

# EFECTO DE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO CON PROSTAGLANDINA- $f_{2\alpha}$ VS CIDR + 500 UI DE eCG EN OVEJAS BERGAMACIA DURANTE EL INICIO DE LA FASE LUTEAL

## Effect of Estrus Synchronization with Prostaglandins- $F_{2\alpha}$ Vs CIDR + 500 IU of eCG in Bergamacia Ewes During Early Luteal Phase

Luis Fernando Uribe-Velásquez<sup>1</sup>, María Inés Lênz Souza<sup>2</sup> y Ana María Loiza Echeverri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas.AA 275, Manizales, Caldas, Colombia.

\* (6) 8781500. E-mail: lfuribe@ucaldas.edu.co

<sup>2</sup>Departamento de Morfofisiología, UFMS, Campo Grande, MS, Brasil.

### RESUMEN

Con el objeto de evaluar los efectos de la sincronización del estro con  $PGF_{2\alpha}$  vs CIDR + 500 UI de eCG, sobre el tiempo de presentación de estro, ovulación y las concentraciones plasmáticas de hormonas esteroidales durante el inicio de la fase luteal en ovejas, se seleccionaron 14 hembras Bergamacia distribuidas en dos grupos: el Grupo uno (Control), sometido a dos aplicaciones de prostaglandina- $F_{2\alpha}$  (PG), con un intervalo de nueve días, y el Grupo dos, tratado con el dispositivo intra-vaginal impregnado con progesterona (CIDR) durante 12 días y 500 UI de eCG. La presentación del estro fue de 100%. Entretanto, el intervalo estro-ovulación fue de  $36,0 \pm 0,72$  horas en el grupo dos. El grupo control tratado con PG presentó un intervalo estro-ovulación de  $53,42 \pm 3,0$  horas ( $P < 0,001$ ). Hubo diferencia significativa ( $P < 0,01$ ) en las concentraciones plasmáticas de  $P_4$  entre los tratamientos. Los animales del Grupo dos presentaron aumentos significativos ( $P < 0,01$ ) en las concentraciones plasmáticas de  $P_4$ , desde el sexto hasta el décimo día después de la ovulación, comparados con las concentraciones de los animales control. Del mismo modo, también se constató una diferencia significativa en la interacción tratamiento y día ( $P < 0,05$ ). Las concentraciones de  $E_2$  en el plasma sanguíneo fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0,001$ ) entre el grupo control y el grupo sincronizado con el CIDR + eCG. Fueron observadas diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) en las concentraciones plasmáticas de  $E_2$  entre los tratamientos después del día ovulatorio (día cero), siendo además constatada diferencia significativa entre los días ( $P < 0,001$ ) y en la interacción tratamiento y día ( $P < 0,05$ ). Se puede concluir que,

la sincronización del estro en hembras Bergamacia, utilizando el CIDR + eCG disminuyó el intervalo estro-ovulación y provocó aumento de las hormonas esteroidales en plasma.

**Palabras clave:** Dispositivo intravaginal (CIDR), gonadotropina coriónica equina (eCG), estradiol ( $E_2$ ), ovejas, progesterona ( $P_4$ ).

### ABSTRACT

An experiment was conducted to investigate the effects of estrous synchronization with  $PGF_{2\alpha}$  vs CIDR + 500 IU of eCG on interval to estrus, ovulation and steroidal hormones plasma concentrations during early luteal phase in sheep. Fourteen ewes were treated, distributed in two groups: Group 1 (Control), synchronized with two injections of prostaglandin- $F_{2\alpha}$  (PG), given 9 days apart, and Group 2, was treated with CIDR for 12 days and 500 IU of eCG. Estrous presentation was 100%. The interval estrus-ovulation was  $36.0 \pm 0.72$  h in Group two. The control group presented an interval estrus-ovulation of  $53.42 \pm 3.0$  hours ( $P < 0.001$ ). There were significant difference ( $P < 0.01$ ) in  $P_4$  plasma concentrations among treatments. In Group 2, the animals showed significant increases ( $P < 0.01$ ) in  $P_4$  plasma concentrations during day 6 until day 10 when compared with control animals. It was observed significant difference at interaction treatment by day ( $P < 0.05$ ).  $E_2$  plasma concentrations were statistically different ( $P < 0.001$ ) among control group and synchronized group with CIDR + eCG. There were significant difference ( $P < 0.001$ ) in  $E_2$  plasma concentrations among treatments after ovulation day (Day 0) with significant difference among days ( $P < 0.001$ ) and interaction treatment x day ( $P < 0.05$ ). These results indicated that estrous synchronization in Bergamacia females, us-

ing CIDR + eCG diminished interval estrus-ovulation and elicit higher levels of steroidal hormones in plasma.

