

REDUCCIÓN DE DOSIS DE ACETATO DE FLUOROGESTONA MEDIANTE PARTICIÓN DE ESPONJAS PARA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS

Dose Reduction of Fluorogestona Acetate Through Partition of Sponges for Estrus Synchronization in Ewes

José Luis Cordero-Mora¹, Teresa Sánchez-Torres Esqueda^{1*}, Pedro Molina-Mendoza², Rafael Nieto-Aquino¹, Jesús Peralta-Ortiz², Mario Cárdenas-León³, Octavio Mejía-Villanueva⁴, Lorenzo Olivares-Reyna⁵ y José Luis Figueroa-Velasco¹

¹ Orientación Ganadería. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. C.P. 56230.

Montecillo, Estado de México. *teresa@colpos.mx. ² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo.

³ Laboratorio de Biología de la Reproducción. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Tlalpan, México D.F. ⁴ Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Tres Marías, Municipio de Huitzilac. C.P. 62515.

⁵ Universidad Autónoma del Estado de México.

RESUMEN

Para determinar el efecto de la disminución de dosis administrada en esponjas intravaginales partidas, impregnadas de acetato de fluorogestona (FGA) sobre las principales variables reproductivas, concentraciones de hormona luteinizante (LH) y progesterona (P_4) se asignaron al azar 44 ovejas a cuatro tratamientos: en grupos de 11 ovejas, I: testigo con esponja completa, 40 mg FGA; II: con media esponja, 20 mg; III: un cuarto de esponja 10 mg; IV: un octavo de esponja, 5 mg de FGA. Las esponjas permanecieron por 12 días, todos los grupos recibieron 10 d después una dosis de 15 mg de prostaglandinas $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$). Los resultados fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS. No se encontraron diferencias ($P>0,05$) en la presentación e inicio del estro entre los grupos. El pico pre-ovulatorio de LH, sólo fue diferente en su amplitud ($P<0,05$), registrando $65 \pm 6,40$ ng mL⁻¹ para el grupo que recibió 5 mg de FGA comparado con los grupos con 40; 20 y 10 mg; $41 \pm 9,21$; $38 \pm 7,94$ y $23 \pm 4,68$ ng mL⁻¹, respectivamente. La concentración de P_4 no difirió entre grupos ($P>0,05$). El porcentaje de gestación fue menor ($P<0,05$) en el grupo de 5 mg (64%) respecto a los grupos de 40; 20 y 10 mg de FGA (100; 82 y 100%, respectivamente). Las dosis reducidas de 20 y 10 mg de FGA mediante la partición de las esponjas no modifican las variables reproductivas, las concentraciones séricas de P_4 y LH. La dosis de 5 mg de FGA disminuyó la amplitud de LH y

porcentaje de gestación, influyendo de forma negativa sobre la eficiencia reproductiva de las ovejas.

Palabras clave: Ovejas, Dorset, LH, FGA, progesterona.

ABSTRACT

To determine the effect of decreasing the dose in sponges impregnated with fluorogestone acetate (FGA) through the partition of the sponges, on estrous characteristics, concentration of luteinizing hormone (LH), progesterone (P_4) and gestation rate, 44 ewes were randomly assigned to the following treatments: I: Control group, a complete sponge, 40 mg FGA (n=11); II: half sponge group, 20 mg FGA (n=11); III: a quarter sponge group, 10 mg FGA (n=11); and IV: one eighth sponge group, with 5 mg FGA (n=11). Sponges remained inserted for 12 d and, 10 d after insertion, all groups received a 15 mg dose of prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$). Data were analyzed by using SAS program. There were no differences ($P>0.05$) in presentation and onset of estrous among groups. There were differences in pre-ovulatory LH peak amplitude ($P<0.05$) among groups with 65 ± 6.40 ng mL⁻¹ for 5 mg group, compared to 40, 20 and 10 mg of FGA groups, with (41 ± 9.21 ; 38 ± 7.94 and 23 ± 4.68 ng mL⁻¹, respectively). Progesterone concentrations were not different ($P>0.05$) between groups. Pregnancy rate was lower ($P<0.05$) in 5 mg group (64%), compared to 10, 20 and 40 mg of FGA groups (100, 82 and 100%, respectively). It is concluded that reducing doses of FGA to 20 and 10 mg by dividing the sponge, does not modify either presentation or onset of estrus nor alter LH and P_4 serum concentrations; how-

ever, 5 mg FGA reduced estrous duration and LH amplitude, decreasing pregnancy rate, therefore, a low dose of progesterin has a negative influence on fertility of the sheep.

Key words: Sheep, Dorset, LH, FGA, progesterone.

