

RESPUESTA REPRODUCTIVA DE OVEJAS DE PELO SINCRONIZADAS CON PROGESTERONA O PROSTAGLANDINAS

REPRODUCTIVE RESPONSE IN HAIR SHEEP SYNCHRONIZED WITH PROGESTERONE OR PROSTAGLANDINS

Jaime Arroyo-Ledezma^{1*}, Jannette De La Torre-Barrera², N. Ysac Ávila-Serrano¹

¹Laboratorio de Reproducción, Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido. Ciudad Universitaria, Km. 1.5 Carretera Sola de Vega-Puerto Escondido, Puerto Escondido 71980, Oaxaca, México (arroyo@zicatel.umar.mx). ²Área de Planeación y Desarrollo Rural, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)-Distrito Costa, Mariano Matamoros S/N, Puerto Escondido 71980, Oaxaca, México.

RESUMEN

La sincronización ajusta los estros a tiempos específicos y permite usar tecnologías reproductivas. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta reproductiva de 30 ovejas de pelo sincronizadas con progesterona (P4) o prostaglandinas. Las ovejas de pelo eran 5/8 Pelibuey x 2/8 Black Belly x 1/8 Dorper, de 3.5 a 4.0 años de edad, con peso promedio de 37.8 ± 3.0 kg; el último parto fue 8 meses previos al experimento. Los tratamientos fueron; 1) aplicación por 11 d de 300 mg de P4 impregnada en un dispositivo vaginal de liberación controlada (CIDR) + 400 UI IM de gonadotropina coriónica equina (eCG) al retiro del CIDR; 2) dos dosis de 0.075 mg de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (cloprostenol) con intervalo de 11 d. El diseño experimental fue completamente al azar con dos tratamientos y 15 repeticiones; la unidad experimental fue una oveja. Ocho horas después de retirar el CIDR y después de aplicar la segunda dosis de $PGF_{2\alpha}$ se detectaron estros cada 2 h por 15 min usando machos con mandil. Muestras de sangre se recolectaron cada día por punción yugular desde la colocación del CIDR y la primera aplicación de $PGF_{2\alpha}$ por 14 d para determinar las concentraciones plasmáticas de P4. Todas las ovejas en los dos tratamientos presentaron estros. El intervalo final de tratamiento al estro fue menor ($p \leq 0.05$) en CIDR + eCG (22.2 ± 2.2 h) que con $PGF_{2\alpha}$ (33.1 ± 2.2 h). La duración del estro fue similar ($p > 0.05$) en ambos tratamientos: 54.2 ± 2.6 h para CIDR + eCG y 51.8 ± 2.6 h en $PGF_{2\alpha}$. La concentración máxima de progesterona (7.3 ± 0.9 ng mL^{-1}) en CIDR + eCG se obtuvo los días 2 y 5 de tratamiento; desde el día 6 la concentración de P4 disminuyó hasta 2.35 ± 0.2 ng mL^{-1}

ABSTRACT

Synchronization adjusts estrus at specific times and allows the use of reproductive technologies. The aim of this study was to evaluate the reproductive response of 30 synchronized hair sheep with progesterone (P4) or prostaglandins. The hair sheep were 5/8 Pelibuey x 2/8 Black Belly x 1/8 Dorper, from 3.5 to 4.0 years of age, with an average weight of 37.8 ± 3.0 kg; last parturition occurred 8 months prior to the experiment. The treatments were: 1) application for 11 d of 300 mg of P4 impregnated into a controlled release vaginal device (CIDR) + 400 IU IM of equine chorionic gonadotropin (eCG) after removing CIDR; 2) two doses of 0.075 mg of prostaglandin $F_{2\alpha}$ (cloprostenol) with an interval of 11 d. The experimental design was completely randomized, with two treatments and 15 replicates; the experimental unit was one sheep. Eight hours after removing CIDR and after applying the second dose of $PGF_{2\alpha}$ estrus were detected every 2 h for 15 min using males provided with a protection device. Blood samples were collected daily from the jugular vein as from the CIDR placement and the first application of $PGF_{2\alpha}$ for 14 d to determine the plasma concentrations of P4. All sheep in the two treatments showed the presence of estrus. The final treatment interval to estrus was shorter ($p \leq 0.05$) in CIDR + eCG (22.2 ± 2.2 h) than with $PGF_{2\alpha}$ (33.1 ± 2.2 h). The duration of estrus was similar ($p > 0.05$) in both treatments: 54.2 ± 2.6 h for CIDR + eCG and 51.8 ± 2.6 h in $PGF_{2\alpha}$. The maximum concentration of progesterone (7.3 ± 0.9 ng mL^{-1}) in CIDR + eCG was observed on days 2 and 5 of the treatments; from day 6 P4 concentration decreased to 2.35 ± 0.2 ng mL^{-1} until day 11, and 0.26 ± 0.02 ng mL^{-1} 24 h after the device removal. In $PGF_{2\alpha}$ group the concentration of progesterone decreased ($p \leq 0.05$) from 3.7 ± 0.6 ng mL^{-1} on day 0 to 0.87 ± 0.2 ng mL^{-1} on day 1, and from 4.37 ± 0.05 ng mL^{-1} on day 11 to 0.62 ± 0.06 ng mL^{-1} on day

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: febrero, 2013. Aprobado: octubre, 2013.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 47: 661-670. 2013.

el día 11, y 0.26 ± 0.02 ng mL⁻¹ 24 h después de retirar el dispositivo. En el grupo PGF_{2a}, la concentración de progesterona se redujo ($p \leq 0.05$) de 3.7 ± 0.6 ng mL⁻¹ el día 0 a 0.87 ± 0.2 ng mL⁻¹ el día 1, y de 4.37 ± 0.05 ng mL⁻¹ el día 11 a 0.62 ± 0.06 ng mL⁻¹ el día 12. Los perfiles de progesterona coincidieron con la acción biológica de P4 y CIDR. En ovejas de pelo, sincronizar estros con P4 o PGF_{2a} induce respuestas reproductivas similares. En tratamientos con CIDR + eCG, la concentración mayor y constante de P4 ocurre en los primeros 5 d; esto justifica implementar protocolos cortos de sincronización.

