



REPRODUCTIVE RESPONSE IN HAIR SHEEP SYNCHRONIZED WITH MEDROXYPROGESTERONE ACETATE IMPREGNATED IN NON-COMMERCIAL INTRAVAGINAL SPONGES †

[RESPUESTA REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE PELO SINCRONIZADAS CON ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA IMPREGNADO EN ESPONJAS INTRAVAGINALES NO COMERCIALES]

Ulises Cortés-Gómez¹, Narciso Ysac Ávila-Serrano²
and Jaime Arroyo-Ledezma^{2*}

¹ Maestría en Producción y Sanidad Animal, Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, CP 71980, Puerto Escondido, Oaxaca, México.

² Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, CP 71980, Puerto Escondido, Oaxaca, México. Email. arroyo@zicatela.umar.mx

* Corresponding author

SUMMARY

Background. Intravaginal sponges impregnated with medroxyprogesterone acetate or fluorogestone acetate are routinely used in oestrus synchronization protocols in sheep, non-commercial sponges are a viable option in the reproductive control of female sheep. **Objective.** To evaluate the reproductive response in hair sheep synchronized with medroxyprogesterone acetate impregnated in non-commercial intravaginal sponges. **Methodology.** 31 adult hair sheep 5/8 Pelibuey x 2/8 Black Belly x 1/8 Dorper, average weight of 40 ± 3.2 kg and a body condition of 3-3.5 were used. They were randomly assigned to one of four treatments: T1 (n = 8 ewes), 5 mg of medroxyprogesterone acetate impregnated in non-commercial intravaginal sponges + 1 mg of estradiol cypionate + 200 IU of eCG; T2 (n = 8 ewes), synchronization similar to T1, but 500 IU of eCG were applied; T3 (n = 8 ewes), 20 mg of fluorogestone acetate impregnated in intravaginal sponges + 200 IU of eCG; T4 (n = 7 ewes), synchronization similar to T3, but 500 IU of eCG were applied. In all treatments the sponges were placed for 10 days. Blood samples were collected by jugular puncture and the concentrations of progesterone and LH were determined. **Results.** The sponge removal interval to estrus was different ($P < 0.05$) between T1 and T3 (14.5 ± 5.5 and 38.8 ± 2.5 h, respectively). Estrus duration was similar ($P > 0.05$) between T1, T2 and T3 (54.5 ± 5.5 , 46.5 ± 5.8 and 38.3 ± 2.6 h, respectively), T4 (59.3 ± 4.1 h) was similar ($P > 0.05$) to T1 and T2 (54.5 ± 5.5 h and 46.5 ± 5.8 h, respectively) but different ($P < 0.05$) from T3 (38.3 ± 2.6 h). The progesterone concentration was higher than 1 ng ml^{-1} , on days 0 to 4 (T2), 0 to 5 (T4) and 0 to 7 (T1 and T3), then it decreased to $< 1 \text{ ng ml}^{-1}$ in all the treatments. The sponge removal and oestrus onset intervals at the LH preovulatory peak were similar ($P > 0.05$) between treatments, however, the LH profile at T1 and T2 shows scattered elevations. 5 mg of medroxyprogesterone acetate + 1 mg of estradiol cypionate, impregnated in non-commercial sponges advance oestrus and do not adjust for the occurrence of LH preovulatory peak. **Implications.** The study demonstrates that it is feasible to use reduced doses of medroxyprogesterone acetate impregnated in non-commercial intravaginal sponges in estrous synchronization protocols in hair sheep, the progesterone profile confirms the inhibitory effect of the drug on GnRH / LH secretion. **Conclusion.** The application of 200 or 500 IU of eCG does not modify the occurrence or duration of estrus and the LH preovulatory peak. It is suggested that it is feasible to synchronize hair sheep under tropical conditions with reduced doses of medroxyprogesterone acetate impregnated in non-commercial sponges, however, dispersion of ovulation may occur, which would reduce fertility. The use of eCG and estradiol cypionate does not affect the effectiveness of synchronization.

Key words: oestrus synchronization; intravaginal sponges; medroxyprogesterone acetate; fluorogestone acetate; equine chorionic gonadotrophin; hair sheep.

RESUMEN

Antecedentes. Las esponjas intravaginales impregnadas con acetato de medroxiprogesterona o acetato de fluorogestona se utilizan de manera rutinaria en protocolos de sincronización de estros en ovejas, las esponjas no comerciales son una opción viable en el control reproductivo de la hembra ovina. **Objetivo.** Evaluar la respuesta reproductiva en ovejas de pelo sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas intravaginales no comerciales. **Metodología.** Se utilizaron 31 ovejas de pelo adultas 5/8 Pelibuey x 2/8 Black Belly x 1/8 Dorper, con peso promedio de 40 ± 3.2 kg y una condición corporal de 3-3.5. Se asignaron de manera aleatoria a uno de cuatro tratamientos: T1 (n=8 ovejas), 5 mg de acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas

† Submitted July 22, 2020 – Accepted January 16, 2021. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.
ISSN: 1870-0462.

intravaginales no comerciales + 1 mg de cipionato de estradiol + 200 UI de eCG; T2 (n=8 ovejas), sincronización similar al T1, pero se aplicaron 500 UI de eCG; T3 (n=8 ovejas), 20 mg de acetato de fluorogestona impregnado en esponjas intravaginales + 200 UI de eCG; T4 (n=7 ovejas), sincronización similar al T3, pero se aplicaron 500 UI de eCG; en todos los tratamientos las esponjas se colocaron por 10 días. Se colectaron muestras sanguíneas por punción yugular y se determinaron las concentraciones de progesterona y LH. **Resultados.** El intervalo retiro de esponjas al estro fue diferente ($P < 0.05$) entre T1 y T3 (14.5 ± 5.5 y 38.8 ± 2.5 h, respectivamente). La duración del estro fue similar ($P > 0.05$) entre T1, T2 y T3 (54.5 ± 5.5 , 46.5 ± 5.8 y 38.3 ± 2.6 h, respectivamente); T4 (59.3 ± 4.1 h) fue similar ($P > 0.05$) a T1 y T2 (54.5 ± 5.5 h y 46.5 ± 5.8 h, respectivamente) pero diferente ($P < 0.05$) a T3 (38.3 ± 2.6 h). La concentración de progesterona fue superior a 1 ng ml^{-1} , en los días 0 a 4 (T2), 0 a 5 (T4) y 0 a 7 (T1 y T3), después descendió a $< 1 \text{ ng ml}^{-1}$ en todos los tratamientos. Los intervalos retiro de esponja e inicio del estro al pico preovulatorio LH fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamientos; sin embargo, el perfil de LH en T1 y T2 muestra incrementos dispersos. 5 mg de acetato de medroxiprogesterona + 1 mg de cipionato de estradiol, impregnados en esponjas no comerciales, adelantan el estro y no ajustan la ocurrencia del pico preovulatorio de LH. **Implicaciones.** El estudio demuestra que es viable utilizar dosis reducidas de acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas intravaginales no comerciales en protocolos de sincronización de estros en ovejas de pelo, el perfil de progesterona confirma el efecto inhibitorio del fármaco en la secreción de GnRH/LH. **Conclusión.** La aplicación de 200 o 500 UI de eCG no modifica la ocurrencia o duración del estro y el pico preovulatorio de LH. Por lo tanto, se sugiere que es factible sincronizar ovejas de pelo en condiciones tropicales con dosis reducidas de acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas no comerciales, sin embargo, puede ocurrir dispersión de la ovulación, lo cual reduciría la fertilidad. El uso de cipionato de estradiol y eCG, parece no afectar la efectividad de la sincronización.