INTRODUCCIÓN

Un método eficaz de sincronizar el estro en ovejas (*Ovis aries*) es a través del control en la fase luteal del ciclo estral proveyendo progesterona exógena, aplicando de forma tradicional esponjas de poliuretano impregnadas de acetato de medroxi-progesterona (MAP) o acetato de fluorogestona (FGA) [35]. El acetato de fluorogestona fue sintetizado en 1959 y se le identificó como SC-9880 (17 α -acetoxy-9- α Fluor-11 β -hydroxi-pregn-4-en-3,20-dione) presentando una actividad semejante a la progesterona, pero siendo de 20 a 25 veces más potente [28]. Su uso para el control del ciclo estral en ovejas fue descrito y probado por Robinson [25]. Robinson y col. impregnaron esponjas con 10; 20 y 30 mg de FGA para probar la efectividad del compuesto [26] y observaron en ovejas que la presentación de estro y fertilidad fueron satisfactorios para dosis de 30 mg, con un 47,5% de absorción, lo cual fue menor a la registrada por esponjas con menores dosis de progestágeno, en donde se incrementó el porcentaje de absorción. Esos hallazgos fueron confirmados por Simonetti y col. [29] quienes evaluaron que, esponjas impregnadas con 60 mg de MAP tuvieron aproximadamente 50% de liberación del progestágeno. Por otra parte se observó que, el disminuir la dosis de MAP impregnada en la esponja no tiene efecto negativo en la presentación, intervalo al inicio de estro y tasa de preñez [30]. En un estudio realizado por Greyling y col. [12] mencionan que, la disminución de dosis de MAP por medio de la partición de esponjas es un método efectivo en la sincronización de estro durante la estación reproductiva, no encontrando un efecto negativo en las variables reproductivas entre una esponja completa de 60 mg de MAP y la mitad de una esponja con una dosis aproximada de 30 mg.

En la actualidad existe un desafío derivado de la demanda de productos de origen animal con una tendencia a reducir los tratamientos químicos y hormonales disminuyendo los costos de producción y mejorando la productividad [20]. El presente experimento tuvo como objetivo valorar la respuesta reproductiva con la reducción en la dosis del progestágeno mediante la partición de las esponjas (FGA de 40 mg a 20; 10 y 5 mg) sobre la sincronización y su influencia en el inicio y duración del estro, así como los cambios en la concentración en suero de la hormona luteinizante (LH) y progesterona (P₄), durante la época reproductiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó del 10 de octubre al 20 de diciembre 2008, en la granja experimental del Colegio de Postgraduados, localizada en Montecillo, estado de México, a 98°

53' O y 19° 29' N, a 2241 msnm. El clima es templado subhúmedo con una precipitación media anual de 632,5 mm durante el verano, y una temperatura anual entre 12 y 18°C [10].

Se utilizaron 44 ovejas de la raza Dorset de un año y medio de edad, con un peso vivo promedio de 45 \pm 3,2 kg y una condición corporal de 3,5 en escala de 1 a 5 [27], las cuales se mantuvieron estabuladas y alimentadas *ad libitum* con heno de avena (*Avena sativa*) y 800 g de alimento comercial conteniendo 2,4 Mcal kg⁻¹ de energía metabolizable y 14% de proteína cruda.

Las ovejas fueron distribuidas aleatoriamente para la sincronización del estro en los siguientes grupos: I Grupo Testigo (n= 11): tratadas con esponjas intravaginales de poliuretano, impregnadas con 40 mg de acetato de fluorogestona (FGA, Chronogest[®], Intervet); Grupo II (n=11): ovejas que recibieron la mitad de una esponja impregnada con 40 mg de FGA (20 mg aproximadamente); Grupo III (n=11): ovejas tratadas con una cuarta parte de una esponja impregnada con 40 mg de FGA (10 mg, aproximadamente); Grupo IV (n=11): ovejas que recibieron la octava parte de una esponja impregnada con 40 mg de FGA (5 mg, aproximadamente).

El corte en las esponjas de 40 mg de FGA se realizó con una tijera en forma transversal de la esponja, dividiéndola primero en dos partes iguales (quedando en cada mitad aproximadamente 20 mg), posteriormente cada mitad fue dividida nuevamente para obtener un cuarto (con 10 mg, aproximadamente) y después un octavo (5 mg, aproximadamente), conservando su estructura circular, con la finalidad de que ésta pudiera ejercer presión sobre las paredes de la vagina y evitar que la esponja fuera expulsada por las contracciones uterinas.

Las esponjas se insertaron el mismo día para todos los grupos y se mantuvieron durante 12 días. Para la inserción de las esponjas se utilizó el mismo aplicador (Chronogest[®], Intervet), el cual fue previamente desinfectado con 2 mL de solución de florfenicol (Furacine[®], Pisa) antes de ser insertado vía vaginal en cada oveja. Dos días antes del retiro de la esponja se aplicó, vía IM, una dosis de 15 mg de PGF_{2 α} (Lutalyse[™] Pfizer), para inducir luteólisis del cuerpo lúteo que estuviera presente y de esta manera sincronizar la ovulación de los distintos grupos.

La detección del estro se inició 24 h después del retiro de la esponja con ayuda de machos enteros con mandil; posteriormente se monitoreó el comportamiento del estro cada 4 h, durante 72 h, para determinar la duración y término del estro. Las hembras recibieron monta directa de machos con fertilidad probada, en total se utilizaron 12 sementales, distribuyendo 3 machos por cada 11 hembras de cada tratamiento, cada oveja se apareó mínimo dos veces en intervalos de 12 h. El retorno al estro se detectó de 15 a 18 días posteriores al apareamiento, dos veces al día (mañana y tarde). El diagnóstico de gestación se confirmó a 30 días utilizando un equipo de ultrasonido Sonovet 600 con un transductor de 7,5 MHz, por vía transrectal (Medison, Inc., Cypress, California, EUA).