Palabras clave: cloprostenol, PGF_{2a}, CIDR + eCG, ovinos de pelo, sincronización de estros, trópico.

INTRODUCCIÓN

En regiones tropicales más de 60 % de los ovinos de pelo muestran actividad ovulatoria todo el año (Arroyo, 2011), lo que representa un potencial productivo alto para estas razas. El manejo reproductivo de las ovejas se puede mejorar con tratamientos hormonales (Wildeus, 1998). La sincronización del ciclo estral en esta especie es una biotecnología reproductiva (Silva *et al.*, 2010) que, asociada a esquemas de inseminación artificial, es una herramienta útil para mejorar la eficiencia reproductiva, la productividad de los rebaños, concentrar partos en épocas preestablecidas, favorecer la difusión de genotipos específicos y mejorar la genética (González-Stagnaro, 1993).

Esta técnica se usa en rumiantes pequeños mediante esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos, como acetato de fluorogestona y de medroxiprogesterona (MAP), prostaglandina F_{2a} (PGF_{2a}), gonadotropina coriónica equina (eCG) y progesterona intravaginal (P4; CIDR), asociadas o individuales (Silva *et al.*, 2010). Los resultados han sido variables porque hay factores que influyen en la respuesta, como estado reproductivo, ambiente, periodo posparto, número de lactancia, tamaño de la camada, duración del tratamiento y método farmacológico usado (Wildeus, 2000; Knights *et al.*, 2011; Ungerfeld y Sánchez Dávila, 2012). Al respecto, Uribe-Velásquez *et al.* (2008) sincronizaron ovejas Bergamacia con dos dosis de PGF_{2a} (125 mg de ciosin) aplicadas con intervalo de 9 d y con CIDR (300 mg de P4) insertados por 14 d + 500 UI de eCG, IM. Al retirar los dispositivos, todas las ovejas en ambos

12. Progesterone profiles coincided with the biological action of P4 and CIDR. In hair sheep to synchronize estrus with P4 or PGF_{2a} leads to similar reproductive responses. In CIDR + eCG treatments, the highest and constant concentration of P4 occurs in the first 5 d; this justifies the implementation of short synchronization protocols.

Keywords: cloprostenol, PGF_{2a}, CIDR + eCG, hair sheep, estrus synchronization, tropic.

INTRODUCTION

In tropical regions more than 60 % of hair sheep show ovulatory activity all year long (Arroyo, 2011), which represents a high productive potential for these breeds. Reproductive management of sheep may be improved with hormone treatments (Wildeus, 1998). The synchronization of estrous cycle in this species is a reproductive biotechnology (Silva *et al.*, 2010) that associated with artificial insemination schemes is a useful tool for improving reproductive efficiency, productivity of herds, concentrating births in preset times, promoting the dissemination of specific genotypes and improving genetics (González-Stagnaro, 1993).

This technique is utilized in small ruminants through the use of intravaginal sponges impregnated with progestins, such as fluorogestone and medroxiprogesterone acetate (MAP), prostaglandin F_{2a} (PGF_{2a}), equine chorionic gonadotropin (eCG) and intravaginal progesterone (P4; CIDR), associated or individually (Silva *et al.*, 2010). Results have been mixed because there are factors that influence the response, such as reproductive status, environment, postpartum period, number of lactation, litter size, duration of treatment and pharmacological method used (Wildeus, 2000; Knights *et al.*, 2011; Ungerfeld and Sánchez Dávila, 2012). In this regard, Uribe-Velásquez *et al.* (2008) synchronized Bergamacia sheep with two doses of PGF_{2a} (125 mg ciosin) applied with an interval of 9 d and with CIDR (300 mg of P4), inserted for 14 d + 500 IU of eCG, IM. In removing the devices, all sheep in both synchronization schemes showed estrus, that is, the use of intravaginal progesterone devices, followed by the application of 500 IU eCG led to an effective synchronization of estrus, reduced the estrus-ovulation interval and induced an increase

esquemas de sincronización presentaron estró, es decir, el uso de dispositivos intravaginales con progesterona, seguido de la aplicación de 500 UI de eCG produjo sincronización efectiva del estró, redujo el intervalo estró-ovulación e indujo el aumento de la concentración plasmática de progesterona y estradiol al inicio de la fase lútea. Silva *et al.* (2010) sincronizaron estró en ovejas Santa Inés brasileñas con dos dosis de PGF_{2a} (0.530 mg de cloprostenol) aplicadas con intervalo de 9 d y uso de esponjas intravaginales impregnadas con 50 mg MAP + 250 UI de eCG insertadas por 12 d. Todas las ovejas presentaron estró y sin diferencias del tiempo entre el final del protocolo de sincronización al estró. Los autores concluyeron que la sincronización de estró con PGF_{2a} es un protocolo alternativo eficiente para sincronizar estró.

Estas evidencias permiten sugerir que al sincronizar ovejas de pelo en el trópico del sureste mexicano con prostaglandinas o progesterona la respuesta reproductiva será similar. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue comparar y evaluar la respuesta reproductiva y la concentración hormonal en ovejas de pelo sincronizadas con progesterona o prostaglandinas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El estudio se realizó en el Campo Experimental de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, Oaxaca, México (15° 52' N, 97° 04' O, a nivel del mar; clima AWo AWI, un clima cálido húmedo con lluvias en verano). La precipitación anual varía de 500 a 1500 mm, con temperatura promedio de 28 °C (García, 1988). El estudio se realizó durante la época reproductiva (Arroyo *et al.*, 2007), en noviembre y diciembre de 2011.

