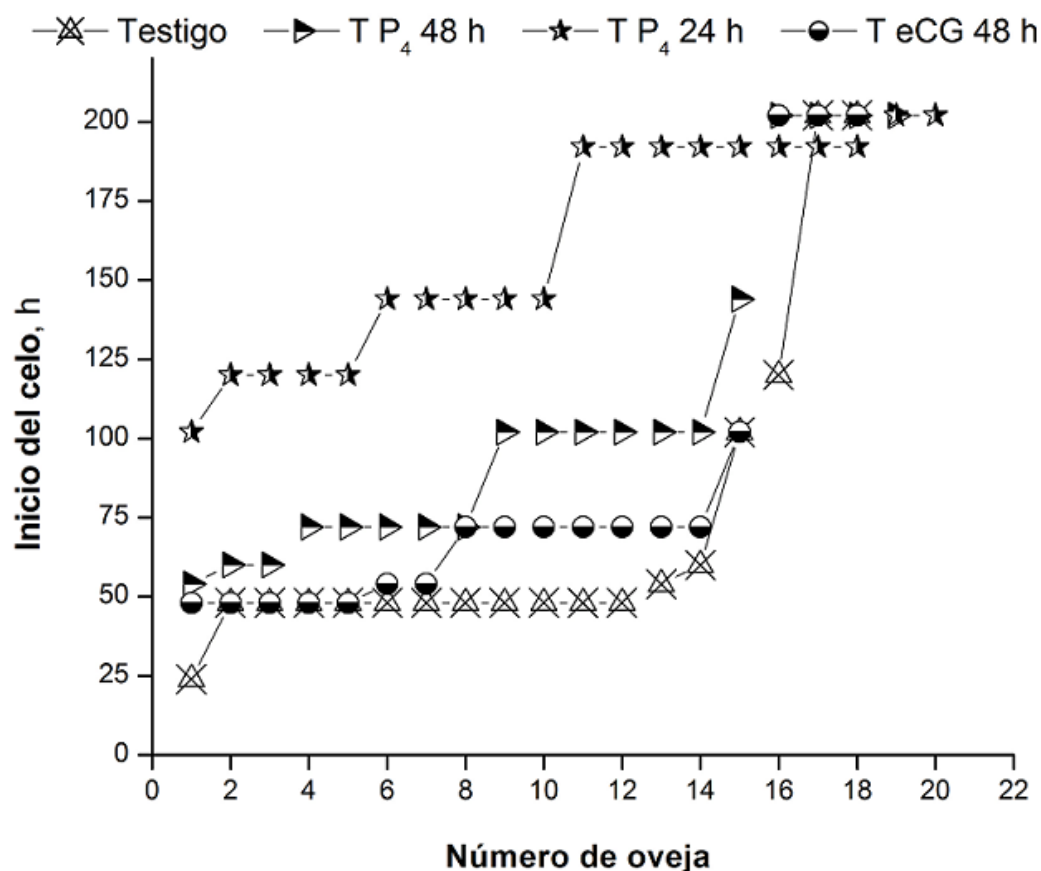


Figura 1. Hora de inicio de celos de ovejas Criollas sincronizadas con esponjas intravaginales. Tratamiento Testigo; T P₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 10; T P₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 11; y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10.

3.5.3 Dinámica folicular

El número de folículos ≥ 2 mm de diámetro en la hora cero, a las 24 y 48 h se muestran en el Cuadro 2. El número de folículos en la hora cero no fue diferente ($p \geq 0.05$) entre tratamientos. Sin embargo, a las 24 y 48 h el número de folículos fue inferior ($p \leq 0.05$) en el grupo Testigo comparativamente con los otros tratamientos. Tampoco existieron diferencias en el número de folículos entre T P₄ 48 h, T P₄ 24 h y eCG 48 h a las 24 y 48 h. En el grupo Testigo no se encontraron diferencias ($p \geq 0.05$) en el número de folículos en la hora cero, a las 24 y 48 h. En el T P₄ 48 h, T P₄ 24 h y T eCG 48 h se encontraron diferencias ($p \leq 0.05$) en el número de folículos en la hora cero comparativamente con el

número de folículos a las 24 y 48 h, incrementando el número de folículos de la hora cero a las 24 h, pero no se encontraron diferencias ($p \geq 0.05$) al comparar el número de folículos entre las 24 y 48 h en el T P₄ 48 h, T P₄ 24 h y eCG 48 h.