**Key words:** Intravaginal dispositive (CIDR), equine corionic gonadotrophin (eCG), estradiol ( $E_2$ ), ewes, progesterone ( $P_4$ ).

## INTRODUCCIÓN

La sincronización del estro puede ser efectivamente alcanzada con una reducción en la duración de la fase luteal del ciclo estral, mediante prostaglandinas o sus análogos sintéticos, los cuales producen una luteólisis controlada [10], o por el alargamiento artificial de esta fase utilizando esponjas o dispositivos impregnados con progestágenos [10, 16, 21]. Estudios realizados han constatado que los análogos de  $P_4$ , como el MAP, llegan a ser 20 veces más potentes que la  $P_4$  natural para suprimir el estro y la ovulación [13], resultando en mejor respuesta reproductiva fuera de la época de apareamiento [16]. Asimismo, durante los últimos años se han evaluado otro tipo de hormonas, tal como la gonadotropina coriónica equina (eCG) [24], que administrada en bajas dosis a ovejas después de un pre-tratamiento con progestágenos, sincroniza y acorta el intervalo al estro [1, 7] y a la ovulación [6, 20], durante la época de apareamiento y en épocas donde la fertilidad está disminuida [7, 15, 23]. Estos métodos producen una sincronizada disminución de la concentración de  $P_4$  en la circulación al momento de la retirada de los dispositivos intravaginales, pero el tiempo que transcurre desde su retirada a la ovulación es variable y depende de la etapa del desarrollo folicular y el tiempo de permanencia del dispositivo [7]. El presente trabajo tuvo como finalidad evaluar los efectos de la sincronización del estro con prostaglandinas- $F_{2\alpha}$  (PG) y el dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR) + 500 UI de eCG (Gonadotropina coriónica equina), sobre el tiempo de presentación de estro, la ovulación y las concentraciones plasmáticas de estradiol ( $E_2$ ) y progesterona ( $P_4$ ) durante el inicio de la fase luteal post sincronización.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en el Departamento de Reproducción Animal y Radiología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia/Universidad Estadual Paulista-UNESP, Botucatu, Sao Paulo, Brasil, y en el laboratorio del Centro de Investigaciones de Reproducción Animal –Animal Reproduction Research Centre– de la Universidad de Montréal, Québec, Canadá. Fueron utilizadas 14 hembras ovinas adultas, pertenecientes a la raza Bergamacia, durante la estación reproductiva, con peso corporal de  $60,42 \pm 8,16$  kg y con edades comprendidas entre los dos a cinco años, previamente examinadas en cuanto al estado clínico general, sanitario y reproductivo. Las hembras permanecieron en bo-