Toma de muestras y análisis hormonal

Las muestras de sangre (5 mL) fueron colectadas mediante punción de la vena yugular para todas las ovejas de los grupos experimentales. Para determinar la concentración de P₄ en suero, las muestras se colectaron al momento de insertar las esponjas impregnadas con FGA, y posteriormente cada 48 h durante el ciclo estral sincronizado (12 días) y hasta 26 d después de la presentación del estro sincronizado. Para determinar LH, se colectaron 24 h después de retirar las esponjas, tomando muestras cada 4 h durante 3 d. Todas las muestras se centrifugaron durante 15 min a 1500 X g en una centrifuga (IEC Centra 8R, International Equipment Company, EUA); el suero sanguíneo fue separado y almacenado en tubos de polipropileno para su conservación a -20°C en un congelador (Tappan EUR251P7W, Electrolux Home Products North America, EUA) hasta realizar el análisis hormonal.

Los análisis de P₄ se realizaron mediante ensayo inmunoenzimático (Immunometrics, UK Ltd, 280 Muster Road, London SW6 6BQ). El análisis se realizó en el laboratorio de Biología de la Reproducción en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". La sensibilidad analítica fue de 0,13 ng mL⁻¹ con coeficiente de variación intra e inter ensayo de 9,59 y 13,70%, respectivamente. Los análisis de LH se realizaron por radioinmunoanálisis (RIA) de doble anticuerpo [23]; la sensibilidad fue de 0,78 ng mL⁻¹, con coeficientes de variación intra e inter ensayo de 9,5 y 13,3%. El inicio y duración del pulso preovulatorio de LH se obtuvieron mediante la técnica de Van Cleeff y col. [34] y la amplitud del pulso preovulatorio del LH según Mattioli y col. [21].

Análisis estadístico

Se realizó un diseño completamente al azar, en donde cada oveja representó una unidad experimental. El porcenta-

je de presentación de estros y gestación fueron analizadas a través de la prueba de χ^2 por medio del PROC FREQ del paquete sistema de análisis estadístico (SAS, por sus siglas en Ingles). Para inicio y duración de estro, inicio, duración y amplitud del pico pre-ovulatorio de LH se realizó un análisis de varianza por medio del PROC GLM y la prueba de Tukey [32] para analizar diferencias entre medias de tratamiento. Para la concentración de P₄ en suero sanguíneo se realizó un análisis de varianza de mediciones repetidas a través del tiempo por medio del procedimiento PROC MIXED del SAS, el cual incluyó efectos fijos del tratamiento y día, e interacción de ambos. Para este procedimiento, la estructura de covarianza fue modelada usando el efecto de la oveja dentro del grupo, determinándose para la presente variable usar la estructura autoregresiva de primer orden (AR 1) para determinar la correlación entre las mediciones secuenciales dentro del mismo animal [19]. Valores medios fueron comparados por el método de medias de mínimos cuadrados [14].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presentación, inicio y duración del estro

No se observaron diferencias (P>0,05) en el porcentaje de animales que presentaron estros, registrándose 100% de estros para los grupos de 40; 20 y 10 mg de FGA, mientras que para el grupo de 5 mg de FGA fue de 81%. El inicio de estro no fue afectado (P>0,05) por las dosis del progestágeno de 40; 20; 10 y 5 mg de FGA, posterior al retiro de la esponja. Sin embargo, la duración del estro fue diferente (P<0,05) entre el grupo que recibió una dosis de 40 mg de FGA en comparación a los grupos que recibieron una dosis menor (20; 10 y 5 mg de FGA); se observó para el caso del grupo con la mayor dosis una duración promedio del estro muy superior en relación a los demás grupos (TABLA I).

TABLA I
RESPUESTA REPRODUCTIVA EN OVEJAS SINCRONIZADAS AL ESTRO CON DOSIS REDUCIDAS DE ACETATO DE FLUOROGESTONA (FGA) MEDIANTE LA PARTICIÓN DE ESPONJAS

Variables reproductivas	Tratamientos			
	Grupo I (n=11)	Grupo II (n=11)	Grupo III (n=11)	Grupo IV (n=11)
Presentación del estro (%)	100 (11/11)	100 (11/11)	100 (11/11)	81 (9/11)
Inicio del estro (h) ^{†1}	43 ± 2,68	47 ± 5,18	38 ± 4,25	36 ± 3,03
Duración del estro (h) ^{†2}	41 ± 1,55 ^a	22 ± 3,89 ^b	24 ± 3,25 ^b	25 ± 2,67 ^b
Inicio de la elevación de LH (h) ^{†1}	49 ± 3,77	47 ± 5,43	43 ± 6,59	41 ± 2,61
Duración del pico de LH (h) [†]	4 ± 0,4	5 ± 0,6	4 ± 0,0	5 ± 1,0
Amplitud del pico de LH (ng mL ⁻¹) [†]	41 ± 9,21 ^b	38 ± 7,94 ^b	23 ± 4,68 ^b	65 ± 6,40 ^a
Gestantes (%) ³	100 ^a (11/11)	82 ^a (9/11)	100 ^a (11/11)	64 ^b (7/11)