Cuadro 2. Medias^z ($\pm$ error estándar) para el número de folículos ≥ 2 mm de diámetro en la hora cero, 24 y 48 h después en ovejas Criollas sincronizadas.

Tratamiento ^y	N	No. de folículos		
		Hora cero ^x	24 h después	48 h después
Testigo	15	2.0 $\pm$ 0.2 ^{ac}	2.2 $\pm$ 0.3 ^{ac}	2.1 $\pm$ 0.2 ^{ac}
T P ₄ 48 h	15	2.1 $\pm$ 0.2 ^{ac}	3.3 $\pm$ 0.3 ^{bd}	3.5 $\pm$ 0.2 ^{bd}
T P ₄ 24 h	15	2.0 $\pm$ 0.2 ^{ac}	3.4 $\pm$ 0.3 ^{bd}	3.6 $\pm$ 0.2 ^{bd}
T eCG 48 h	15	2.4 $\pm$ 0.2 ^{ac}	3.5 $\pm$ 0.3 ^{bd}	4.2 $\pm$ 0.2 ^{bd}

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas^{a,b} y filas^{c,d}, son diferentes ($p \leq 0.05$).

^yTratamiento Testigo; T P₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 10; T P₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 11; y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10.

^xDía en que se aplicó P₄ o eCG en los tratamientos.

Los resultados del diámetro folicular se muestran en el Cuadro 3. A la hora cero se encontraron diferencias ($p \leq 0.05$) sólo entre el T P₄ 48 h y T eCG 48 (3.1 $\pm$ 0.1 vs 2.5 $\pm$ 0.3 mm). Hubo diferencias ($p \leq 0.05$) entre el grupo Testigo y los demás tratamientos a las 24 y 48 h. Sin embargo, los resultados de T P₄ 48 h, T P₄ 24 h y T eCG 48 h fueron similares ($p \geq 0.05$). El diámetro folicular fue similar ($p \geq 0.05$) en el grupo Testigo a la hora cero, a las 24 h y 48 h. Las ovejas del tratamiento T eCG 48 h también mantuvieron el tamaño folicular similar ($p \geq 0.05$), a la hora cero, a las 24 y 48 h después. Sin embargo, en el T P₄ 48 h y T P₄ 24 h hubo una reducción ($p \leq 0.05$) en el tamaño folicular de la hora cero a las 24 y 48 h después. No obstante, no se observaron cambios ($p \geq 0.05$) entre las 24 y 48 h para dichos tratamientos.

Cuadro 3. Medias^z ($\pm$ error estándar) para el diámetro folicular en la hora cero, 24 y 48 h después en ovejas Criollas sincronizadas

Tratamiento ^y	N	Diámetro folicular, mm		
		Hora cero ^x	24 h después	48 h después
Testigo	15	2.9 $\pm$ 0.1 ^{abc}	2.8 $\pm$ 0.1 ^{ac}	2.8 $\pm$ 0.1 ^{ac}
T P ₄ 48 h	15	3.1 $\pm$ 0.1 ^{bc}	2.2 $\pm$ 0.1 ^{bd}	2.5 $\pm$ 0.1 ^{bd}
T P ₄ 24 h	15	2.8 $\pm$ 0.1 ^{abc}	2.3 $\pm$ 0.1 ^{bd}	2.3 $\pm$ 0.1 ^{bd}
T eCG 48 h	15	2.5 $\pm$ 0.3 ^{ac}	2.5 $\pm$ 0.1 ^{bc}	2.5 $\pm$ 0.1 ^{bc}

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas^{a,b} y filas^{c,d}, son diferentes ($p \leq 0.05$).

^yTratamiento Testigo; T P₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 10; T P₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 11; y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10.

^xDía en que se aplicó P₄ o eCG en los tratamientos.