Animales, tratamientos y diseño experimental

En el estudio se usaron 30 ovejas de pelo 5/8 Pelibuey x 2/8 Black Belly x 1/8 Dorper, de 3.5 a 4.0 años de edad, con un parto 8 meses antes del experimento, clínicamente sanas, peso promedio 37.8 ± 3.0 kg y condición corporal de 3.0 a 3.5 en una escala de 0 a 5 (Russell, 1984). Los tratamientos fueron: 1) 300 mg de P4 durante 11 d, impregnada en un dispositivo intravaginal de liberación controlada (CIDR®, Pfizer, Nueva Zelanda) + 400 UI IM de gonadotropina coriónica equina (eCG; Folligon®, Intervet, Holanda) al retiro del CIDR; 2) dos dosis IM de 0.075 mg de PGF_{2a} (Cloprostenol, Prosolvin C®, Intervet, Alemania) con intervalo de 11 d. El diseño experimental fue completamente al

in the plasma concentration of progesterone and estradiol at the beginning of the luteal phase. Silva *et al.* (2010) synchronized estrus in Brazilian Santa Inés sheep with two doses of PGF_{2a} (0.530 mg cloprostenol) applied with an interval of 9 d, and also the use of intra-vaginal sponges impregnated with 50 mg MAP + 250 IU of eCG inserted for 12 d. All the sheep showed estrus and there were no differences of time between the end of the estrus synchronization protocol up to estrus. Authors concluded that the synchronization of estrus with PGF_{2a} is an efficient alternative protocol to synchronize estrus.

This evidence allow to suggest that by synchronizing hair sheep with prostaglandins or progesterone in the tropic of Southeast México, the reproductive response will be similar. Therefore, the objective of this study was to compare and evaluate the reproductive response and hormonal concentration in hair sheep synchronized with progesterone or prostaglandins.

MATERIALS AND METHODS

Location

The study was carried out at the experimental unit of the University of Mar, Campus Puerto Escondido, Oaxaca, Mexico (15° 52' N, 97° 04' W, at sea level, AWI AWo climate, a warm humid weather with summer rains). Annual rainfall varies from 500 to 1500 mm, with an average temperature of 28 °C (García, 1988). The study was carried out during the breeding season (Arroyo *et al.*, 2007), in November and December of 2011.

Animals, treatments and experimental design

In this study 30 hair sheep 5/8 Pelibuey x 2/8 Black Belly x 1/8 Dorper were used; they were 3.5 to 4.0 years of age, had lambed 8 months before the experiment, clinically healthy, average weight 37.8 ± 3.0 kg and body condition of 3.0 to 3.5 on a scale of 0 to 5 (Russell, 1984). Treatments were: 1) 300 mg of P4 for 11 d impregnated in an intravaginal device of controlled release (CIDR®, Pfizer, New Zealand) + 400 IU IM of equine chorionic gonadotropin (eCG, Folligon®, Intervet, Netherlands) on removing CIDR; 2) two IM doses of 0.075 mg of PGF_{2a} (Cloprostenol, Prosolvin C®, Intervet, Germany) with an interval of 11 d. The experimental design was completely randomized with two treatments and 15 replicates; the experimental unit was a sheep.

azar con dos tratamientos y 15 repeticiones; la unidad experimental fue una oveja.

Alimentación

Las ovejas se alimentaron con alfalfa deshidratada (*Medicago sativa*) *ad libitum* y 150 g animal⁻¹ d⁻¹ de un alimento comercial (Purina®, México) con 14 % de proteína; la ración aportó 3.4 Mcal kg⁻¹ MS⁻¹ de energía metabolizable, de acuerdo con los requerimientos nutricionales de mantenimiento de NRC (2007). Además, recibieron agua fresca a libertad.

Manejo reproductivo

Siete días antes de iniciar el experimento, las ovejas fueron examinadas mediante ultrasonografía transrectal (Dramisky®, Polonia) con un transductor lineal de 5.0 a 7.5 Mhz, para verificar que no estuvieran gestantes. Ocho horas después de retirar el CIDR en el tratamiento 1 y después de aplicar la segunda dosis de PGF_{2a} en el tratamiento 2 se detectaron estros cada 2 h por 15 min usando machos con mandil. Las ovejas que permitían la monta del macho se consideraban en estro. Los protocolos de sincronización en los dos tratamientos se iniciaron entre 09:00 y 09:30 h concluyeron en 1 h y un intervalo similar de tiempo.

Manejo sanitario

Antes de iniciar el experimento todas las ovejas fueron desparasitadas con 2 mL 10 kg⁻¹ PV de Closantel al 5 % (Closantil®, Chinoín®, México) y se inyectaron vía IM con 1 mL oveja⁻¹ de vitamina ADE (Vigantol®, Bayer).

Toma de muestras sanguíneas y prueba hormonal

Muestras sanguíneas se recolectaron por punción yugular de todas las hembras, diariamente a las 10:00 h desde la colocación del CIDR y la primera aplicación de PGF_{2a} por 14 d. La sangre se recolectó en tubos vacutainer heparinizados y se centrifugó 15 min a 1911 g; el plasma se congeló a -20 °C hasta su análisis. Las concentraciones de progesterona se determinaron con radioinmunoanálisis en fase sólida (Pulido *et al.*, 1991), con un kit comercial (Coat-A-Count® Progesterone, Siemens, EE.UU.) y un contador de radiaciones gamma (Oakfield®, Inglaterra) de 12 pozos, serie 078 y eficiencia superior a 75 %. Lo anterior se realizó en el Laboratorio de Endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. La sensibilidad analítica del ensayo fue de 0.02 ng mL⁻¹ y coeficiente de variación intraensayo de 3.3 %.

Feeding

Sheep were fed with dehydrated alfalfa (*Medicago sativa*) *ad libitum* and 150 g animal⁻¹ d⁻¹ from a commercial feed (Purina®, México) with 14 % protein; the ration provided 3.4 Mcal kg⁻¹ DM⁻¹ of metabolizable energy, according to the nutritional maintenance requirements NRC (2007). They also received fresh water without restrictions.

Reproduction management

Seven days before starting the experiment, sheep were examined by transrectal ultrasonography (Dramisky®, Poland) with a linear transducer of 5.0 to 7.5 MHz, to verify that they were not pregnant. Eight hours after removing CIDR in treatment 1, and after applying the second dose of PGF_{2a} in treatment 2, estrus were detected every 2 h for 15 min using males with a protection device. The sheep that allowed mating with the male were considered in estrus. Synchronization protocols in the two treatments started between 09:00 and 09:30 h and finished in 1 h and a similar time range.