Grupos: I= Testigo, esponja completa (40 mg FGA); II= ½ esponja (20 mg FGA aprox.); III= ¼ esponja (10 mg FGA aprox.); IV= 1/8 esponja (5 mg FGA aprox.). ¹ Tiempo referido al retiro de la esponja de FGA. ² Diferencia del tiempo en que la hembra acepta al macho y lo rechaza completamente. ³ Basado en los perfiles de P₄ en suero y ultrasonografía en el día 30. ^{a, b}: Valores con distinta literal entre columnas son diferentes (P<0,05). [†] Medias ± error estándar.

En el presente experimento se observó que el 100% de las ovejas tratadas en los grupos con dosis mayores a 10 mg de FGA presentaron estro y sólo en la dosis de 5 mg fue de 81%; se esperaba que la presentación de estros en los grupos con dosis de 10 y 5 mg fuera menor debido a que la cantidad de FGA impregnada en la esponja era menor a la recomendada; sin embargo, bajo condiciones experimentales, la esponja impregnada con 10 mg se comportó de manera similar a la de 40 y 20 mg de FGA. Robinson y col. [26] reportan una presentación de estros de 73,3%, en ovejas tratadas con 10 mg de FGA, lo cual es menor a lo observado para la misma dosis en el presente experimento; este resultado es similar a lo obtenido utilizando la dosis de 5 mg, lo que permite destacar que en la presente investigación fue útil y suficiente el método de disminuir la dosis, partiendo la esponja y colocándola durante 12 días en la oveja, a diferencia de ellos que impregnaron esponjas del mismo tamaño con menor dosis y fueron colocadas en la oveja por un periodo de 8 días.

En otro estudio, Greyling y col. [12] redujeron la dosis MAP, partiendo la esponja por la mitad; y no observaron diferencias significativas en la presentación del estro, obteniendo el 95% para la esponja entera impregnada con 60 mg, y 97% al ser comparada con la esponja partida a la mitad (dosis aproximada de 30 mg), de esa manera se demostró que, la disminución de la dosis vía partición de esponja puede ser tan efectiva como una dosis completa de MAP (60 mg) en ovejas que se encuentran ciclando. Confirmando esos hallazgos, Iglesias y col. [16], tampoco observaron diferencias en disminuir la dosis de MAP, durante la inserción de la esponja por nueve días, en ovejas fuera de la estación reproductiva, obteniendo para las dosis de 15; 30; 45 y 60 mg una presentación de estros de 90; 98; 94 y 87%, respectivamente, demostrando que la disminución de dosis no influyó en la presentación del estro. Respecto al uso de 20 mg de FGA, Zonturlu y col. [38] encontraron un 84% de presentación de estro, lo cual contrasta con lo obtenido en el presente experimento para la dosis de 20 mg; esa diferencia puede ser debido a que el estudio de Zonturlu y col. se realizó en la transición de época no reproductiva a época reproductiva. En lo referente a la dosis de 40 mg existen coincidencias con otros estudios los cuales reportan alrededor de 90 [9, 22] y 100% de presentación de estros [7].

En relación con el inicio del estro, no se observaron diferencias entre grupos, obteniendo resultados que se encuentran en un intervalo de tiempo de 36 a 47 h después del retiro de la esponja; al utilizar las dosis de 10 y 5 mg de FGA, se encontró un intervalo menor, aunque sin ser diferentes estadísticamente. Se esperaba que al utilizar menor dosis de FGA, la presentación de estro fuera más rápida debido a que la función del progestágeno es evitar el desencadenamiento de la liberación de GnRH y con ello de las gonadotropinas. El tiempo de inicio de estro hallado para la dosis de 40 mg concuerda con el obtenido en el estudio realizado por Zonturlu y col. [38], quienes reportan un inicio de estro a 45 h después de retirado el progestágeno con una dosis de 20 mg de FGA; sin embar-

go, contrastan con los resultados obtenidos por Kridli y col. [17], quienes encontraron como inicio del estro una media de 55 h después del retiro de la esponja. Este ensayo, al igual que los reportes anteriores, fue realizado en época de transición de anestro a época reproductiva.

En referencia a la duración del estro, el grupo tratado con 40 mg de FGA presentó una mayor duración respecto a las dosis de 20; 10 y 5 mg de FGA; en el caso de estas tres últimas dosis, las duraciones son similares a los resultados obtenidos por Zonturlu y col. [38], en ovejas tratadas con 20 mg de FGA en la transición de anestro a época reproductiva; y también concuerda con los resultados de Das y col. [8] y Zeleke y col. [36]. Sin embargo, contrastan con los resultados obtenidos por otros autores [13, 33], quienes reportan duraciones del estro de 31,87 y 34,91 h usando una dosis de 30 mg de FGA, las cuales se aproximan a la duración de estro con una dosis de 40 mg. Esto puede deberse a la poca o casi nula presencia de P_4 en la época de anestro y la pequeña dosis de FGA utilizada para la sincronización del estro, pues se ha demostrado que la P_4 es esencial para la expresión de la retroacción positiva del estradiol sobre el pulso de GnRH, estimulando la magnitud del pulso de GnRH y favoreciendo la manifestación de la conducta estral [6].