Palabras clave: sincronización de estros; esponjas intravaginales; acetato de medroxiprogesterona; acetato de fluorogestona; gonadotropina coriónica equina; ovejas de pelo.

INTRODUCCIÓN

La sincronización estral se usa ampliamente a nivel mundial en el manejo reproductivo de los rebaños ovinos. Los tratamientos con dispositivos intravaginales (CIDR) impregnados con progesterona, las esponjas intravaginales impregnadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) o acetato de fluorogestona (FGA) y los implantes con norgestomet, se utilizan de manera rutinaria en protocolos de sincronización de estros en ovejas (Boscos *et al.*, 2002; Martínez-Ros *et al.*, 2019). De manera adicional, es común utilizar una dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) al concluir los tratamientos con progestágenos, lo cual incrementa la respuesta ovárica, la tasa de concepción y el porcentaje de nacimientos múltiples al aumentar la tasa ovulatoria (Boscos *et al.*, 2002). Motlomelo *et al.* (2002), sincronizaron cabras con MAP y FGA, y obtuvieron porcentajes de estros superiores al 90%, similares entre tratamientos y tasas de gestación de 51 y 60%, respectivamente. Hashemi *et al.* (2006), sincronizaron ovejas Karakul con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona impregnados en esponjas intravaginales + 500 UI de eCG al retiro de la esponja y obtuvieron 100% de respuesta estral. La información disponible indica que las dosis de eCG utilizadas en los protocolos de sincronización de estros en ovejas, varían de 400 a 500 UI (Barret *et al.*, 2004; Ali, 2007; Luther *et al.*, 2007; Martínez-Ros *et al.*, 2019), con tasas de estros y fertilidad, superiores al 80%; estos valores son similares a los obtenidos al utilizar 200 UI de eCG (De *et al.*, 2015; Dias Antunes-Melo *et al.*, 2015). Sin embargo, aun cuando los porcentajes de estros generalmente son mayores al 80% al sincronizar con progestágenos, es posible provocar bajas tasas de gestación debido a alteraciones

en los perfiles de secreción de LH, lo cual también modifica el momento de la ovulación (González-Bulnes *et al.*, 2005).

González y Luna-Tortós (2017) sincronizaron ovejas de pelo con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas no comerciales de fabricación casera y obtuvieron 100% de estros y porcentajes de gestación de 66 a 92%. Sin embargo, no hay información disponible referente al uso de acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas intravaginales no comerciales en concentraciones bajas. El uso de concentraciones bajas de progestágenos o progesterona exógena en protocolos de sincronización de estros, se justifica si se considera la concentración fisiológica o endógena de progesterona en la fase lútea del ciclo estral, 1 a 3 ng/ml en plasma sanguíneo (Johnson *et al.*, 1996; Lozano *et al.*, 1998), estos valores son menores a los utilizados de manera exógena, lo cual permite inferir que las hormonas exógenas o sus análogos, pueden ejercer su efecto biológico, a pesar de ser aplicadas en concentraciones menores a las recomendadas. Al respecto, Greyling *et al.* (1997), sincronizaron ovejas Merino con dosis reducidas de MAP (30 mg) impregnado en esponjas intravaginales, obtuvieron 97.8 % de respuesta estral y 70.5 % de concepción, con 55 % de absorción del fármaco como valor máximo en el día 9 del periodo de sincronización y sugirieron que es posible obtener una fertilidad óptima utilizando dosis bajas de progestágenos en protocolos de sincronización de estros. De acuerdo con lo anterior, se sugiere que, en ovejas de pelo, 5 mg de acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas no comerciales + 1 mg de cipionato de estradiol, inducen una respuesta reproductiva similar a la obtenida al

sincronizar con 20 mg de FGA impregnado en esponjas comerciales. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la respuesta reproductiva en ovejas de pelo sincronizadas con dispositivos intravaginales no comerciales impregnados con una dosis reducida de MAP + 200 o 500 UI de eCG.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización geográfica

El estudio se realizó en el módulo ovino experimental de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, localizado en el km 128.1 de la carretera Federal Pinotepa Nacional - Puerto Escondido (15°55'25.71 N, 97° 92'.42" O), con clima cálido húmedo Am(f) y altitud menor a 8 m, temperatura promedio anual de 28°C, precipitación pluvial anual entre 800 y 1 200 mm, con topografía de planicie (García, 2004).

Animales experimentales

Se utilizaron 31 ovejas de pelo cruzadas, 5/8 Pelibuey x 2/8 Black Belly x 1/8 Dorper, de 3.5 a 4.0 años de edad, clínicamente sanas, con un peso promedio de 40 ± 3.2 kg y una condición corporal de 3-3.5 en la escala de 1 a 5 (Thompson y Meyer, 1994).

Manejo general de los animales

El experimento se llevó a cabo en el mes de febrero, durante la época de anestro estacional (Arroyo *et al.*, 2007; Arroyo *et al.*, 2016). El manejo general de las ovejas se realizó de acuerdo con la Ley Federal de Sanidad Animal – Diario Oficial de la Federación 07-06-2012, México, se procuró el bienestar de los animales en todo momento. Sesenta días previo al inicio del experimento, los animales se inmunizaron con 2.5 ml/animal, IM, de bacterina toxoide con paquetes celulares bacterianos completos y toxoides de *Pasteurella multocida* “A” (1x10^{7.0} ufc/ml), *Pasteurella haemolytica* (1x10^{7.0} ufc/ml), *Clostridium septicum* (1x10^{7.0} ufc/ml), *Clostridium novyi* (1x10^{6.6} ufc/ml), *Clostridium perfringens* “D” (1x10^{6.6} ufc/ml), *Pasteurella multocida* “D” (1x10^{7.0} ufc/ml), *Clostridium chauvoei* (1x10^{8.0} ufc/ml), *Clostridium sordellii* (1x10^{6.6} ufc/ml), *Clostridium perfringens* “C” (1x10^{6.6} ufc/ml) inactivados con formaldehído y absorbidos en Rehydrigel LV (Laboratorios Pier, México), rabia (2 ml/animal; Derri Pier, Laboratorios Pier, México). Siete días previo al experimento, las ovejas se desparasitaron con 5 mg/kg de PV de closantel (Closantil 5%®, Chinoin, México); se vitaminaron con 1 ml/animal de vitamina ADE (vigantol® Bayer, México) vía IM y fueron examinadas mediante ultrasonografía transrectal (Draminsky®, Polonia) con un transductor lineal de 5.0 a 7.5 Mhz, para verificar que no estuvieran gestantes.