En el Cuadro 4 se muestran los resultados del diámetro del folículo más grande. No existieron diferencias ($p \geq 0.05$) entre tratamientos a la hora cero. A las 24 h se encontraron diferencias ($p \leq 0.05$) entre el grupo Testigo y T P₄ 48 h. Sin embargo, el grupo Testigo fue similar ($p \geq 0.05$) a T P₄ 24 h y T eCG 48 h; y el T P₄ 48 h fue similar ($p \geq 0.05$) al T P₄ 24 h y T eCG 48 h. No se encontraron diferencias ($p \geq 0.05$) en el diámetro del folículo más grande entre tratamientos a las 48 h. No hubo diferencias ($p \geq 0.05$) en el grupo Testigo manteniéndose constante el diámetro del folículo más grande a la hora cero, a las 24 y 48 h. En el T P₄ 48 h hubo diferencias ($p \leq 0.05$) en el diámetro del folículo más grande entre la hora cero y a las 24 h, pero fue similar ($p \geq 0.05$) entre la hora cero y a las 48 h. No hubo diferencias entre T P₄ 24 h y T eCG 48 h en cualquier hora.

Cuadro 4. Medias^z ($\pm$ error estándar) para el diámetro del folículo más grande en la hora cero, 24 y 48 h después en ovejas Criollas.

Tratamiento ^y	N	Diámetro del folículo más grande, mm		
		Hora cero ^x	24 h después	48 h después
Testigo	15	3.2 $\pm$ 0.2 ^{ac}	3.2 $\pm$ 0.2 ^{ac}	3.2 $\pm$ 0.1 ^{ac}
T P ₄ 48 h	15	3.4 $\pm$ 0.2 ^{ac}	2.5 $\pm$ 0.2 ^{bd}	3.1 $\pm$ 0.1 ^{ac}
T P ₄ 24 h	15	3.2 $\pm$ 0.2 ^{ac}	2.8 $\pm$ 0.2 ^{abc}	2.8 $\pm$ 0.1 ^{ac}
T eCG 48 h	15	2.8 $\pm$ 0.2 ^{ac}	2.8 $\pm$ 0.2 ^{abc}	3.1 $\pm$ 0.1 ^{ac}

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas^{a,b} y filas^{c,d}, son diferentes ($p \leq 0.05$).

^yTratamiento Testigo; T P₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 10; T P₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 11; y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10.

^xDía en que se aplicó P₄ o eCG en los tratamientos.

El tratamiento Testigo no presentó cambio en el número de folículos a la hora cero, a las 24 y 48 h en comparación con los demás tratamientos, probablemente debido a que la baja concentración de P₄ aumentó el tamaño del folículo más grande y del segundo más grande, incrementando la concentración de estradiol, causando la supresión del tamaño y número de folículos pequeños (≤ 3 mm) e incrementando la edad del folículo ovulatorio (Johnson *et al.*, 1996). Las bajas concentraciones de P₄ también extendieron la duración y el tamaño del folículo dominante, con un número bajo de folículos totales (Viñoles *et al.*, 1999). Los resultados del T eCG 48 h son similares a los observados por Uribe-Velásquez *et al.* (2008) al aplicar 500 UI de eCG al momento de retirar el CIDR, observando un aumento ($p < 0.05$) de los folículos pequeños dos días antes de la ovulación, esto por efecto estimulador de la eCG en el crecimiento folicular. Se observó un aumento ($p \leq 0.05$) del número de folículos en el T P₄ 48 h y T P₄ 24 h, posiblemente por el efecto inhibitorio de la P₄ en algún folículo dominante (Anderson y Day, 1994). El diámetro del folículo más grande a la hora cero es similar al diámetro del folículo dominante en ovejas Criollas reportado por Cruz (2007), a los 10 días del periodo de sincronización, observando 3.0 $\pm$ 0.0 y 3.3 $\pm$ 0.5 mm en ovejas que recibieron una o dos esponjas por 12 días. También

es similar al encontrado por Román *et al.* (2008), quienes reportaron 3.4 mm de diámetro del folículo preovulatorio en ovejas Criollas. En general los resultados demostraron que no existe variación significativa en el diámetro de folículo más grande entre ovejas Criollas. En el grupo Testigo se mantuvo constante el diámetro del folículo más grande, resultado similar al encontrado por Flynn *et al.* (2000) al utilizar una esponja intravaginal con 60 mg de MAP, causando la ovulación de un folículo dominante persistente en ovejas Suffolk y Texel.