Concentración de progesterona (P_4)

La concentración promedio de P_4 detectada en suero no fue diferente entre grupos ($P>0,05$) durante la fase de sincronización por la esponja impregnada con FGA, ni tampoco durante el subsecuente estro sincronizado (FIG. 1).

La secreción de P_4 no fue afectada por la partición de las esponjas, manteniéndose en los niveles promedio reportados para la fase lútea [1, 15], mientras que en la fase estral, los niveles se presentaron por debajo de 1 ng mL^{-1} coincidiendo con los resultados reportados por Greyling y col. [12]. Las concentraciones de P_4 mayores a 1 ng mL^{-1} son debido a la presencia de un cuerpo lúteo funcional al momento de la inserción de la esponja [3], se ha señalado que la inserción de la esponja impregnada con FGA no afecta la producción de P_4 por parte del cuerpo lúteo, y la única forma posible de afectar su producción y vida media sería por la inserción de la esponja en los inicios de la fase lútea debido a que en esta etapa el cuerpo lúteo no secreta suficiente P_4 para una vida media normal, sin embargo lo hace susceptible a una lisis por la secreción temprana de $\text{PGF}_{2\alpha}$ [1].

En un estudio realizado por Gaston-Parry y col. [11], mencionan que al momento de la inserción, los niveles de FGA en plasma aumentan a una concentración de 3 ng mL^{-1} para luego disminuir hasta llegar a una concentración de $1,1 \text{ ng mL}^{-1}$ al día 12, momento en el cual se retira la esponja; aunque estudios realizados por Robinson y col. [26] mencionan que la cantidad de FGA residual en esponja de 30 mg es de 13,4 mg. Por otra parte Zhou y Wu [37] encontraron que los factores que influyen en la tasa de liberación de la hormona son el área de superficie del dispositivo y la resistencia de la espuma de poliuretano, así como la cantidad del ingrediente

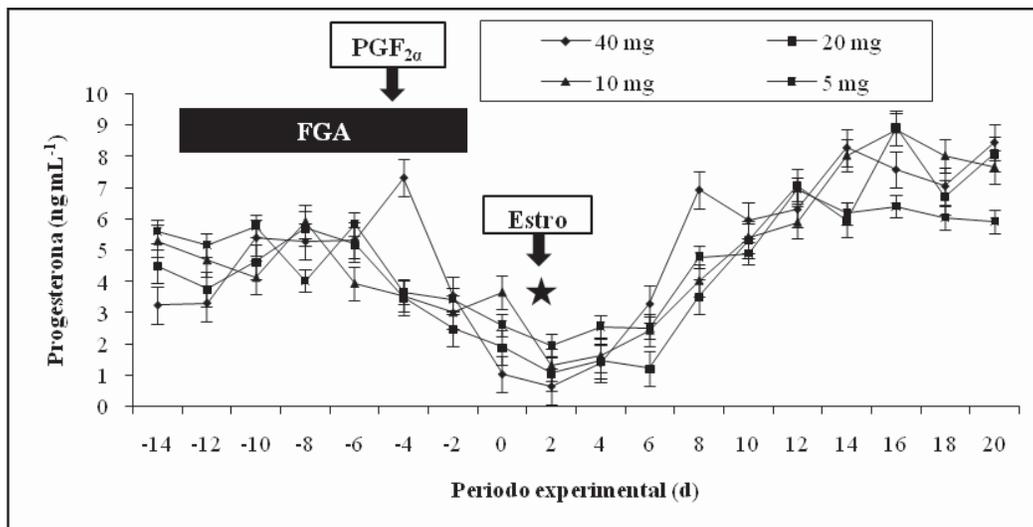


FIGURA 1. CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA (MEDIA ± ERROR ESTÁNDAR) DURANTE EL TRATAMIENTO DE SINCRONIZACIÓN DE ESTRO CON ESPONJAS IMPREGNADAS CON ACETATO DE FLUOROGESTONA (40; 20; 10 Y 5 mg) Y SUBSECUENTE FASE LÚTEAL.

activo impregnado y el área de superficie del dispositivo. No obstante en diversos estudios se ha reducido la dosis del progestágeno en esponjas impregnadas con FGA y MAP sin mostrar alteraciones en la respuesta reproductiva [12, 16, 26].

Caracterización del pulso pre-ovulatorio de LH

El inicio de elevación de LH no fue diferente ($P>0,05$) para los grupos de 40; 20; 10 y 5 mg de FGA, después de la extracción de la esponja. En relación con la duración de la descarga pre-ovulatoria de LH no se observaron diferencias ($P>0,05$) entre grupos (40; 20; 10 y 5 mg de FGA). Sin embargo, la amplitud de LH fue diferente ($P<0,05$) entre el grupo con una dosis de 5 mg de FGA, el cual registró una amplitud mayor en comparación a los grupos con 40; 20, y 10 mg de FGA (TABLA I).