Alimentación

Las ovejas se alimentaron con concentrado comercial (14 % de proteína cruda y 3.4 Mcal kg/ms de energía metabolizable; ovina reproductores, Purina®, México) elaborado con base en una mezcla de cereales molidos, combinación de pastas oleaginosas, subproductos de cereales, salvado de trigo, salvado de maíz, grano seco de destilería, cáscara de soya, cáscara de arroz, paja de cebada, rastrojo de maíz, alfalfa deshidratada, melaza de caña, pasta de coco, aceite vegetal, lecitina de soya; adicionado con vitaminas A, D y minerales. De manera adicional se ofreció alfalfa deshidratada (*Medicago sativa*) y una mezcla mineral (Fosforysal Borrego®, Purina®, México), con libre acceso al agua. La ración ofrecida cubrió los valores requeridos para ovejas reproductoras (PC 8.9, MS 1.2, EM 1.8 Mcal kg/ms; National Research Council, 2007).

Diseño experimental

Los animales se asignaron de manera aleatoria a uno de cuatro protocolos de sincronización. T1 (n = 8): 5 mg de acetato de medroxiprogesterona + 1 mg de cipionato de estradiol (Losovu®, Química Sons, México) impregnados en esponjas intravaginales de fabricación no comercial + 200 UI de eCG (Folligon®, Intervet, México) vía intramuscular; T2 (n = 8): similar al T1, pero se aplicaron 500 UI de eCG (Folligon®, Intervet, México) vía intramuscular; T3 (n = 8): 20 mg de acetato de fluorogestona impregnado en esponjas intravaginales comerciales (Chronogest® CR; Intervet, Francia;) + 200 UI de eCG (Folligon®, México); T4 (n = 7): similar al T3, pero se aplicaron 500 UI de eCG (Folligon®, México) vía intramuscular. En todos los tratamientos las esponjas se colocaron por 10 días. El diseño experimental fue un Factorial 2 x 2; Factor A, dispositivos intravaginales comerciales y dispositivos intravaginales no comerciales; y Factor B, dosis de 200 y 500 UI de eCG.

Las esponjas no comerciales se elaboraron con el procedimiento descrito por Estrada-Gandarilla *et al.* (2009) y se almacenaron a 24°C en bolsas de polietileno selladas, protegidas de la luz solar. Se utilizaron en un tiempo no mayor a 24 h posteriores a su fabricación.

Manejo reproductivo

La detección de estros se inició 8 h posteriores al retiro de la esponja, se utilizaron 3 carneros de pelo adultos provistos con mandil, con rotación cada 8 h. Los machos se introdujeron al corral de las hembras cada 3 h por un periodo de 30 minutos. Las ovejas recibieron dos servicios, al momento de la detección del celo y 12 h después. Es importante señalar que el porcentaje temprano de gestación y el porcentaje de partos no se evaluaron en el presente estudio.

Muestreo sanguíneo y análisis hormonal

Con el propósito de evaluar la concentración plasmática de progesterona, se colectaron muestras sanguíneas de todas las hembras cada 24 h, entre las 8:00 y 8:30 h, iniciando el día de la colocación de la esponja y finalizando al momento de que la oveja concluyó el estro, la obtención de la muestra fue por punción de la vena yugular, usando tubos vacutainer heparinizados (Vacutainer®, Becton Dickinson, New Jersey, EU), el volumen de sangre obtenido fue de 5 ml. De manera adicional, con el objetivo de determinar la ocurrencia del pico preovulatorio de LH, se colectaron 2 ml de sangre por oveja, en los siguientes horarios, 18:00, 20:00, 22:00, 0:00, 2:00, 4:00, 6:00, 8:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00 h, durante 4 días, estos muestreos iniciaron 8 h posteriores al retiro de la esponja y hasta el término del estro. Para mantener el bienestar de los animales, se les colocó un catéter permanente en la vena yugular, a través del cual se colectó la muestra.

En la primera hora posterior a la obtención de la muestra, ésta se centrifugó a 1500 g durante 15 minutos, se separó el plasma y se almacenó a -20° C, hasta su análisis.

La determinación de la concentración de progesterona se realizó por radioinmunoanálisis en fase sólida (Pulido *et al.*, 1991), la sensibilidad analítica del ensayo fue de 0.02 ng mL⁻¹ y el coeficiente de variación intraensayo de 3.3 %. La concentración de LH se evaluó por radioinmunoanálisis en fase líquida, de acuerdo con la técnica estandarizada por Perera-Marín *et al.* (2005) y Arrieta *et al.* (2006). Ambos análisis se realizaron en el Laboratorio de Endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

Análisis estadístico

Las diferencias en la concentración plasmática de progesterona y LH dentro de cada tratamiento y entre tratamientos se evaluaron con un análisis de varianza de medidas repetidas en el tiempo, con el procedimiento MIXTO de SAS (2003), 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 utilizó para comparar las medias dentro y entre tratamientos. Para las variables intervalo entre el retiro de la fuente de

progesterona a presentación del estro, intervalo entre retiro de la fuente de progesterona y terminación de estro, duración del estro, intervalo entre el retiro de esponja a pico preovulatorio de LH y el intervalo entre el inicio del estro al pico preovulatorio de LH, se utilizó un análisis de varianza, PROC GLM (SAS, 2003). La comparación de medias de estas variables, entre y dentro de tratamientos para cada factor, se realizó con el estadístico de prueba de Tukey (SAS, 2003). Las variables no paramétricas se analizaron entre tratamientos con la prueba de ji-cuadrada (SAS, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ovejas en estro