El diámetro del folículo más grande en T P₄ 48 h tuvo una regresión a las 24 h después de la aplicación de P₄, debido posiblemente al proceso de atresia inferido por la reducción temporal del diámetro, además de la disminución en la concentración de estradiol (Anderson y Day, 1994). Asimismo, el diámetro folicular del T P₄ 48 h y T P₄ 24 h se redujo a las 24 h después de la hora cero, en comparación con los demás tratamientos, debido a que estos posiblemente tuvieron bajas concentraciones de P₄ en suero, incrementándose la frecuencia de pulsos de LH; lo cual ha sido asociado con un incremento en el diámetro del folículo más grande. La baja concentración de P₄ causa una retroalimentación positiva entre el estradiol del folículo dominante en crecimiento y la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y LH del eje hipotálamo-hipófisis. El efecto termina con el pico preovulatorio de LH y la ovulación de un folículo. Las concentraciones subluteales de P₄ incrementan la frecuencia de pulsos de LH, pero el pico no ocurre, como consecuencia el folículo más grande persiste y la dominancia se prolonga (Menchaca y Rubianes, 2004).

3.5.4 Porcentaje de gestación y prolificidad

El porcentaje de gestación del grupo Testigo fue inferior ($p \leq 0.05$) sólo al del T P₄ 24 h; las diferencias no fueron importantes entre el resto de los tratamientos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto^z del tratamiento en el porcentaje de gestación, prolificidad ($\bar{x} \pm$ error estándar) y sexo de las crías de ovejas Criollas sincronizadas.

Tratamiento ^y	N	Gestación, %	Prolificidad	Sexo, %	
				Macho	Hembra
Testigo	18	33.3 ^a	1.0±0.2 ^a	50 ^{ac}	50 ^{ac}
T P ₄ 48 h	19	47.4 ^{ab}	1.2±0.2 ^a	60 ^{ac}	40 ^{ac}
T P ₄ 24 h	29	70.0 ^b	1.0±0.2 ^a	63 ^{ac}	37 ^{ac}
T eCG 48 h	18	66.7 ^{ab}	1.5±0.2 ^a	50 ^{ac}	50 ^{ac}

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas^{a,b} y filas^{c,d}, son diferentes ($p \leq 0.05$).

^yTratamiento Testigo; T P₄ 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 10; T P₄ 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P₄ el día 11; y T eCG 48 h, aplicación i.m. de 300 UI de eCG el día 10.

El porcentaje de gestación del T P₄ 48 h y T eCG 48 h fue similar al encontrado por Das *et al.* (2000), reportando porcentajes de 60 y 57 al utilizar esponjas con 300 ó 350 mg de P₄ por 12 días. Los resultados difieren con Husein y Ababneh (2008), quienes encontraron 100% de gestación al aplicar 25 mg de P₄ i.m. el día 11 en un protocolo de sincronización de 12 días con CIDR, también al proporcionar 10 mg de MAP vía oral un día antes de remover las esponjas intravaginales conteniendo MAP. Asimismo, es diferente al 94.1% reportado por García (2007), al utilizar una segunda esponja conteniendo 40 mg de FGA el día 7 de un protocolo de sincronización de 12 días. El porcentaje de gestación del T eCG 48 h fue similar al registrado por Martínez *et al.* (2007) (66.6%) en ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas con esponjas intravaginales con MAP más 200 UI de eCG 48 h antes de remover la esponja.

Wehrman *et al.* (1993) al aumentar la concentración de P₄ en vaquillas utilizando dos dispositivos intravaginales liberadores de P₄ (PRID, 1.55 g de P₄) por 10 días remplazándolos a la mitad del período por PRID nuevos, obtuvieron mayor porcentaje de gestación (76.6) comparativamente con las vaquillas que recibieron un solo PRID (53.3%). Esta baja fertilidad se debió al aumento de la concentración de estradiol por un folículo dominante, causando maduración

anormal del ovocito, transporte anormal de gametos o del embrión, o una inadecuada preparación del útero para mantener la preñez. En vacas, la aplicación de dos PRID por 9 días redujo el tamaño de quistes foliculares, además las vacas ovularon 3 ó 4 días después de retirar los dispositivos. La concentración elevada de P_4 redujo la frecuencia pulsátil y la concentración de LH causando regresión del quiste, ocasionando el reinicio y sincronización de una nueva onda de crecimiento folicular, con folículos viables, estrogénicos y de tamaño adecuado para ovular (Calder *et al.*, 1999).