El inicio y la duración del pico pre-ovulatorio de LH, no difirió entre grupos, por lo que estos resultados son similares a lo reportado por Ainsworth y col. [2], quienes utilizaron una dosis de 40 mg de FGA por 12 días, sin embargo, estos autores encuentran diferencias con la aplicación de 500 UI de eCG y reportan un inicio de la elevación de LH en 34,5 h. Esto es semejante a los resultados presentados por Quirke y col. [24], al aplicar 500 UI de eCG con un inicio en la elevación de LH de 37,6 h; aunque Fukui y col. [9] reportan un inicio a las 24,7 h después del retiro de la esponja con FGA. Los resultados contradictorios con lo obtenido en esta investigación, posiblemente se justifica por las propiedades de LH y FSH de la eCG, lo que adelantó el desarrollo del folículo pre-ovulatorio y, por ende, la temprana secreción de LH.

Referente a la duración del pulso pre-ovulatorio, no se observaron diferencias entre grupos. Los resultados del presente experimento son similares a lo reportado por Quirke y col. [24] quienes encontraron una duración del pico pre-ovulatorio de 8,1 h en promedio en ovejas adultas. Por su parte,

Ainsworth y col. [2], también reportan valores similares (10 h) sin utilizar eCG; no obstante, contrastan con los obtenidos por Batista y col. [4], quienes observaron una duración de la amplitud de 14 y 12 h en ovejas canarias. La duración en el pico pre-ovulatorio de LH puede ser afectado por factores como la raza, la edad, la dosis y tipo de progestágeno utilizado en la sincronización del estro, incluso por la condición corporal y estado nutricional del animal [24], no obstante en la presente investigación todas las ovejas que mostraron estro presentaron el pico pre-ovulatorio.

La amplitud del pico pre-ovulatorio de LH fue diferente ($P<0,05$) entre las dosis de 5 mg en comparación a los grupos de 40, 20 y 10 mg de FGA. El resultado para la dosis de 5 mg es similar a la obtenida por Batista y col. [4], quienes reportan una concentración de $56,25 \text{ ng mL}^{-1}$, mientras los demás grupos difieren de lo reportado por estos autores. Sin embargo existen reportes de concentraciones de LH mayores a 100 ng mL^{-1} [4] o cercanos a los 100 ng mL^{-1} , mientras otros autores obtienen concentraciones de 17 ng mL^{-1} [12] y $21,3 \text{ ng mL}^{-1}$ [5] las cuales son similares a las obtenidas por los grupos de 40, 20 y 10 mg de FGA.

Skinner y col. [31], mencionan que existe un efecto de la P_4 en la secreción del pico pre-ovulatorio de LH, debido a que la duración y nivel de secreción de la P_4 ejercen una acción sobre los mecanismos dependientes de estradiol que regulan la elevación de LH; por lo que, la habilidad de la P_4 para regular el tiempo del pico de LH podría ser importante en el control de la fertilidad, no obstante una baja secreción de P_4 o corta duración de la fase lútea causaría una elevación prematura de LH y posiblemente esto sería insuficiente estímulo para un adecuado desarrollo folicular.

En el presente experimento, la amplitud del pico pre-ovulatorio fue mayor en las ovejas tratadas con la menor dosis

(5 mg) de FGA, lo que pudo haber influido sobre la secreción pulsátil de LH afectando el desarrollo folicular y, por lo tanto, la retroacción positiva del estradiol fue insuficiente para limitar la amplitud del pico de LH.

Gestación

No se observaron diferencias ($P>0,05$) en porcentaje de gestación para las ovejas que recibieron una dosis de 40; 10 y 20 mg de FGA (100; 100 y 82%, respectivamente); sin embargo, el grupo tratado con 5 mg de FGA (64%) fue menor ($P<0,05$) a los demás grupos. El porcentaje de pariciones no varió debido a que todas las ovejas positivas al diagnóstico de gestación llegaron al término de la misma.

El porcentaje de gestación del grupo de 20 mg de FGA coincide con los obtenidos por Moeni y col. [22] y Camacho y col. [5], pero contrastan con los reportados por Robinson y col. [26] y Zonturlu y col. [38]. El mayor porcentaje de gestación obtenido en el presente experimento puede estar relacionado con la presencia de un cuerpo lúteo funcional durante el periodo de inserción de la esponja, el cual secretó la cantidad suficiente de P_4 para proveer las condiciones fisiológicas necesarias para la ovulación y la preparación del endometrio para la implantación del embrión, además, la dosis exógena de la P_4 posiblemente evitó la lisis del cuerpo lúteo, como ha sido reportado en algunos estudios respecto al efecto de los progestágenos en la duración de la fase lútea [1, 11].

Sin embargo, Letelier y col. [18] mostraron que esponjas impregnadas con 20 mg de FGA no afectan la dinámica folicular ni las concentraciones de estradiol y P_4 . De igual forma, en otros estudios [16, 30] no se observaron diferencias en la tasa de preñez al reducir la dosis utilizando otro progestágeno como el MAP.