xes de  $3 \times 3$  m, con luminosidad natural y sometidas a un período pre-experimental de un mes para su adaptación a la alimentación y a la estabulación, siendo pesados y distribuidos al azar en los grupos experimentales. La alimentación consistió de una ración concentrada (20% de proteína bruta y 5,05% de fibra bruta) y heno de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. Cv “Coast Cross” (4,98% de proteína bruta y 35,88% de fibra bruta, en la materia seca). Los animales recibieron 1,5 kg/cabeza/día de ración concentrada y 2,0 kg/cabeza/día de heno, con disponibilidad *ad libitum* de mezcla mineral y agua a libre acceso. Los animales fueron pesados y distribuidos al azar en dos grupos: el Grupo uno, denominado control ( $n = 7$ ), sometido a dos aplicaciones de prostaglandina- $F_{2\alpha}$  (PG) (125  $\mu$ g; Ciosin<sup>R</sup>, Mallinckrodt Veterinary, SP, Brasil) con un intervalo de nueve días, y el Grupo dos ( $n = 7$ ), fue sincronizado mediante dispositivos intravaginales impregnados con 0,3g de progesterona CIDR (CIDR, AHÍ Plastic Moulding Company, Hamilton, New Zeland) por el término de 14 días, y al momento del retiro de los dispositivos, se aplicó 500 UI de gonadotropina coriónica equina-eCG (PMSG-CAL 5000 UI, Productos Biológicos Ltda, Pelotas, RS, Brasil) vía intramuscular. Así, la inserción del dispositivo se efectuó cinco días antes de la fecha programada para la aplicación de la primera dosis de PG, en los animales del Grupo uno (Control), de modo que la fecha de la retirada de los CIDR estuviera sincronizada con la aplicación de la segunda dosis de PG, en los animales del Grupo uno (Control). A partir de ese momento, las hembras se mantuvieron con un macho vasectomizado para la observación de la manifestación del estro. La detección de la ovulación en todas las hembras ovinas se hizo a través de ecografía transrectal utilizando un ecógrafo (SSD500; Aloka Co., Ltda., Japón) provisto de un transductor lineal prostático humano de 7,5 MHz (Modelo UST-660-7,5; Aloka Co. Ltda., Japón). Desde el día anterior a la aplicación de la segunda dosis de PG (Grupo uno) y la administración de la eCG (Grupo dos) hasta el décimo día del ciclo estral, se colectaron muestras de sangre diariamente (8:00 h), por punción yugular. Las muestras se colectaron en tubos heparinizados e inmediatamente fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos y el plasma obtenido fue almacenado a  $-20^\circ\text{C}$  para su posterior análisis de laboratorio. Las concentraciones plasmáticas de  $E_2$  y de  $P_4$  se determinaron por radioinmunoensayo (RIA), mediante kits comerciales Coat-A-Count (Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, California, EUA) en fase sólida, con un contador Gama Vitek, modelo Kineti Count. Los resultados obtenidos a través del contador gamma fueron transformados en unidades de medida característica de las respectivas hormonas, con base a las muestras patrones, por intermedio de un programa computacional en Gwbasic. Los efectos de los tratamientos en las concentraciones plasmáticas de estradiol ( $E_2$ ) y progesterona ( $P_4$ ) fueron determinados por el análisis de medidas repetidas utilizando el programa Statistical Analysis System (Latour e Littell, SAS Institute Inc., 1996) [18]. Las medias fueron comparadas por el test F.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

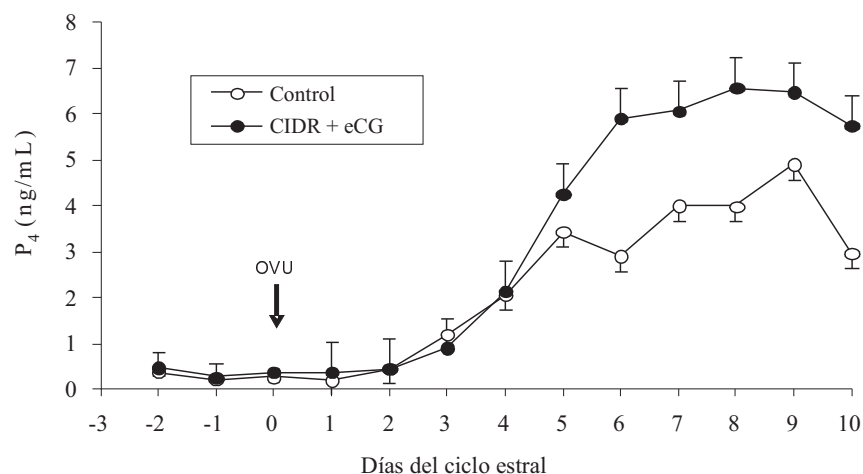
En el presente estudio, el 100% de las ovejas sincronizadas presentaron estro, lo que resulta similar a lo reportado por otros autores [21, 23], y concuerda con los resultados encontrados por Hirodine y col. [15], cuando compararon dos dispositivos intravaginales más eCG durante la época del año en que la fertilidad se encuentra disminuida. Asimismo, Martínez y col. [24] mencionan que, obtuvieron 100% de presentación de estros en ovejas Barbado Barriga Negra sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) y diferentes tiempos de aplicación de eCG. Días y col. [6] reportaron que ovejas deslanadas sincronizadas con 30 mg de fluorogestona (FGA) en combinación con 200 y 400 IU de eCG presentaron mayor porcentaje de estro que las que no recibieron eCG. Gonzalez-Bulnes y col. [10] encontraron que el porcentaje de ovejas que desarrollaron signos de estro fue similar entre grupos tratados con cloprostenol y progestágenos.