El porcentaje de ovejas en estro fue diferente ($P < 0.05$) entre el tratamiento 1 (62.5%) y los tratamientos 3 y 4 (100%), los cuales fueron similares ($P > 0.05$) al tratamiento 2 (87.5%) (Tabla 1). Los valores obtenidos en el presente estudio coinciden con los porcentajes de estros (75 a 100 %) reportados por Luther *et al.* (2007) en ovejas sincronizadas con 300 mg de progesterona impregnada en dispositivos intravaginales comerciales + 200 o 400 UI de eCG. En este sentido, Ustener *et al.* (2007), en ovejas sincronizadas con esponjas intravaginales impregnadas con FGA, colocadas durante 6 o 12 días, más una aplicación de 300 UI de eCG, 24 horas antes de retirar la esponja, al retiro y 24 horas después, reportaron 100 % de estros al mantener el dispositivo por 12 d, valores similares a los encontrados en el presente estudio para los tratamientos 3 y 4 (Tabla 1). Al mantener la esponja por 6 días, la respuesta estral fue de 72 a 83%, sin importar el momento de la aplicación de la eCG,

En el presente estudio, el FGA impregnado en esponjas comerciales + 200 o 500 UI de eCG induce una mejor ($P < 0.05$) respuesta estral (100%) en comparación con el acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas no comerciales + 1 mg de cipionato de estradiol + 200 UI de eCG (62 %, tratamiento 1). Estos resultados sugieren que la aplicación de 200 UI de eCG redujo el porcentaje de estros; sin embargo, esta afirmación difiere de los resultados obtenidos por Días Antunes-Melo *et al.* (2015), en ovejas Santa Inés sincronizadas con 60 mg de MAP impregnado en esponjas intravaginales colocadas por 9 días + 100 μ g IM de PGF2 α aplicados en el día 7 + 200, 300 o 400 UI de eCG IM, aplicadas al retiro de la esponja, donde no observaron diferencias en el porcentaje de ovejas en estro (85 – 90%) y mencionan que la eficacia en los protocolos de sincronización utilizados es similar. Otra posible explicación, se asocia con la concentración y estabilidad del progestágeno contenido en la esponja no comercial. Al respecto, Simonetti *et al.* (2000), sincronizaron ovejas Merino

cíclicas con esponjas intravaginales de poliuretano no comerciales, impregnadas con acetato de medroxiprogesterona, las cuales presentaron pérdidas de 0.4 a 5.9 mg del ingrediente activo después de su fabricación. Se debe señalar, que la pérdida del ingrediente activo en las esponjas fabricadas en el presente estudio no se evaluó; sin embargo, este evento se puede descartar debido a la similitud ($P>0.05$) de la respuesta estral (87 a 100 %) obtenida en los Tratamiento 2, 3 y 4. El valor de 62.5 % de estros observado en el tratamiento 1, coincide con el 66 % de ovejas en estro reportado por Martemucci y D'Alessandro (2011), al sincronizar con GnRH y PGF_{2α} aplicadas el día 0 + 200 UI eCG 5 días después, esto permite inferir que la ocurrencia de estros pudo no ser causada por la efectividad sincronizadora del progestágeno aplicado, sino una inducción fisiológica causada por el cipionato de estradiol y la eCG, efecto potencializado cuando se incrementó la dosis de eCG (500 UI en el tratamiento 2; Tabla 1), que resulta en un aumento en la respuesta estral (87.5 %), similar ($P>0.05$) a la obtenida en los protocolos con FGA (Tabla 1).

Intervalo retiro de la esponja al estro

El intervalo retiro de esponja al inicio del estro fue diferente ($P<0.05$) entre los tratamientos 1 y 3 (Tabla 1); sin embargo, el tratamiento 1 es similar ($P>0.05$) a los tratamientos 2 y 4 (Tabla 1), en los cuales se presentó un incremento de más de 3.5 ng ml⁻¹ de LH circulante entre las 14 y 36 horas posteriores al retiro de la fuente de progestágeno (Tabla 2), que es el momento en el que se reportó el inicio del estro; mientras que el tratamiento 3 es similar a los tratamientos 2 y 4 (Tabla 1) en los cuales se reportó este incremento de LH entre las 33 y 42 h (Tabla 2), lo

cual permite inferir que el inicio del estro se dio después de que las concentraciones de LH superaron esta concentración. En este sentido, se sabe que la ocurrencia del estro se asocia con la concentración de GnRH y estradiol (Christian y Moenter 2010), las variaciones en el inicio del estro, observadas en el presente estudio, probablemente se relacionaron con el grado y velocidad de desarrollo folicular en cada tratamiento, lo cual se modula a través de la frecuencia de secreción pulsátil de GnRH y LH en el proceso neuroendocrino de retroalimentación positiva (Christian y Moenter 2010), pero no se asocia con el número de folículos reclutados y en desarrollo, pues el intervalo entre el retiro de la esponja y el inicio del estro no disminuye en relación con la dosis de eCG.

Duración del estro

La duración del estro fue similar ($P>0.05$) en los tratamientos 1, 2 y 3 (Tabla 1). El tratamiento 1 fue similar ($P>0.05$) al tratamiento 4 y 2, pero diferente ($P<0.05$) al tratamiento 3 (Tabla 1). El tipo de esponja y la dosis de eCG no afectaron ($P>0.05$) la duración del estro (Tabla 1). Estos resultados indicaron que la duración del estro en el presente estudio no se asocia con el uso de FGA o MAP + cipionato de estradiol, ni con la dosis de eCG utilizada y los valores obtenidos son similares a los reportados por Arroyo-Ledezma *et al.* (2013, 2015), en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR o cloprostenol en el trópico (35±4.2 a 54.2±2.2 h). Al respecto, se sugiere (Evans *et al.*, 1997) que la duración del estro se asocia con la amplitud del pico preovulatorio de GnRH en la fase folicular tardía, independientemente de la concentración de estradiol (Caraty *et al.*, 2002). Arroyo-Ledezma *et al.* (2015), sugirieron que la duración del estro en ovejas sometidas a programas de sincronización, es

Tabla 1. Respuesta reproductiva en ovejas de pelo sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona impregnado en esponjas no comerciales o acetato de fluorogestona impregnado en esponjas comerciales.