Health management

Before starting the experiment, all sheep were dewormed with 2 mL 10 kg⁻¹ PV of Closantel 5 % (Closantil®, Chinoín®, México) and injected IM with 1 mL sheep⁻¹ of vitamin ADE (Vigantol®, Bayer).

Blood sampling and hormone assay

Blood samples were collected from the jugular vein of all females, daily at 10:00 h, after the placement of CIDR and the first application of PGF_{2a} for 14 d. Blood was collected in heparinized vacutainer tubes and centrifuged it at 1911 g for 15 min; plasma was frozen at -20 °C for analysis. Progesterone concentrations were determined by using solid phase radioimmunoassay (Pulido *et al.*, 1991) with a commercial kit (Coat-A-Count® Progesterone, Siemens, USA) and a gamma counter (Oakfield®, England) of 12 holes, 078 series and more than 75 % efficiency. This was done at the Laboratory of Endocrinology, Faculty of Veterinary Medicine, National Autonomous University of México. The analytical sensitivity of the assay was 0.02 ng mL⁻¹ and intraassay variation coefficient of 3.3 %.

Response variables

The variables evaluated were: the proportion of females who responded to treatment, final interval of estrus treatment, duration of estrus and progesterone plasma concentration.

Variables de respuesta

Las variables evaluadas fueron: proporción de hembras que respondieron a los tratamientos, intervalo final del tratamiento a estro, duración del estro y concentración plasmática de progesterona.

Análisis estadístico

La proporción de hembras que respondieron a los tratamientos se analizó con la prueba de Ji-cuadrada. El intervalo final de tratamiento a estro y duración del estro se evaluaron con ANDEVA, mediante el procedimiento GLM de SAS y la comparación de medias entre tratamientos se realizó con la prueba de Tukey. Las concentraciones de progesterona plasmática se evaluaron con un análisis de varianza de medidas repetidas, con el procedimiento MIXTO de SAS, de acuerdo con el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \delta_{ij} + \rho_k + (\tau\rho)ik + \epsilon_{ijk}$$

donde μ : promedio general, τ_i : efecto del i-ésimo tratamiento, δ_{ij} : error asociado a l i-ésimo tratamiento en la j-ésima unidad experimental, ρ_k : efecto del k-ésimo periodo de tiempo, $\tau\rho$: interacción tratamiento por periodo de tiempo, ϵ_{ijk} : errores asociados a los periodos de tiempo.

La prueba t-Student se usó para comparar medias dentro y entre tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las ovejas respondieron al tratamiento (Cuadro 1), lo que coincide con los resultados de Kohno *et al.* (2005). Los intervalos retiro de CIDR y segunda aplicación de PGF_{2a} al estro fueron diferentes ($p \leq 0.05$). El celo ocurrió a las 22.2 ± 2.2 h en el grupo CIDR+eCG, 11 h antes que en el grupo PGF_{2a} (Cuadro 1). El intervalo final de tratamiento al inicio del estro, en ambos grupos, fue menor que el reportado por Martínez-Tinajero *et al.* (2008), en ovejas sincronizadas con CIDR + GnRH, en las que el estro inició 42.3 ± 3.8 h después de finalizar el tratamiento. En contraste, los resultados del presente estudio coinciden con las observaciones de Kohno *et al.* (2005), quienes compararon tres métodos de sincronización de estros: CIDR, esponja impregnada con 500 mg de P4 y esponja impregnada con acetato de medroxiprogesterona (MAP), insertados por 12 d

Statistical analysis

The proportion of females who responded to treatment was analyzed with the Chi-square test. The final interval of estrus treatment and estrus duration was evaluated with ANOVA using the GLM procedure of SAS, and comparison of means between treatments was carried out with the Tukey test. Plasma progesterone concentrations were evaluated with an analysis of variance of repeated measurements, with the MIXED procedure of SAS, according to the following statistical model:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \delta_{ij} + \rho_k + (\tau\rho)ik + \epsilon_{ijk}$$

where μ : overall average, τ_i : effect of the i-th treatment, δ_{ij} : error associated with the i-th treatment in the j-th experimental unit, ρ_k : effect of the k-th time, $\tau\rho$: interaction between treatments per period, ϵ_{ijk} : errors associated with periods.

The t-Student test was used to compare means within and between treatments.

RESULTS AND DISCUSSION

All sheep responded to treatment (Table 1), which coincides with the results by Kohno *et al.* (2005). The CIDR removal intervals and second application of PGF_{2a} to estrus were different ($p \leq 0.05$). Estrus occurred at 22.2 ± 2.2 h in the CIDR group + eCG, 11 h before the PGF_{2a} group (Table 1). Final treatment interval at the start of estrus in both groups was shorter than that reported by Martínez-Tinajero *et al.* (2008) in ewes synchronized with CIDR + GnRH, in which estrus began 42.3 ± 3.8 h after the end of treatment. In contrast, the results of this study are consistent with observations by Kohno *et al.* (2005), who compared three methods of estrus synchronization: CIDR, sponge impregnated with 500 mg of P4 and sponge impregnated with medroxyprogesterone acetate (MAP), inserted for 12 d, and reported that 100 % of ewes showed estrus 3 d after the removal of devices, and estrus began at 23, 33 and 21 h, respectively.

According to Uribe-Velázquez *et al.* (2008), 100 % of female Bergamacia sheep were on estrus 18 h earlier by synchronizing with two doses of PGF_{2a} in the interval of 9 d rather than with the CIDR for 12 d + eCG. These results are similar to those obtained in the present study, as estrus occurred first in the CIDR group + eCG compared to the PGF_{2a} group.

Cuadro 1. Respuesta reproductiva en ovejas de pelo sincronizadas con progesterona + eCG y prostaglandinas.
Table 1. Reproductive response in hair sheep synchronized with progesterone + eCG and prostaglandins.