En ovejas, las células de la granulosa de folículos antrales (2 a 4 mm de diámetro) tienen elevada actividad de la aromatasa, manteniendo una alta concentración de estrógenos por conversión de andrógenos a estradiol (Baird, 1983). Las altas concentraciones de estradiol e inhibina (González-Bulnes *et al.*, 2002) secretadas por el folículo dominante suprimen la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), asegurando que los folículos con menor desarrollo sean privados de FSH (Baird, 1983) siendo menor su crecimiento. La aplicación de P_4 causó atresia del folículo dominante en vacas, reduciéndose la actividad de la aromatasa por aumento del índice de apoptosis en las células de la granulosa, y por consiguiente baja producción de estradiol (Manikkam y Rajamahendran, 1997).

El porcentaje de gestación del T P_4 24 h fue superior al Testigo ($p \leq 0.05$), lo cual confirmó que la aplicación de 25 mg de P_4 i.m. un día antes de retirar la esponja mejora la fertilidad, posiblemente al inducir la regresión de algún folículo dominante, seguido de la emergencia y ovulación de un nuevo folículo (Anderson y Day, 1994; McDowell *et al.*, 1998; Husein y Ababneh, 2008).

No se encontraron diferencias ($p \geq 0.05$) en la prolificidad entre tratamientos, asimismo, la proporción de sexos de los corderos fue similar ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 5). La prolificidad de T P_4 48 h fue similar a la observada por Husein y Ababneh (2008) en ovejas que recibieron vía oral 10 mg de MAP o 25 mg de P_4 i.m. 24 h antes de retirar el dispositivo intravaginal (1.3 ± 0.1 y

1.4±0.1). En T eCG 48 h la prolificidad es similar a la reportada por Martínez *et al.* (2007) (1.4) en ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas con una esponja intravaginal conteniendo MAP más 200 UI de eCG 48 h antes de retirar la esponja. La similitud ($p \geq 0.05$) en la prolificidad entre los tratamientos en el presente experimento se puede deber a que aún cuando se incrementó el número de folículos en los tratamientos T P₄ 48 h, T P₄ 24 h y T eCG 48 h, posiblemente no todos los folículos ovularon, no todos los óvulos fueron fertilizados o no todos los embriones sobrevivieron. La prolificidad es más asociada al incremento de la tasa de fertilización y la supervivencia embrionaria que al incremento de óvulos liberados (Carrillo *et al.*, 2007). Además, existen otros factores como el genotipo del animal que afectan la prolificidad.

3.6 Concentración de progesterona

La concentración de P₄ fue superior ($p \leq 0.05$) en ovejas gestantes comparativamente con las vacías (10.15±1.3 vs 5.32±1.7 ng mL⁻¹), independientemente del tratamiento. Asimismo, dicha tendencia fue observada entre tratamientos (Cuadro 6). Resultados similares han sido reportados en ovejas Criollas (Cruz, 2007), cruzadas (¼ Finn x ¼ Targhee x ½ Rambouillet; Hussein *et al.*, 1998) y Awassi (Skemesh *et al.*, 1973), así como en cabras (Fleming *et al.*, 1990) y vacas (Skemesh *et al.*, 1973).

La concentración elevada de P₄ en ovejas gestantes se puede deber a que el IGF-1 (factor de crecimiento similar a insulina tipo 1) estimula la liberación de P₄ de las células de la granulosa y de la teca para la formación y desarrollo del cuerpo lúteo (CL) (Stewart *et al.*, 1995; Schams *et al.*, 1999). El CL produce P₄, la cual estimula el útero manteniendo sus funciones vitales para el desarrollo embrionario temprano, implantación y placentación (Spencer y Bazer, 2004). Altas concentraciones de P₄ han sido asociadas con mayor probabilidad de supervivencia embrionaria (Morris y Diskin, 2008). Además, en la gestación temprana, el embrión secreta el interferon tau (IFN- τ) para continuar su desarrollo. El IFN- τ inhibe el efecto luteolítico de la prostaglandina F_{2 α} , por lo

tanto, el CL permanece y se presentan las condiciones adecuadas para mantener la gestación (Mann y Lamming, 2001).