Variable	T1	T2	T3	T4	Factor A		Factor B	
					MAP+E	FGA	200 UI eCG	500 UI eCG
n	8	8	8	7	16	15	16	15
Estro (%)	62.5 ^b	87.5 ^{ab}	100 ^a	100 ^a				
Intervalo retiro esponja al estro (h; media ± E.E.)	14.5±5.5 ^b	33.4±7.7 ^{ab}	38.8±2.5 ^a	27.6±3.6 ^{ab}	33.6±2.5 ^a	25.5±5.6 ^a	29.5±4.2 ^a	30.5±4.0 ^a
Duración estro (h; media ± E.E.)	54.5±5.5 ^{ab}	46.5±5.8 ^{ab}	38.3±2.6 ^a	59.3±4.1 ^b	48.1±3.6 ^a	49.8±4.1 ^a	44.5±3.4 ^a	53.0±3.9 ^a
Intervalo retiro esponja al pico preovulatorio LH (h; media ± E.E.)	41.3±15.0 ^a	26.6±12.6 ^a	49.3±1.7 ^a	35.3±0.6 ^a	42.3±3.2 ^a	34.0±9.3 ^a	45.3±7.0 ^a	31.0±6.0 ^a
Intervalo del estro al pico preovulatorio LH (h; media ± E.E.)	23.1±17.9 ^a	7.8±2.8 ^a	10.0±1.8 ^a	14.5±0.6 ^a	12.2±1.3 ^a	15.5±8.8 ^a	16.5±8.5 ^a	11.2±2.0 ^a

^{ab} Medias con distinta literal en la misma fila, indican diferencia estadística ($P<0.05$). T1. Ovejas sincronizadas con 5 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) impregnados en esponjas intravaginales no comerciales + 1 mg de cipionato de estradiol (E) + 200 UI de eCG. T2. Ovejas sincronizadas de manera similar al T1, pero se aplicaron 500 UI de eCG. T3. Ovejas sincronizadas con 20 mg de acetato de fluorogestona (FGA) impregnado en esponjas intravaginales comerciales + 200 UI de eCG. T4. Ovejas sincronizadas de manera similar al T3, pero se aplicaron 500 UI de eCG. En todos los tratamientos las esponjas se colocaron por 10 días.

independiente del método utilizado, lo cual se confirma en el presente estudio, donde no hay relación

entre esa variable, los progestágenos utilizados y la dosis de eCG.

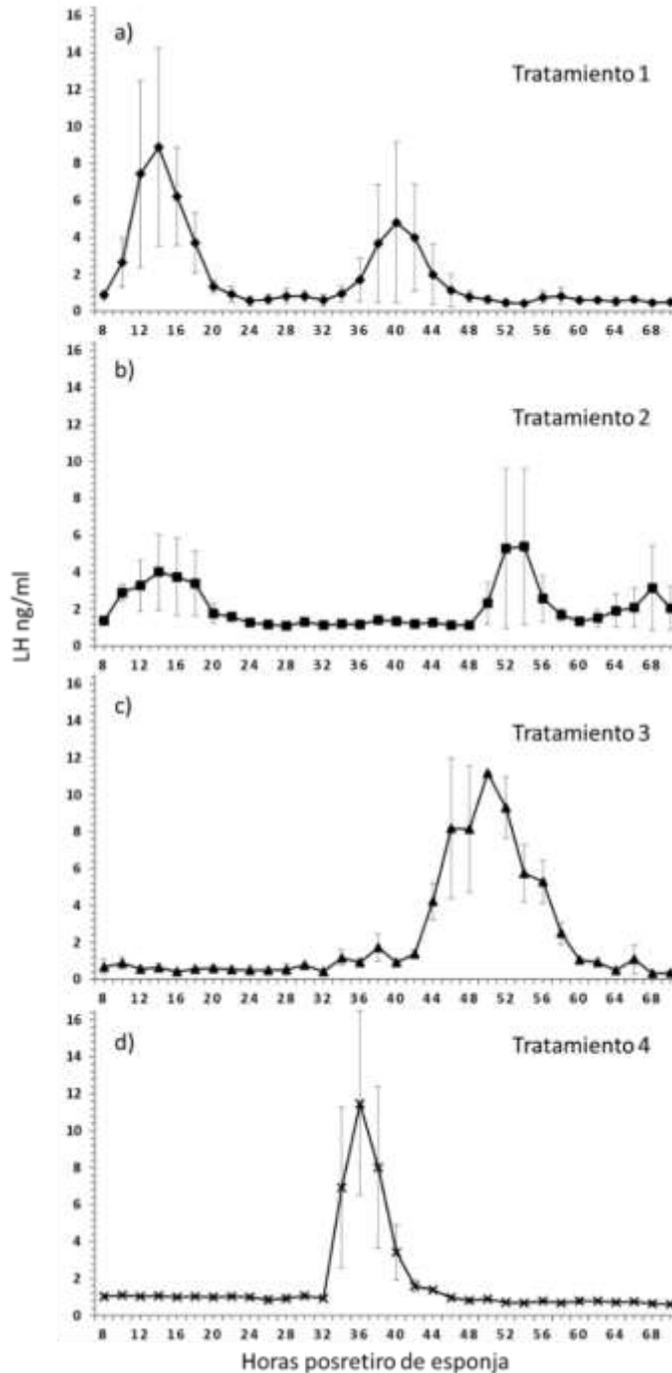


Figura 1. Concentración de LH (media \pm E.E.) en ovejas de pelo sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) o fluorogestona (FGA). Tratamiento 1 (n=8 ovejas): sincronización con 5 mg MAP impregnados en esponjas intravaginales no comerciales + 1 mg de cipionato de estradiol + 200 UI de eCG; Tratamiento 2 (n=8 ovejas): sincronización de manera similar al Tratamiento 1, se aplicaron 500 UI de eCG; Tratamiento 3 (n=8 ovejas): sincronización con 20 mg de FGA impregnados en esponjas intravaginales + 200 UI de eCG; Tratamiento 4 (n=7): sincronización similar al Tratamiento 3, se aplicaron 500 UI de eCG. En todos los tratamientos las esponjas se colocaron 10 días.