Tratamiento	n	Respuesta al tratamiento (%)	Intervalo final de tratamiento al estro (h; media $\pm$ E.E.)	Duración del estro (h; media $\pm$ E.E.)
CIDR + eCG	15	100 a	22.2 $\pm$ 2.2 a	54.2 $\pm$ 2.6 a
PGF _{2a}	15	100 a	33.1 $\pm$ 2.2 b	51.8 $\pm$ 2.6 a

Letras distintas en una columna indican diferencia estadística ($p \leq 0.05$) ♦ Different letters in a column indicate significant difference ($p \leq 0.05$)

y reportaron que 100 % de las ovejas mostraron estro 3 d después del retiro de los dispositivos y el estro inició a las 23, 33 y 21 h, respectivamente.

Según Uribe-Velázquez *et al.* (2008), 100 % de las hembras ovejas Bergamacia presentaron estro 18 h antes al sincronizarlo con dos dosis de PGF_{2a} aplicadas en intervalo de 9 d que con CIDR por 12 d + eCG. Estos resultados son similares a los del presente estudio, ya que el estro ocurrió primero en el grupo CIDR + eCG respecto al grupo PGF_{2a}.

La duración del estro fue similar ($p > 0.05$) entre grupos (Cuadro 1). Al respecto, González-Stagnaro *et al.* (1993a) observaron celo en 100 % de las cabras, ovejas criollas y mestizas West African, con duración de hasta 5 d, después de 3 a 5 d de usar prostaglandinas naturales y análogos, una o dos inyecciones, con intervalos de 8 a 11 d. Cambellas (1993) indicó que la duración del estro en ovejas sincronizadas varía según la raza y el protocolo utilizado; en ovejas Black Belly el estro duró hasta 72 h cuando fueron sincronizadas con progestágenos por 14 d, pero en ovejas sin sincronizar fue 42 h. Lo anterior coincide con las observaciones del presente estudio, pues al usar CIDR + eCG la duración del estro fue 54.2 $\pm$ 2.6 h, mayor que con cloprostenol (Cuadro 1). En ovejas Pelibuey tratadas con progestágenos para sincronizar estros o inducir la pubertad, la duración del estro fue 60.5 $\pm$ 6.6 o 41.3 $\pm$ 3.6 h (Camacho-Ronquillo *et al.*, 2008). El estro en ovejas sincronizadas con fluorogestona (FGA) + eCG duró más que en las tratadas con prostaglandinas (Rodríguez-Castillo *et al.*, 2010). En cabras y ovejas la variabilidad del estro es mayor cuando las hembras son sincronizadas con progestágenos en comparación con prostaglandinas (Romano, 1998). Estos resultados son similares a los del presente estudio. La duración mayor del estro se debería al aumento del número de folículos

The duration of estrus was similar ($p > 0.05$) between groups (Table 1). In this regard, González-Stagnaro *et al.* (1993a) detected estrus in 100 % of goats, native and crossbred West African sheep, lasting up to 5 d, after 3-5 d using natural prostaglandins and analogues, applying one or two shots, with intervals of 8 to 11 d. Cambellas (1993) indicated that the duration of estrus in ewes synchronized varies depending on the breed and protocol used; in Black Belly ewes estrus lasted up to 72 h when they were synchronized with progestogens for 14 d, but in unsynchronized ewes was 42 h. This coincides with the findings of this study, since when using the CIDR + eCG estrus duration was 54.2 $\pm$ 2.6 h, longer than with the use of cloprostenol (Table 1). In Pelibuey sheep treated with progestogen to synchronize estrus or induce puberty, the duration of estrus was 60.5 $\pm$ 6.6 or 41.3 $\pm$ 3.6 h (Camacho-Ronquillo *et al.*, 2008). In sheep synchronized with fluorogestone (FGA) + eCG the estrus was longer than in those treated with prostaglandins (Rodríguez-Castillo *et al.*, 2010). In goats and sheep variability of estrus is higher when females are synchronized with progestin compared to prostaglandins (Romano, 1998). These results are similar to those obtained in this study. The increasing duration of estrus would be due to the higher number of recruited follicles, follicular development and maturation in response to eCG, raising the concentration of estradiol (Bowen *et al.*, 1998, Ben-Said *et al.*, 2007). However, the duration of estrus in sheep would be primarily regulated by an excess of secretion of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the mediobasal hypothalamus (Ben-Said *et al.*, 2007). A prolonged estrus is likely to generate greater variability at the time of ovulation. Hanrahan and Quirke (1975), Quirke *et al.* (1979) and Gordon (1997) stated that the duration of estrus

reclutados, del desarrollo y maduración folicular en respuesta a la eCG, lo que eleva la concentración de estradiol (Bowen *et al.*, 1998; Ben-Saïd *et al.*, 2007). Sin embargo, la duración del estro en la oveja estaría regulada principalmente por el exceso de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el hipotálamo mediobasal (Ben-Saïd *et al.*, 2007). Es probable que un estro prolongado genere mayor variabilidad en el momento de la ovulación. Hanrahan y Quirke (1975), Quirke *et al.* (1979) y Gordon (1997) señalaron que la duración del estro en ovinos varía de 24 a 56 h y aumenta hasta 50 % en ovejas con ovulación múltiple. En las ovejas de pelo del presente estudio esta variable estuvo dentro de los indicadores para la especie (Hanrahan y Quirke, 1975; Quirke *et al.*, 1979; Gordon, 1997).

La concentración de P4 en ambos grupos corresponde con el efecto biológico de P4 y CIDR (Figura 1). En ovejas tratadas con CIDR + eCG la concentración de P4 plasmática fue mayor a 1 ng mL⁻¹ del día 0 al 11, valor característico de ovejas con un cuerpo lúteo funcional. Sin embargo, las concentraciones mayores se registraron del día 0 al 5 (6-7.5 ng mL⁻¹). Desde el día 6, los niveles de progesterona disminuyeron hasta alcanzar 2 ng mL⁻¹ al retirar el dispositivo (día 11). Un aporte exógeno de P4 reducido en la sincronización de estros puede

in sheep varies from 24 to 56 h and rises up to 50 % in sheep with multiple ovulation. In the hair sheep of the present study this variable was within the indicators for the species (Hanrahan and Quirke, 1975; Quirke *et al.*, 1979, Gordon, 1997).