Por otra parte, es posible que la dosis de 5 mg de FGA fuera insuficiente para desencadenar los eventos endocrinos necesarios para una ovulación, puesto que este tratamiento presentó una corta duración del estro ($25 \pm 2,67$ h) y una mayor amplitud del pico de LH ($65 \pm 6,40$ ng mL⁻¹); posiblemente debido a la baja concentración de P_4 , la cual no generó la suficiente retroacción positiva del estradiol y, por lo tanto, causó un inadecuado desarrollo folicular [31]. No obstante, se prueba la hipótesis de que la P_4 , ya sea en su forma natural o sintética, tiene una función relevante en la respuesta reproductiva de la oveja, y que el manipularla puede derivar en una baja en la fertilidad de la hembra.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se realizó este estudio se concluye que, la disminución de dosis recomendada de 40 mg a 20 y 10 mg de FGA mediante la partición de la esponja, no altera la respuesta en la presentación e inicio del estro, tampoco modifica el inicio, la duración y la amplitud del pico de LH, además de la concentración de P_4 en suero. La

dosis de 5 mg de FGA acorta la duración del estro y causa variabilidad en la amplitud de LH, lo que reduce el porcentaje de gestación, influyendo negativamente en la fertilidad de la oveja. Por lo tanto, la partición en $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$ de esponja, es recomendable para la sincronización del estro en ovejas durante la época reproductiva, lo cual disminuye los costos de producción, reduce el uso de fármacos hormonales en el animal y contaminantes en el medio ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AINSWORTH, L. Effects of norgestomet-implants and fluogestone acetate-impregnated sponges on oestrus cycle length and luteal function of ewes. **Anim. Reprod. Sci.** 9: 63-73. 1985.
- [2] AINSWORTH, L.; LACHANCE, R.; LABRIE, F. Effects of progestagen treatments and PMSG on the induction of the preovulatory LH discharge in ewes. **Anim. Reprod. Sci.** 5: 281-286. 1983.
- [3] BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A.P.; RAWLING, C.N. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. **Theriogenol.** 52: 115-130. 1999.
- [4] BATISTA, A.M.; GONZÁLES, F.; GRACIA, M. Follicular quality and hormonal relationship (LH and progesterone) during the follicular phase of the oestrous cycle in the canarian ewe. **Reprod. Dom. Anim.** 33: 325-330. 1998.
- [5] CAMACHO, R.J.C.; RODRIGUEZ, J.C.; HERNÁNDEZ, J.E.H.; PRO, A.M.; BECERRIL, C.M.P.; GALLEGOS, J.S. Características reproductivas de ovejas pelibuey sincronizadas e inducidas a la pubertad. **Arch. Latinoam. Prod. Anim.** 16: 18-24. 2008.
- [6] CARATY, A.; SKINNER, D. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. **Endocrinol.** 140: 165-170. 1999.
- [7] CROSBY, T.F.; BOLAND, M.P.; GORDON, I. Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. **Anim. Reprod. Sci.** 24: 109-118. 1991.
- [8] DAS, K.G.; NAQUI, K.M.S.; GULYANI, R.; PAREEK, R.S.; MITTAL, P.J. Effect of 2 doses of progesterone on estrus response and fertility in acycling crossbred Bharat Merino ewes in a semi-arid tropical environment. **Small Rum. Res.** 37: 159-163. 2000.
- [9] FUKUI, Y.; ISHIKAWA, D.; ISHIDA, N.; OKADA, M.; ITAGAKI, R.; OGISO, T. Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four different intravaginal devices during the breeding season. **J. Reprod. Dev.** 45: 337-343. 1999.