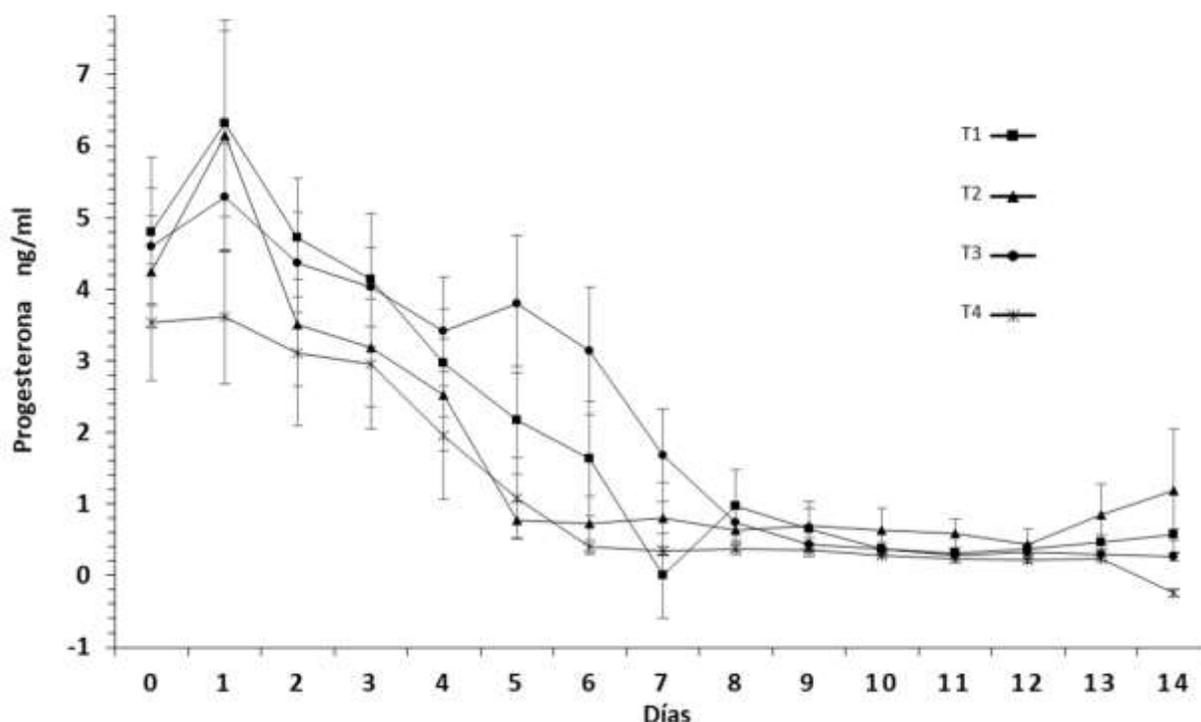


Figura 2. Concentración de progesterona (media \pm E.E.) en ovejas de pelo sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) o fluorogestona (FGA). Tratamiento 1 (n=8 ovejas): sincronización con 5 mg MAP impregnados en esponjas intravaginales no comerciales + 1 mg de cipionato de estradiol + 200 UI de eCG; Tratamiento 2 (n=8 ovejas): sincronización de manera similar al Tratamiento 1, se aplicaron 500 UI de eCG; Tratamiento 3 (n=8 ovejas): sincronización con 20 mg de FGA impregnados en esponjas intravaginales + 200 UI de eCG; Tratamiento 4 (n=7): sincronización similar al Tratamiento 3, se aplicaron 500 UI de eCG. En todos los tratamientos las esponjas se colocaron 10 días.

Pico preovulatorio y perfil general de LH

Los intervalos retiro de la esponja al pico preovulatorio LH y estro al pico preovulatorio de LH fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamientos (Tabla 1). El tipo de esponja y la dosis de eCG aplicada no afectaron ($P > 0.05$) estas variables (Tabla 1). Los valores observados en el presente estudio para el intervalo retiro de esponja al estro fueron mayores a los reportados por otros autores (Molina-Mendoza *et al.*, 2005; Ustener *et al.*, 2007), quienes encontraron valores de 24 a 25 h entre el retiro de esponjas impregnadas con FGA + 400 UI de eCG y el pico preovulatorio de LH en ovejas Pelibuey. Por otro lado, el intervalo estro al pico preovulatorio de LH observado en el presente estudio, coincide con los resultados reportados por Rodríguez-Castillo *et al.*, (2010) al sincronizar ovejas Pelibuey con 5 tratamientos: FGA, FGA+GnRH, FGA+eCG, PGF2+GnRH y PGF2+eCG, obtuvieron intervalos inicio del estro al pico preovulatorio de LH entre 11.3 a 20.8 h. Por otro lado, Valenzuela-Jiménez *et al.* (2004) encontraron valores para esta variable de 7.5 a 12 h, los cuales concuerdan con los obtenidos en el

presente estudio para las ovejas sincronizadas con FGA (Tabla 1). Conocer el momento de la ocurrencia del pico preovulatorio de LH, permite predecir el momento de la ovulación y decidir cuándo se dará servicio a las hembras. Sin embargo, la falta de sincronía en la presentación del pico preovulatorio de LH, indica una dispersión en la ovulación, lo cual puede limitar la efectividad de un protocolo de sincronización de estros en ovinos.

La concentración de LH aumentó ($P < 0.05$) a partir de las 10 horas posteriores al retiro de la fuente de progestágeno en los tratamientos 1 y 2 (Figuras 1 a y b), disminuyó ($P < 0.05$) a niveles basales a las 20 h (Figuras 1 a y b) y en el T1, incrementó ($P < 0.05$) nuevamente a las 36 h posteriores al retiro (Figura 1a). Un segundo aumento de LH ocurrió también en el T2, 50 h después del retiro de la fuente de progesterona (Figura 1b). Este doble incremento en la concentración de LH, indica dispersión y falta de sincronía en el pico preovulatorio de LH y por lo tanto, en la ovulación, evento que se asocia con la diferencia en la ocurrencia del estro y tasas reducidas de gestación.

Perfil de progesterona

La concentración de progesterona fue superior a 1 ng/ml del día 0 al 6 en el T1, al 4 en el T2, al 7 en el T3 y al 5 en el T4 (Figura 2), lo cual representa el tiempo de vida del cuerpo lúteo, puesto que los progestágenos utilizados en los protocolos de sincronización no fueron detectados por el radioinmunoanálisis; sin embargo, las variables reproductivas muestran la efectividad de estos fármacos en la sincronización de estros. De los días 7 al 10, se observaron concentraciones de progesterona menores a 1 ng/ml (Figura 2), lo cual demostró la ausencia de cuerpos lúteos funcionales y durante este periodo los progestágenos exógenos liberados por las esponjas ejercieron un efecto análogo a la progesterona natural, e inhibieron la secreción pulsátil de GnRH/LH (Robinson, 1995; Arroyo-Ledezma *et al.*, 2006), impidiendo la maduración folicular y la ovulación.

Del día 9 al 13, la concentración de progesterona fue menor a 1 ng/ml, valor similar ($P>0.05$) entre tratamientos (Figura 2) y característico de la fase folicular, en la cual, la progesterona no inhibe la síntesis y liberación de GnRH hipotalámica y se observa un incremento en la frecuencia de secreción pulsátil del LH, con la subsecuente maduración folicular y manifestaciones externas de estro (Arroyo-Ledezma *et al.*, 2006). La concentración basal de progesterona (< 1 ng/ml) obtenida en el presente estudio después de retirar las esponjas, concuerda con los datos reportados por Uribe-Velásquez *et al.* (2008) en ovejas sincronizadas con dispositivos intravaginales (CIDR) impregnados con 0.3 g de progesterona, colocados por 14 días.