The P4 concentration in both groups is due to the biological effects of the drugs used (Figure 1). In sheep treated with CIDR + eCG plasma P4 concentration was greater than 1 ng mL⁻¹ from day 0 to 11, characteristic of sheep with a functional *corpus luteum*. However, the highest concentrations were recorded from day 0 to day 5 (6-7.5 ng mL⁻¹). From day 6, progesterone levels were down to 2 ng mL⁻¹ on removing the device (day 11). A reduced exogenous P4 contribution in estrus synchronization can produce partial inhibition of the synthesis of GnRH in the hypothalamus and, therefore, a partial blockage of the synthesis and release of pituitary LH. This causes persistence of the dominant ovarian follicle and decrease in fertility (Viñoles *et al.*, 1999). The use of CIDR in hair sheep under tropical conditions, caused a higher contribution of progesterone in the first 6 d of treatment; therefore, it is feasible to develop short protocols of estrus synchronization based on P4, with 5 or 6 d duration of the CIDR insertion, as it occurs with synchronization systems implemented in wool sheep,

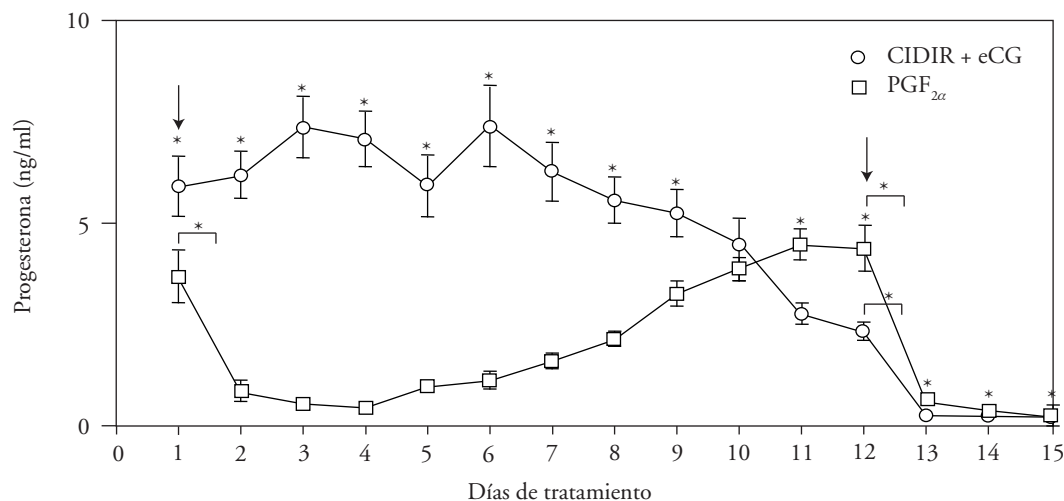


Figura 1. Concentraciones plasmáticas de progesterona en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR + eCG y prostaglandinas. (*) Diferencia estadística ($p \leq 0.05$). Las flechas indican inicio y término del tratamiento hormonal.

Figure 1. Plasma concentrations of progesterone in hair sheep synchronized with CIDR + eCG and prostaglandins. (*) Statistical difference ($p \leq 0.05$). Arrows indicate the beginning and end of the hormone treatment.

inhibir parcialmente la síntesis de GnRH en hipotálamo y por tanto, un bloqueo parcial de la síntesis y liberación de LH hipofisiaria. Esto causa persistencia del folículo ovárico dominante y disminución de la fertilidad (Viñoles *et al.*, 1999). El uso de CIDR en ovejas de pelo en condiciones tropicales causó un aporte mayor de progesterona los primeros 6 d de tratamiento; así, es factible desarrollar protocolos cortos de sincronización de estros con base en P4, con 5 o 6 d de duración de la inserción del CIDR, como con los sistemas de sincronización implementados en ovinos de lana, en latitudes altas (Ungerfeld y Rubianes, 2002). La disminución del aporte exógeno de la hormona, después del día seis, no justifica mantener 11 o 12 d el dispositivo vaginal.

En el día 12, 24 h después de retirar el CIDR, disminuyó ($p \leq 0.05$) la concentración de P4. Esta respuesta era esperada al eliminar la fuente exógena de la hormona. La concentración de P4 menor a 1 ng mL^{-1} es característica de ovejas en fase folicular e indica que del día 12 al 14 las hembras estuvieron en esta fase. Lo anterior coincide con la expresión del estro a las $22.2 \pm 2.2 \text{ h}$ después de retirar el CIDR. Este intervalo es menor al reportado por Fenton *et al.* (1997), quienes trataron ovejas con CIDR por 11 d durante la época reproductiva, y registraron que el estro ocurrió entre 33 y 34 h después de retirar los dispositivos. En contraste, la concentración de P4 en el grupo PGF_{2 α} confirmó el efecto luteolítico del cloprostenol (Figura 1). La concentración de P4 fue $3.7 \pm 0.65 \text{ ng mL}^{-1}$ el día 0 y 1 d y luego se redujo ($p \leq 0.05$) a $0.87 \pm 0.26 \text{ ng mL}^{-1}$. Es probable que la lisis de los cuerpos lúteos haya inducido fases foliculares entre los días 1 y 4. Los aumentos superiores a 1 ng mL^{-1} en la concentración plasmática de P4 pueden estar asociados a la formación de cuerpos lúteos nuevos, que podrían ser funcionales hasta el día 11, cuando se aplicó la segunda dosis de PGF_{2 α} y causó la disminución ($p \leq 0.05$) de la concentración de progesterona a 1 ng mL^{-1} . Esto se debió a la acción luteolítica del fármaco que permitió la inducción de una fase folicular nueva.

Todas las ovejas tratadas con dos inyecciones de PGF_{2 α} , presentaron cuerpo lúteo funcional al momento de administrar el fármaco, la regresión ocurrió después de la administración, y la ovulación fue de 24 a 36 h después del inicio del estro (Uribe-Velásquez *et al.*, 2010). En ovejas sincronizadas con dos dosis de prostaglandina, administrada con intervalo de

at high latitudes (Ungerfeld and Rubianes, 2002). The reduction of exogenous hormone after day six does not justify maintaining the vaginal device for 11 or 12 d.