El intervalo desde la aplicación de eCG hasta la ovulación fue de  $66,14 \pm 6,41$  horas, lo que coincide con otros autores [20]. Cline y col. [5] compararon el efecto de la sincronización con la aplicación de 400 UI de eCG y PG 600 (400 UI de eCG y 200 UI de hCG) sobre el tiempo de presentación de estro y ovulación después de retirado el dispositivo intravaginal impregnado con progestágeno, y encontraron intervalos menores para el grupo tratado con eCG. Otros autores por el contrario, no encontraron diferencias significativas entre tratamientos [1]. Entretanto, el intervalo estro-ovulación fue de  $36,0 \pm 0,72$  horas en el grupo sincronizado con CIDR seguido de eCG. El grupo control tratado con PG presentó un intervalo estro-ovulación de  $53,42 \pm 3,0$  horas ( $P < 0,001$ ). Este resultado difiere de lo reportado por Maffili y col. [21], quienes no encontraron diferencias entre tratamientos en el intervalo estro-ovulación cuando sincronizaron cabras de raza Saanem con MAP y CIDR. Los intervalos menores de las hembras que recibieron eCG son explicados por el hecho de que esta gonadotropina

provoca un aumento en la concentración de  $E_2$ , induciendo el apareamiento precoz de estro y del pico preovulatorio de LH y FSH [6].

Las concentraciones de  $P_4$  en el plasma sanguíneo no fueron diferentes entre los dos grupos experimentales, en los días  $-2$  y  $-1$  antes de la ovulación ( $0,36 \pm 0,06$  y  $0,48 \pm 0,03$  ng/mL; y  $0,22 \pm 0,06$  y  $0,26 \pm 0,03$  ng/mL, respectivamente). Por otro lado, las hembras del grupo dos presentaron un leve aumento en las concentraciones de  $P_4$  después del retiro del CIDR y la aplicación de la eCG, hecho que pudo atrasar el inicio del apareamiento gonadotrófico pre-ovulatorio de LH (FIG. 1). La concentración de progesterona ( $P_4$ ) se eleva al día siguiente de la ovulación ( $0,8$  ng/mL), pero solamente es significativa desde el segundo día ( $2,4 \pm 0,3$  ng/mL) [19]. Los valores de las concentraciones plasmáticas de  $P_4$  antes de la ovulación en el presente estudio, estuvieron de acuerdo con otros encontrados previamente [2, 4, 12, 21, 28, 31, 33], los cuales reportaron valores menores de  $1$  ng/mL durante la fase folicular hasta la ovulación dos o tres días más tarde. González-Bulnes y col. [10] reportaron niveles mayores de  $P_4$  plasmática al inicio de la fase luteal en ovejas sincronizadas con cloprostenol que en el grupo tratado con progestágenos. Meikle y col. [25] reportaron niveles de progesterona bajos antes, durante y después del tratamiento con  $E_2$ .

Los animales del tratamiento control (Grupo uno) mostraron concentraciones de  $0,20 \pm 0,33$  ng/mL de  $P_4$ , con un aumento significativo en el cuarto día ( $2,05 \pm 0,33$  ng/mL). Las concentraciones aumentaron progresivamente desde el quinto día ( $3,43 \pm 0,33$  ng/mL) hasta el noveno día ( $4,91 \pm 0,33$  ng/mL) observándose diferencia estadística significativa ( $P < 0,0001$ ) entre los días del ciclo estudiado. Los resultados encontrados en el tratamiento control confirman los resultados mostrados en otras investigaciones [9, 14, 27, 30]. Valores inferiores fueron encontrados en otros trabajos [11, 32]. Por el contrario, Leyva y col. [19] detectaron concentraciones mayores para la  $P_4$  plasmática.