La concentración de P_4 de ovejas gestantes del grupo Testigo fue superior ($p \leq 0.05$) a la del T P_4 48 h y T P_4 24 h, lo cual podría deberse a que la aplicación adicional de P_4 al final del tratamiento de sincronización, genera folículos preovulatorios pequeños (Anderson y Day, 1994) y consecuentemente se desarrollan CL de menor tamaño. Los CL pequeños han sido asociados con una reducida capacidad de producción de P_4 (Vasconcelos *et al.*, 2001), lo que podría explicar la reducción en la concentración de P_4 en las ovejas gestantes 12 días después de la inseminación.

Cuadro 6. Concentración^z de progesterona ($\bar{x} \pm$ error estándar) 12 días después de la inseminación de ovejas Criollas gestantes y vacías por tratamiento.

Tratamiento ^y	Progesterona, ng mL ⁻¹			
	N	Gestantes	N	Vacías
Testigo	4	11.47±0.8 ^{ac}	6	4.95±1.0 ^{ad}
T P_4 48 h	6	6.41±0.6 ^{bc}	4	3.18±1.2 ^{ad}
T P_4 24 h	9	4.65±0.4 ^{bc}	1	1.35±1.4 ^{bd}

^zMedias sin una letra en común, dentro de columnas^{a,b} y filas^{cd}, son diferentes ($p \leq 0.05$).

^yTratamiento Testigo; T P_4 48 h, aplicación i.m. de 25 mg de P_4 el día 10; y T P_4 24 h, aplicación i.m. de 25 mg de P_4 el día 11.

3.7 Conclusiones

La aplicación de progesterona al final de la sincronización de celos con esponjas intravaginales modificó la dinámica folicular, retrasó la aparición del celo y mejoró la fertilidad de ovejas Criollas.

3.8 Literatura citada

- Anderson, L. H., and M. L. Day. 1994. Acute progesterone administration regresses persistent dominant follicles and improves fertility of cattle in which estrus was synchronized with melengestrol acetate. *Journal of Animal Science* 72: 2955-2961.
- Baird, D. T. 1983. Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human. *Journal of Reproduction and Fertility* 69: 343-352.
- Calder, M. D., B. E. Salfen, B. Bao, R. S. Youngquist, and H. A. Garverick. 1999. Administration of progesterone to cows with ovarian follicular cysts results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth. *Journal of Animal Science* 77: 3037-3042.
- Carrillo, F., J. Hernández-Cerón, V. Orozco, J. A. Hernández, and C. G. Gutiérrez. 2007. A single dose of bovine somatotropin 5 days before the end of progestin-based estrous synchronization increases prolificacy in sheep. *Animal Reproduction Science* 102: 31-37.
- Cruz R., R. M. 2007. Niveles de progesterona en ovejas Criollas sincronizadas utilizando una y dos esponjas intravaginales. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 54 p.
- Das, G. K., S. M. K. Naqvi, R. Gulyani, S. R. Pareek, and J. P. Mittal. 2000. Effect of two doses of progesterone on estrus response and fertility in acycling crossbred Bharat Merino ewes in a semi-arid tropical environment. *Small Ruminant Research* 37: 159-163.
- Evans, A. C. O., J. D. Flynn, K. M. Quinn, P. Duffy, P. Quinn, S. Madgwick, T. F. Crosby, M. P. Boland, and A. P. Beard. 2001. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestagen estrus synchronization protocol in ewes. *Theriogenology* 56: 923-936.
- Fleming, S. A., S. D. Van Camp, and H. M. Chapin. 1990. Serum progesterone determination as an aid for pregnancy diagnosis in goats bred out of season. *The Canadian Veterinary Journal* 31: 104-107.
- Flynn, J. D., P. Duffy, M. P. Boland, and A. C. O. Evans. 2000. Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. *Animal Reproduction Science* 62: 285-296.
- Freetly, H. C., and C. L. Ferrell. 1994. Kinetics of splanchnic progesterone metabolism in ewes fed two levels of nutrition. *Journal of Animal Science* 72: 2107-2112.
- García, E. 1998. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 2a. ed. Indianápolis, México. 75 p.