On day 12, 24 h after the CIDR removal, there was a reduction ($p \leq 0.05$) of P4 concentrations. This response was expected when eliminating the exogenous source of the hormone. The P4 concentration below 1 ng mL^{-1} is characteristic of sheep in follicular phase, and indicates that from day 12 to 14 females were in this phase. This coincides with the expression of estrus at $22.2 \pm 2.2 \text{ h}$ after the CIDR removal. This interval is lower than that reported by Fenton *et al.* (1997) who treated sheep with CIDR for 11 d, during the breeding season, and recorded that estrus occurred between 33 and 34 h after the removal of devices. In contrast, the concentration of P4 in the group PGF_{2 α} confirmed the luteolytic effect of cloprostenol (Figure 1). P4 concentration was $3.7 \pm 0.65 \text{ ng mL}^{-1}$ on day 0 and 1, then decreased ($p \leq 0.05$) $0.87 \pm 0.26 \text{ ng mL}^{-1}$. It is likely that the lysis of the corpus luteum has induced follicular phases between day 1 and 4. Increases above 1 ng mL^{-1} in the plasma concentration of P4 may be associated with the formation of new corpora lutea, which may be functional until day 11, when the second dose of PGF_{2 α} was applied and led to a decrease ($p \leq 0.05$) of progesterone concentration to 1 ng mL^{-1} . This was due to the luteolytic action of the drug, which in turn allowed the induction of a new follicular phase.

All ewes treated with two shots of PGF_{2 α} had functional CL at the time of drug application and regression occurred after administration, and ovulation was 24 to 36 h after the onset of heat. (Uribe-Velásquez *et al.*, 2010). In ewes synchronized with two doses of prostaglandin, administered with an interval of 9 d (group 1) and vaginal insertion of CIDR for 14 d + 500 IU of eCG to remove the device (group 2), regardless of the synchronization program, P4 plasma concentrations decreased to less than 1 ng mL^{-1} 24 h after the treatment had ended (Uribe-Velásquez *et al.* 2008a). The former was similar to what we observed in this study. Clearly, the use of prostaglandin as synchronization method in female sheep in their estrus cycle is variable and they may respond differently to treatment. Therefore, a double injection protocol with an 11-day interval is suggested (Wildeus, 2000).

9 d (grupo 1) y con la inserción vaginal de CIDR por 14 d + 500 UI de eCG al retirar el dispositivo (grupo 2), independientemente del programa de sincronización, las concentraciones plasmáticas de P4 disminuyeron a menos de 1 ng mL⁻¹ 24 h después de concluir el tratamiento (Uribe-Velázquez *et al.*, 2008a). Lo anterior fue similar a lo observado en el presente estudio. Es evidente que aplicar prostaglandina como método de sincronización a ovejas, la fase del ciclo estral en la que se encuentran las hembras es variable y responden diferente al tratamiento. Por tanto, se recomienda un protocolo de doble inyección con intervalo de 11 d (Wildeus, 2000).

En el presente estudio, hubo diferencias ($p \leq 0.05$) en la concentración de P4 entre los tratamientos (Figura 1). Las concentraciones plasmáticas de P4 entre los tratamientos fueron diferentes ($p \leq 0.05$) del día 0 al 8 y del 10 al 14, lo que corresponde con la etapa fisiológica inducida (fase folicular y fase lútea), pero en el día 9 no hubo diferencias ($p > 0.05$) entre los grupos. También hubo diferencias ($p \leq 0.05$) dentro de los tratamientos en ambos grupos, entre los días 11 y 12 (Figura 1). Esto está asociado con el retiro del CIDR o la aplicación de la segunda dosis de cloprostenol. La concentración plasmática de P4 después de finalizar los tratamientos hormonales, en este estudio, coinciden con valores menores a 1 ng mL⁻¹ durante la fase folicular reportados por Scaramuzzi y Radford (1983) y Amiridis *et al.* (2005).

CONCLUSIONES

La sincronización de estros con progesterona o cloprostenol en ovejas de pelo induce respuestas reproductivas similares. En ovejas sincronizadas con progesterona + eCG, la concentración plasmática de progesterona mayor y constante fue del día 0 al 5 de tratamiento. Esto muestra la posibilidad de implementar protocolos cortos de sincronización en ovejas de pelo en latitudes ecuatoriales. Una doble aplicación de prostaglandinas con intervalo de 11 d sincroniza el estro en ovejas de pelo en condiciones tropicales.

AGRADECIMIENTOS

A PROMEP y PIFI-SEP, México, por el apoyo financiero otorgado y a la M.C. Clara Murcia, Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, por su colaboración en la realización de los análisis hormonales.

In this study, there were differences ($p \leq 0.05$) in the concentration of P4 between treatments (Figure 1). The P4 plasma concentrations were different between treatments ($p \leq 0.05$) from day 0 to 8 and 10 to 14, which corresponds to the induced physiological stage (follicular and luteal phase), but on day 9 there were no differences ($p > 0.05$) between groups. Also, there were differences ($p \leq 0.05$) in both treatment groups, between day 11 and 12 (Figure 1). This is associated with CIDR removal or the application of the second dose of cloprostenol. The plasma concentration of P4 after completing hormonal treatments in this study is consistent with values less than 1 ng mL⁻¹ during the follicular phase, reported by Scaramuzzi and Radford (1983) and Amiridis *et al.* (2005).

CONCLUSIONS

The synchronization of estrus with progesterone or cloprostenol in hair sheep induces similar reproductive responses. In ewes synchronized with progesterone + eCG, the highest and constant plasma progesterone concentration was from day 0 to 5 of the treatment. This shows the possibility of implementing short synchronization protocols in hair sheep at equatorial latitudes. A double application of prostaglandins with an interval of 11 d synchronize, estrus in hair sheep under tropical conditions.