**FIGURA 1. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE PROGESTERONA (MEDIAS  $\pm$  EP) EN HEMBRAS OVINAS BERGAMACIA SINCRONIZADAS CON CIDR + ECG (500 UI) DURANTE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA / PROGESTERONE PLASMA CONCENTRATION IN BERGAMACIA EWES SYNCHRONIZED WITH CIDR + ECG (500 IU) DURING THE BREEDING SEASON.**

Hubo diferencia significativa ( $P < 0,01$ ) en las concentraciones plasmáticas de  $P_4$  entre ambos tratamientos en la mitad de la fase luteal. De la misma forma, se observó diferencia significativa en los diferentes días ( $P < 0,0001$ ) y en la interacción tratamiento y día ( $P < 0,05$ ). Los animales sincronizados con el CIDR + eCG tuvieron aumentos significativos ( $P < 0,01$ ) en las concentraciones plasmáticas de  $P_4$ , desde el sexto hasta el décimo día después de la ovulación, comparados con los valores de los animales control (Grupo uno) (FIG. 1); siendo éste similar a lo reportado por Liu y col. [20], al usar MAP combinado con eCG. Los valores elevados de la  $P_4$  de los animales sincronizados con el CIDR y la eCG corroboran lo reportado por otros autores [15, 21, 22, 26,] los cuales observaron que la  $P_4$  suministrada por el dispositivo, además de aumentar las concentraciones plasmáticas de esta hormona ejerció un efecto de feedback negativo inhibiendo la liberación de LH.

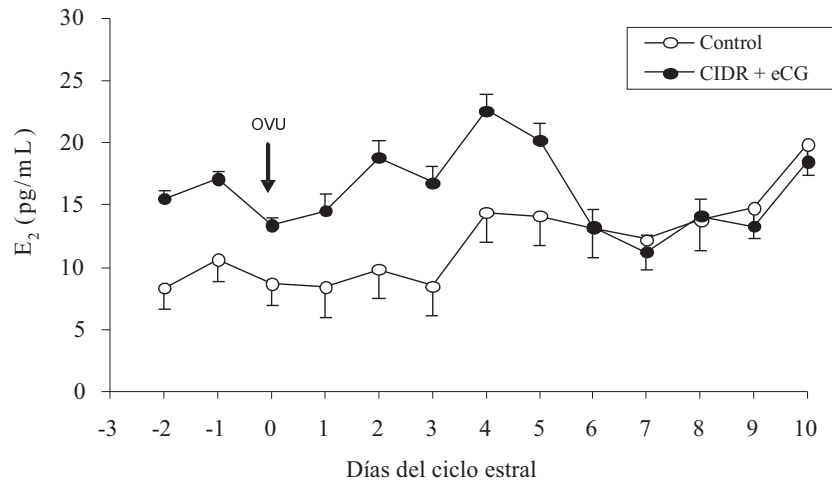
Maffili y col. [21], al sincronizar estros utilizando esponjas impregnadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) y CIDR-G, encontraron una concentración mayor de  $P_4$  en los animales tratados con CIDR-G en los días 3, 5 y 8, hecho provocado por la liberación de  $P_4$  desde el dispositivo. El aumento en las concentraciones plasmáticas de  $P_4$  en ese período, puede ser el resultado de la actividad del cuerpo lúteo sumado a la actividad de los folículos grandes luteinizados. Por tanto, la eCG provoca una hiperestimulación folicular, resultando en mayor tamaño del cuerpo lúteo, mostrando entonces su actividad luteotrófica.

Las concentraciones de  $E_2$  en sangre, fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0,0001$ ) entre el grupo control y el grupo sincronizado con el CIDR + eCG, mostrando valores de  $8,34 \pm 0,63$  y  $10,61 \pm 0,63$  pg/mL en los días -2 y -1, respectivamente, para los animales control, en cuanto que los animales tratados presentaron valores de  $15,50 \pm 1,75$  y  $17,10 \pm 1,75$  pg/mL, respectivamente, para los días -2 y -1 pre-ovulatorios (FIG. 2).