Por último, en el presente estudio, no se evaluaron los porcentajes de gestación y de partos, lo cual representa una limitante del mismo, ya que estos indicadores permiten determinar la efectividad real de los protocolos de sincronización de estros y representan un indicador importante de la productividad de la hembra y del rebaño (Macías-Cruz *et al.*, 2009; Kenyon y Blair, 2014). Se considera necesario realizar investigaciones futuras donde se evalúe la pérdida de distintos análogos de progesterona, posterior a su fabricación, el grado de absorción de los mismos y su relación con indicadores de efectividad, incluyendo fertilidad, fecundidad y prolificidad.

CONCLUSIÓN

El MAP y el estradiol impregnados en esponjas intravaginales no comerciales, utilizados en ovejas de pelo en condiciones tropicales, inducen una reducida respuesta estral, adelantan el estro y dispersan la ocurrencia del pico preovulatorio de LH. Sin embargo, su efectividad es similar a la obtenida con protocolos de sincronización con FGA + 200 o 500 UI de eCG. La

reducción en la concentración de progesterona a nivel basal entre 2 y 5 días previos al retiro de las fuentes exógenas de MAP y FGA, sin evidencia de actividad estral en las ovejas, demuestra su efecto inhibitorio en la síntesis y secreción de GnRH. El uso de esponjas no comerciales impregnadas con MAP y cipionato de estradiol en protocolos de sincronización de estros en ovejas, puede ser una opción viable para los productores, pues en combinación con 500 UI de eCG, induce respuestas reproductivas similares a las obtenidas con esponjas comerciales impregnadas con FGA.

Agradecimientos

A la Dra. Clara Murcia Mejía, Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, por su colaboración en las determinaciones hormonales.

Financiamiento. El presente estudio se realizó con autofinanciamiento.

Conflicto de intereses. Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Estándares éticos. El experimento se realizó de acuerdo con los criterios éticos del Reglamento de la Ley Federal Mexicana de Sanidad Animal, Título Tercero: bienestar animal, importación, tránsito internacional y exportación, Capítulo 1. Bienestar animal [Diario Oficial de la Federación (DOF-21-05-2012), México] y de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana sobre las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (Norma Oficial Mexicana, NOM-062-ZOO-1999).

Disponibilidad de datos. Los datos correspondientes al presente estudio están disponibles con el Dr. Jaime Arroyo Ledezma, arroyo@zicatela.umar.mx, previa solicitud razonable.

REFERENCIAS

- Ali, A. 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research*. 72: 33-37. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.07.017>
- Arrieta, E., Porras, A., Murcia, C., Rojas, S., Perera-Marín, G. 2006. Ovine serum and pituitary isoforms of luteinising hormone during the luteal phase. *Reproduction, Fertility and Development*. 18: 485-495. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.07.017>

- Arroyo-Ledezma, J., Gallegos-Sánchez, J., Villa Godoy, A., Valencia Méndez, J. 2006. Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: una revisión. *Interciencia*. 3: 8–15. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=339/33911202>
- Arroyo, L.J., Gallegos-Sánchez J., Villa-Godoy, A., Berruecos, J.M., Perera, G., Valencia, J. 2007. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. 2007. *Animal Reproduction Science*. 102: 24-30. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2006.09.025
- Arroyo-Ledezma, J., De La Torre-Barrera, J., Ávila-Serrano, N.Y. 2013. Reproductive response in hair sheep synchronized with progesterone or prostaglandins. *Agrociencia*. 47: 661-670. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952013000700003&lng=es&tlng=es
- Arroyo-Ledezma, J., Hernández-López, J., Ávila-Serrano, N.Y., Camacho-Escobar, M.A. 2015. Estrus response and hormonal profile in hair sheep synchronized with short prostaglandin protocols. *Agrociencia*. 49: 475-482. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952015000500001&lng=es&tlng=es
- Arroyo, J., Sánchez-Hernández, N.J., Ávila-Serrano, N.Y., Camacho-Escobar, M.A., Mabel Rodríguez-De-La-Torre, M. 2016. Reproductive seasonality in creole hair sheep in the tropic. *Tropical Animal Health and Production*. 48: 219-222. DOI: 10.1007/s11250-015-0927-z
- Barrett, D.M.W., Bartlewski, P.M., Batista-arteaga, M., Symingtona, A., Rawlings, N.C. 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progesterone-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology*. 61: 311–327. DOI: 10.1016/s0093-691x(03)00215-2
- Bister, J.L., Noe, B., Perrad, B., Mandiki, S.N.M., Mbayahaga, J., Paquay, R. 1999. Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology*. 17: 315–328. DOI: 10.1016/s0739-7240(99)00047-8
- Boscós, C.M., Samartzi, F.C., Dellis, S., Rogge, A., Stefanakis, A., Krambovitis, E. 2002. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization in sheep. *Theriogenology*. 58: 1261-1272. DOI: 10.1016/s0093-691x(02)01040-3
- Caraty, A., Dalaleu, B., Chesneau, D., Fabre-Nys, C. 2002. Sequential role of E2 and GnRH for the expression of estrous behavior in ewes. *Endocrinology*. 143: 139-145. DOI: 10.1210/endo.143.1.8605
- Christian, C.A., Moenter, S.M. 2010. The neurobiology of preovulatory and estradiol-induced gonadotropin-releasing hormone surges. *Endocrine Reviews*. 31: 544–577. DOI: 10.1210/er.2009-0023
- De, K., Kumar, D., Sethi, D., Gulyani, R., Khursheed, N.S.M. 2015. Estrus synchronization and fixed-time artificial insemination in sheep under field conditions of a semi-arid tropical region. *Tropical Animal Health and Production*. 47: 469–472. DOI: 10.1007/s11250-014-0735-x
- Dias, F.E.F., Lopes Junior, E.S., Villaroel, A.B.S., Rondina, D., Lima-Verde, J.B., Paula, N.R.O., Freitas, V.J.F. 2001. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 53: 618–623. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352001000500018>
- Dias Antunes-Melo, K., Souza de Oliveira, V., Domingos Ferreira Santos, A., Alvarenga de Oliveira, C., Mendes Mendonça, L., Santiago Silva Goveia, J., Santos Almeida, T. 2015. Use of reduced doses of eCG applied by different routes in the TAI program in Santa Ines sheep. *Ciências Agrárias*. 36: 1347-1354. DOI: 10.5433/1679-0359.2015v36n3p1347
- Estrada-Gandarilla, M., Tintori-Romero, B.C., Flores-Mariñelarena, A., Corral-Flores, G., Anchondo-Garay, A., Rodríguez-Muela, C., Grado-Ahuir, J.A., Ramírez-Godínez, J.A. 2009. Propuesta para la fabricación y uso de una esponja para sincronizar estros y su respuesta a la fertilidad en ovejas. *Tecnociencia Chihuahua*. 3: 154–159.
- Evans, N. P., Dahl, G.E., Padmanabhan, V., Thrun, L.A., Karsch, F.J. 1997. Estradiol requirements for induction and maintenance of the gonadotropin-releasing hormone surge: implications for neuroendocrine processing of the estradiol signal. *Endocrinology*. 138: 5408-5414. DOI: 10.1210/endo.138.12.5558
- Evans, A.C.O., 2003. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal*