- García R., C. 2007. Comportamiento reproductivo de ovejas Criollas sincronizadas con una y dos esponjas intravaginales. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 42 p.
- González-Bulnes, A., J. Santiago-Moreno, R. M. García-García, M. J. Cocero, y A. López-Sebastián. 2002. Patrones y mecanismos de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes (revisión). *Investigación Agraria Producción y Sanidad Animales* 17(1-2): 39-48.
- Hashemi, M., M. Safdarian, and M. Kafi. 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research* 65: 279-283.
- Husein, M. Q., M. T. Bailey, M. M. Ababneh, J. E. Romano, B. G. Crabo, and J. E. Wheaton. 1998. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. *Theriogenology* 49: 997-1005.
- Husein, M. Q., and M. M. Ababneh. 2008. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology* 69: 376-383.
- Johnson, S. K., R. A. Dailey, E. K. Inskeep, and P. E. Lewis. 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 13(1): 69-79.
- Mann, G. E., and G. E. Lamming. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121: 175-180.
- Manikkam, M., and M. Rajamahendran. 1997. Progesterone-induced atresia of the proestrous dominant follicle in the bovine ovary: changes in diameter, insulin-like growth factor system, aromatase activity, steroid hormones, and apoptotic index. *Biology of Reproduction* 57: 580-587.
- Martínez T., J. J., F. Izaguirre F., L. Sánchez O., C. G. García C., G. Martínez P., y G. Torres H. 2007. Comportamiento reproductivo de ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas con MPA y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. *FCV-LUZ XVII*(1): 47-52.
- McDowell, C. M., L. H. Anderson, J. E. Kinder, and M. L. Day. 1998. Duration of treatment with progesterone and regression of persistent ovarian follicles. *Journal of Animal Science* 76: 850-855.
- Menchaca, A., and E. Rubianes. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 403-413.

- Morris, D., and M. Diskin. 2008. Effect of progesterone on embryo survival. *Animal* 2: 1112-1119.
- Román R., E., M. R. Santos C., R. Rangel S., R. Rodríguez D. L., J. Ayala O., C. Apodaca S., C. Sánchez D. R. 2008. Número y tamaño de folículos preovulatorios en ovejas con celo inducido. *In: Memoria del XVIII Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos*. 2 al 3 de octubre. Mexicali, B.C., México. p. 302.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS OnlineDoc® 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schams, D., B. Berisha, M. Kosmann, R. Einspanier, and W. M. Amselgruber. 1999. Possible role of growth hormone, IGFs, and IGF-binding proteins in the regulation of ovarian function in large farm animals. *Domestic Animal Endocrinology* 17: 279-285.
- Skemesh, M., N. Ayalon, and H. R. Lindner. 1973. Early pregnancy diagnosis based upon plasma progesterone levels in the cow and ewe. *Journal of Animal Science* 36: 726-729.
- Spencer, T. E., and F. W. Bazer. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2: 49-64.
- Stewart, R. E., L. J. Spicer, T. D. Hamilton, and B. E. Keefer. 1995. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor 1 and luteinizing hormone. *Journal of Animal Science* 73: 3719-3731.
- Ulloa-Arvizu, R., A. Gayosso-Vázquez, y R. A. Alonso M. 2009. Origen genético del ovino Criollo mexicano (*Ovis aries*) por el análisis del gen citocromo C oxidasa subunidad I. *Técnica Pecuaria en México* 47(3): 323-328.
- Uribe-Velásquez, L. F., E. Oba, y M. I. L. Souza. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P₄) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Archivos de Medicina Veterinaria* 40: 83-88.
- Vasconcelos, J. L. M., R. Sartori, H. N. Oliveira, J. G. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56: 307-314.
- Viñoles, C. A. Meikle, M. Forsberg, and E. Rubianes. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351-1361.
- Wehrman, M. E., M. S. Roberson, A. S. Cupp, F. N. Kojima, T. T. Stumpf, L. A. Werth, M. W. Wolfe, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1993. Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decreases

endogenous 17β -estradiol and increases conception in cows. *Biology of Reproduction* 49: 214-220.

Zonturlu, A.K., F. Aral, N. Ozyurtlu, and U. Yavuzer. 2008. Synchronization of estrus using FGA and CIDR intravaginal pessaries during the transition period in Awassi ewes. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 7(9): 1093-1096.