—End of the English version—

-----*

LITERATURA CITADA

- Amiridis, G. S., I. Valasi, and I. Menegatos. 2005. Luteal stage dependence of pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone in cyclic dairy ewes subjected to synchronization of ovulation. *Reprod. Fert. Develop.* 17: 769-774.
- Arroyo, L. J., J. Gallegos-Sánchez, A. Villa-Godoy, J. M. Berruecos, G. Perera, and J. Valencia. 2007. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Anim. Reprod. Sci.* 102: 24-30.
- Arroyo, J. 2011. Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14: 829-845.
- Ben-Saïd, S. D. Lomet, D. Chesneau, L. Lardic, S. Canepa, D. Guillaume, C. Briant, C. Fabre-Nys, and A. Caraty. 2007. Differential estradiol requirement for the induction of estrus behavior and the luteinizing hormone surge in two breeds of sheep. *Biol. Reprod.* 76: 673-680.

- Bowen, J. M., G. E. Dahl, N. P. Evans, L. A. Thruns, Y. Wang, M. B. Brown, and F. J. Karsch. 1998. Importance of the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) surge for induction of the preovulatory luteinizing hormone surge of the ewe: dose-response relationship and excess of GnRH. *Endocrinology* 139: 588-595.
- Camacho-Ronquillo, J., J. C. Rodríguez-Castillo, J. E. Hernández-Hernández, A. Pro-Martínez, C. M. Becerril-Pérez, y J. Gallegos-Sánchez. 2008. Características reproductivas de ovejas pelibuey sincronizadas e inducidas a la pubertad. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 16: 18-24.
- Cambellas, B. J. 1993. Comportamiento reproductivo en ovinos tropicales. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 3: 135-141.
- Fenton, L. S., G. H. Shackell, M. L. Ramsay, K. G. Dodds, P. J. Reid, and B. J. Mcleod. 1997. Influence of year, age, and geographical location on induced oestrus in ewes early in the breeding season. *NZ J. Agric. Res.* 40: 69-74.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köpen. 4ta ed. UNAM, México. 220 p.
- González-Stagnaro, C. 1993. Control del ciclo estrual en ovejas y cabras en el medio tropical. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 3: 211-229.
- González-Stagnaro, C. 1993a. Comportamiento reproductivo de ovejas y cabras tropicales. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 3: 173-196.
- Gordon, I. 1997. Controlled Reproduction in Sheep and Goats. Vol. 2. CABI. Dublin, Ireland. 480 p.
- Hanrahan, J. P., and J. F. Quirke. 1975. Repeatability of the duration of oestrus and breed differences in the relationship between duration of oestrus and ovulation rate of sheep. *J. Reprod. Fertil.* 45: 29-36.
- Knights, M., R. Ramgattie, N. Siew, D. Singh-Knights, and G. Bourne. 2011. Effectiveness of a short-term treatment with progesterone injections on synchrony of lambing and fertility in tropical hair sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 126: 70-75.
- Kohn, H., C. Okamoto, K. Lida, T. Takeda, E. Kaneko, C. Kawashima, A. Miyamoto, and Y. Fukui. 2005. Comparison of estrus induction and subsequent fertility with two different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. *J. Reprod. Develop.* 51: 805-812.
- Martínez-Tinajero, J. J., M. T. Sánchez Torres-Esqueda, G. Torres-Hernández, J. G. Herrera-Haro, L. Bucio-Alanís, R. Rojo-Rubio, y J. Hernández-Martínez. 2008. Comportamiento reproductivo de ovejas F1 (Damara X Merino) sincronizadas con CIDR y dos tiempos de aplicación de GnRH. *Universidad y Ciencia* 24: 175-182.
- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academic Press, Washington, DC, USA. 362 p.
- Pulido, A., L. Zarco, S. Galina, C. Murcia, G. Flores, and E. Posadas. 1991. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 35: 965-975.
- Quirke, J., F., J. P. Hanrahan, and J. P. Gosling. 1979. Plasma progesterone levels throughout the oestrus cycle and release of LH at oestrus in sheep with different ovulation rates. *J. Reprod. Fertil.* 55: 37-44.
- Rodríguez-Castillo, J. C., A. Pro-Martínez, J., A. Villanueva, y J. Gallegos-Sánchez. 2010. Duración del celo y pico pre-ovulatorio de LH en cabras Boer x Nubia sincronizadas con diferentes hormonas en latitud tropical de México. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 2: 33-40.
- Romano, J. E. 1998. Effect of two doses of cloprostenol in two schemes of Oestrus synchronization in Nubian goats. *Small Ruminant Res.* 30: 99-103.
- Russell, A. 1984. Body condition scoring of sheep. In *Practice* 5: 91-93.
- Scaramuzzi, R. J., and H. M. Radford. 1983. Factors regulating ovulation rate in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 69: 353-367.
- Silva, M.B.D., R. Sartori, T. A. S. N. Silva, D. M. M. Cardoso, M. A. L. Oliveira, J. P. Neves. 2010. Estrus synchronization with protaglandin F2a compared to progesterone treatment associated with equine chorionic gonadotropin (eCG) in santa inês breed ewes reared in federal district, Brazil. *Ci. Anim. Bras.* 11: 417-424.
- Ungerfeld, R., and E. Rubianes. 2002. Short term primings with different progesterone intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Res.* 46: 63-66.
- Ungerfeld, R., and F. Sánchez-Davila. 2012. Oestrus synchronization in postpartum autumn-lambing ewes: effect of postpartum time, parity, and early weaning. *Span. J. Agric. Res.* 10: 62-68.
- Uribe-Velásquez, L. F., M. I. L. Souza, y A. M. Loaiza-Echeverri. 2008. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina-F2α vs CIDR + 500 UI de eCG en ovejas bergamacia durante el inicio de la fase luteal. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 8: 368-373.
- Uribe-Velásquez, L. F., E. Oba, y M. I. L. Souza. 2008a. Población folicular y concentraciones plasmáticas de P4 en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Arch. Med. Vet.* 40: 83-88.
- Uribe-Velásquez, L. F., E. Oba, M. I. L. Souza, M. Vélez-Marín, y A. Correa-Orozco. 2010. Desarrollo folicular en ovejas durante el ciclo estral natural e inducido con prostaglandinas. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 20: 417-421.
- 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.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 77: 1-14.