- Reproduction Science. 78: 289–306. DOI: 10.1016/s0378-4320(03)00096-4
- García, E., 2004. Modificaciones al Sistema Climático de Köppen, quinta edición. México. Instituto de Geografía, UNAM.
- González-Bulnes, A., Veiga-López, A., García, P., García-García, R.M., Ariznavarreta, C., Sánchez, M.A., Tresguerres, J.A.F., Cocero, M.J., Flores, J.M. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*. 63: 2523-2534. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.10.013
- González, S., Luna-Tortós, C. 2017. Medroxiprogesterona acetato para la elaboración de dispositivos intravaginales caseros usados en la sincronización del estro en ovinos de pelo: Evaluación de su eficacia, sus efectos secundarios y comparación con un dispositivo comercial en hatos de Costa Rica. *Revista Ciencias Veterinarias*. 35: 85-102. DOI: <https://doi.org/10.15359/rcv.35-2.3>
- Greyling, J.P.C., Erasmus, J.A., Taylor, G.J., van der Merwe, S. 1997. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. *Small Ruminant Research*. 26: 137-143. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(96\)00983-2](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(96)00983-2)
- Hashemi, M., Safdarian, M., Kafi, M. 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research*. 65: 279-283. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.051>
- Johnson, S.K., Dailey, R.A., Inskoop, E.K., Lewis, P.E. 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*. 13: 69-79. DOI: 10.1016/0739-7240(95)00045-3
- Kenyon, P.R., Blair, H.T. 2014. Foetal programming in sheep – Effects on production. *Small Ruminant Research*. 118: 16-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.12.021>
- Leyva, V., Walton, J., Buckrell, B.C. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*. 50: 395–416. DOI: 10.1016/s0093-691x(98)00148-4
- Liu, X., Dai, Q., Hart, E.J., Barrett, D.M.W., Rawlings, N.C., Pierson, R.A., Bartlewski, P.M. 2007. Ultrasonographic Characteristics of Ovulatory Follicles and Associated Endocrine Changes in Cyclic Ewes Treated with Medroxyprogesterone Acetate (MAP)-releasing Intravaginal Sponges and Equine Chorionic Gonadotropin (eCG). *Reproduction in Domestic Animals*. 42: 393–401. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2006.00798.x
- Lozano, J.M., Abecia, J.A., Forcada, F., Zarazaga, L., Alfaro, B. 1998. Effect of undernutrition on the distribution of progesterone in the uterus of ewes during the luteal phase of the estrous cycle. *Theriogenology*. 49: 539-548. DOI: 10.1016/s0093-691x(98)00005-3
- Luther, J.S., Grazul-Bilska, A.T., Kirsch, J.D., Weigl, R.M., Kraft, K.C., Navanukraw, C., Pant, D., Reynolds, L.P., Redmer, D.A. 2007. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. *Small Ruminant Research*. 72: 227–231. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.10.015>
- Macias-Cruz, U., Álvarez-Valenzuela, F.D., Correa-Calderón, A., Molina-Ramírez, L., González-Reyna, A., Soto-Navarro, S., Avendaño-Reyes, L. 2009. Pelibuey ewe productivity and subsequent pre-weaning lamb performance using hair-sheep breeds under a confinement system, *Journal of Applied Animal Research*, 36: 255-260. DOI: 10.1080/09712119.2009.9707071
- Martemucci, G., D'Alessandro, A.G. 2011. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2 α , GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal Reproduction Science*. 123: 32–39. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.11.007
- Martínez-Ros, P., Rios-Abellan, A., González-Bulnes, A. 2019. Influence of progesterone-treatment length and eCG administration on appearance of estrous behavior, ovulatory success and fertility in sheep. *Animals*. 9: 1-9. DOI: 10.3390/ani9010009
- Molina-Mendoza, P., Sánchez-Torres-Esqueda, T., García-Flores, E.O., Martínez-García, A., Cárdenas-León, M., Peralta-Ortiz, J., Cordero-Mora, J.L., Hizarza-Espinoza, A., Ortega-Cerrilla, M.E. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización del estro en ovejas Dorset. *Agrociencia* 39: 11–18.

- <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=302/30239102>
- Motlomelo, K.C., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J. 2002. Synchronization of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Ruminant Research*. 45: 45-49. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00113-X](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00113-X)
- National Research Council, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academies Press, Washington, D.C., USA. DOI: <https://doi.org/10.17226/11654>
- Perera-Marín, G., Murcia, C., Rojas, S., Hernández-Cerón, J., González-Padilla, E. 2005. Pattern of circulating luteinizing hormone isoforms during the estrous and luteal phases in Holstein heifers. *Animal Reproduction Science*. 86: 53-69. DOI: [10.1016/j.anireprosci.2004.07.001](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.07.001)
- Pulido, A., Zarco, L., Galina, C.S., Murcia, C., Flores, G., Posadas, E. 1991. Progesterone metabolism during storage of blood samples from gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology*. 35: 965-975. DOI: [10.1016/0093-691x\(91\)90307-y](https://doi.org/10.1016/0093-691x(91)90307-y)
- Robinson, J.E. 1995. Gamma amino-butyric acid and the control of GnRH secretion in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 49: 221-230. PMID: 7623315
- SAS. 2003. User's Guide (Release 9.0) Statistics SAS. Inst. Cary. NC.
- Simonetti, L., Blanco, M.R., Gardo, J.C. 2000. Estrus synchronization in ewes treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. *Small Ruminant Research*. 38: 243-247. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00160-7)
- Thompson, J., Meyer, H. 1994. Body condition scoring of sheep. Oregon State University, Extension Service. USA.
- Uribe-Velásquez, L.F., Lênz Souza, M.I., Loaiza Echeverri, A.M. 2008. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina- $f_2\alpha$ vs CIDR + 500 IU de eCG en ovejas bergamacia durante el inicio de la fase luteal. *Revista Científica, FCV-LUZ* 18: 368-373. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=959/95918404>
- Ustener, B., Gunay, U., Nur, Z., Ustener, H. 2007. Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. *Acta Veterinaria Brno*. 76: 391-397. <https://doi.org/10.2754/avb200776030391>