- [10] GARCÍA, E. Distribución de los grupos climáticos de Köppen en México. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (Para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Primera parte. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. 4a Ed. México D.F. 217 pp.1988.
- [11] GASTON-PARRY, O.; HEASMAN, K.; NEMORIN, J.K.E.; ROBINSON, T.J. A radioimmunoassay for fluorgestone acetate (FGA) and its application to the measurement of plasma FGA and progesterone in ewes treated with FGA- impregnated intravaginal sponges. **Aust. J. Biol. Sci.** 41: 57-67. 1988.
- [12] GREYLING, J.P.C.; ERASMUS, J.A.; TAYLOR, G.J.; VAN DER MERWE, S. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. **Small Rum. Res.** 26: 137-143. 1997.
- [13] HASHEMI, M.; SAFDARIAN, M.; KAFI, M. Estrous response to synchronization of estrous using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. **Small Rum. Res.** 65: 279-283. 2006.
- [14] HERRERA, H.J.G.; BARRERAS, S.A. Diseño con mediciones repetidas. **Análisis de medidas repetidas usando el PROC MIXED de SAS.** Cap. 7. 2da Ed. México. Manual de procedimientos: Analisis estadístico de experimentos pecuarios.215 pp. 2005.
- [15] HUSEIN, M.Q.; ABABNEH, M.M.; ABU-RUMAN, D.S. The effects of short or long term FGA treatment with o without eCG on reproductive performance of ewes bred out-of-season. **Am. J. Anim. Vet. Sci.** 2: 23-28. 2007.
- [16] IGLESIAS, R.M.R.; CICCIOLOI, N.H.; IRAZOQUI, H. Ram-induced reproduction in seasonally anovular corridale ewes: MAP doses for oestrous induction, ram percentages and post-mating progestagen supplementation. **Anim. Sci.** 64:119-125. 1997.
- [17] KRIDL, R.T.; HUSEIN, M.Q.; HUMPHREY, W.D. Effect of royal jelly and GnRH on the estrus synchronization and pregnancy rate in ewes using intravaginal sponges. **Small Rum. Res.** 49: 25-30. 2003.
- [18] LETELIER, C.A.; CONTRERAS, I.; GARCÍA, R.A.; ARIZNAVARRETA, C.; TRESGUERRES, J.A.F.; FLORES, J.M.; GONZALEZ, A. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are no significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. **Theriogenol.** 71: 676-682. 2008.
- [19] LITTELL, R.C.; PENDERGAST, J.; NATARAJAN, R. Modelling covariance structure in the analysis of repeated measures data. **Statist. Med.** 19:1793-1819. 2000.
- [20] MARTIN, G.B.; MILTON, J.T.B.; DAVIDSON, R.H.; BANCHERO-HUNZICKER, G.E.; LINDSAY, D.R.; BLACHE, D. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. **Anim. Reprod. Sci.** 82: 231-245. 2004.
- [21] MATTIOLI, M.; CONTE, F.; GALEATI, G.; SEREN, E. Effect of naloxone on plasma concentration of prolactin and LH in lactating sows. **J. Reprod. Fert.** 76 (1): 167-173. 1986.
- [22] MOEINI, M.M.; MOGHADDAM, A.A.; BAHIRALE, A.; HAJARIAN, H. Effects of breed and progestin source on estrus synchronization and rates of fertility and fecundity in Iranian Sanjabi and Lori ewes. **Pak. J. Biol. Sci.** 10: 3801-3807. 2007.
- [23] NISWENDER, G.D.; REICHERT, L.E.; MIDGLEY, A.R.; NALBANDOV, A.V. Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormone. **Endocrinol.** 84: (5) 1166-1173. 1969.
- [24] QUIRKE, J.F.; HANRAHAN, J.P.; GOSLING, P.J. Duration of oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total oestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lambs. **J. Reprod. Fert.** 61:265-272. 1981.
- [25] ROBINSON, T.J. Use of progestagen-impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrous cycle in the sheep. **Nature.** 206: 39-41. 1965.
- [26] ROBINSON, T.J.; QUINLIVAN, T.D.; BAXTER, C. The relationship between dose of progestagen and method of preparation of intravaginal sponges on their effectiveness for the control of ovulation in the ewe. **J. Reprod. Fert.** 17: 471-483. 1968.
- [27] RUSSEL, A.J.F.; DONEY, J.M.; GUNN, R.G. Subjective assessment of body fat in live sheep. **J. Agric. Sci.** 72: 451-454. 1969.
- [28] SCHELTON, J.N. Identification of progestagens of high activity for the control of the oestrous cycle in the sheep. **Nature.** 206:156-158. 1965.
- [29] SIMONETTI, L.; GARDÓN, J.C; RAMOS, G. Residual levels on medroxyprogesterone acetate (MAP) impregnated sponges after estrus synchronization treatment in cyclic ewes. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 36.(5):01-08. 1999.
- [30] SIMONETTI, L.; BLANCO, M.R.; GARDÓN, J.C. Estrus synchronization in ewes treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. **Small Rum. Res.** 38: 243-247. 2000.
- [31] SKINNER, D.C.; HARRIS, T. G.; EVANS, N. P. Duration and amplitude of the luteal phase progesterone increment times the estradiol-induced luteinizing hormone surge in ewes. **Biol. Reprod.** 63: 1135-1142. 2000.
- [32] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). SAS User's Guide: Statistics Cary, N.C. U.S.A. 584 pp. 1982.

- [33] USTUNER, B.; GUNAY, U.; NUR, Z.; USTENER, H. Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi Ewes during the breeding season. **Acta Vet. Brno.** 76: 391-397. 2007.
- [34] VAN CLEFF, J.; KARSH, F.J.; PADMANABHAN, V. Characterization of endocrine events during the periestrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. **Dom. Anim. Endocrinol.** 15 (1): 23-34. 1998.
- [35] WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. **J. Anim. Sci.** 77: 1-14. 2000.
- [36] ZELEKE, M.; GREYLING, J.P.C.; SCHWALBACH, L.M.J.; MULLER, T.; ERASMUS, J.A. Effect of progestagen and PMSG on oestrus synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. **Small Rum. Res.** 56: 47-53. 2005.
- [37] ZHOU, Y.; WU, X.Y. Finite element analysis of diffusional drug release from complex matrix systems. I. Complex geometries and composite structures. **J. Contr. Rel.** 49: 277-288. 1997.
- [38] ZONTURLU, A.K.; ARAL, F.; OZYURTLU, N.; YAVUZER, U. Synchronization of estrus using FGA and CIDR intravaginal pessaries during the transition period in awassi ewes. **J. Anim. Vet. Adv.** 7: 1093-1096. 2008.