En los animales del grupo control, el  $E_2$  plasmático se mantuvo bajo al inicio de la fase luteal. El patrón de secreción mostró un valor de  $8,74 \pm 1,35$  pg/mL en el primer día después de la ovulación, con la presentación de dos aumentos significativos en el cuarto ( $14,42 \pm 1,35$  pg/mL) y décimo día ( $19,84 \pm 1,35$  pg/mL), lo que mostró entonces una diferencia significativa ( $P < 0,001$ ) entre los días del ciclo estral, durante el inicio y en la mitad de la fase luteal. Fue observada también diferencia significativa ( $P < 0,001$ ) en las concentraciones plasmáticas de  $E_2$  entre los tratamientos después del día de la ovulación (día cero), siendo además constatada diferencia significativa entre los días ( $P < 0,001$ ) y en la interacción tratamiento y día ( $P < 0,05$ ). Las concentraciones plasmáticas de  $E_2$  fueron próximas a los valores reportados por otros autores [2, 20, 34].

Con la elevación constatada también en las concentraciones plasmáticas de  $P_4$  en ovejas Yankasa [27], se establece posiblemente, la existencia de una relación directa entre la dosis de eCG, cuerpos lúteos, tasa ovulatoria y las concentraciones plasmáticas de  $P_4$  y  $E_2$  [8]. Es interesante que las dosis de eCG seleccionadas con regularidad para inducir estro y ovulación en ovejas previamente tratadas con  $P_4$ , sea una dosis que no perjudica la dinámica folicular, pero incrementa la estrogenicidad dentro de rangos fisiológicos [1]. Barret y col. [1] encontraron que, sincronizando ovejas con un progestágeno (MAP) y administrándoles 500 UI de eCG, se produce un incremento en la producción de estrógenos el cual es suficiente para inducir estro fuera de la temporada reproductiva.

Otras investigaciones apuntan que, cada pulso de la hormona luteinizante (LH) era seguido por un aumento en las secreciones de  $E_2$  y de androstenediona, indicativo de que los folículos antrales ovinos son extremadamente sensibles a las fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas de LH [3]. Las medias encontradas fueron próximas a las reportadas por otros autores [29], que constataron, también, que la aplicación de eCG incrementa la respuesta ovárica, manifestada por la



**FIGURA 2. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ESTRADIOL (MEDIAS  $\pm$  EP) en HEMBRAS OVINAS BERGAMACIA SINCRONIZADAS CON CIDR + ECG (500 UI) DURANTE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA / ESTRADIOL PLASMA CONCENTRATION IN BERGAMACIA EWES SYNCHRONIZED WITH CIDR + ECG (500 IU) DURING THE BREEDING SEASON.**

cantidad de folículos desarrollados. La sincronización del estro, acompañada de la administración de eCG (8 UI/kg) en el momento de la retirada del implante de P<sub>4</sub> (375 mg) en ovejas Friesland, Chios, Serres y Karagouniki, provocó aumentos en las concentraciones plasmáticas de E<sub>2</sub> en las cuatro horas siguientes y, a partir de ese momento, disminuyeron gradualmente, lo que reveló significativas diferencias estadísticas entre razas, sugiriendo también que, el uso de una menor dosis de eCG en el momento del retiro del progestágeno, permite una mejor y más precisa sincronización del estro y de la ovulación [17]. Estos autores apuntaron que, en hembras ovinas bajo condiciones fisiológicas, la secreción pulsátil de E<sub>2</sub>, es totalmente dependiente de la secreción pulsátil de LH, y parece ser que, la eCG, en términos de actividad, no bloquea la secreción endógena de LH.

## CONCLUSIONES

La utilización de dispositivos intravaginales conteniendo progesterona (CIDR) seguido de la aplicación de 500 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG) en ovejas de la raza Bergamacia produjo una efectiva sincronización del estro, redujo significativamente el intervalo estro-ovulación y desencadenó aumentos significativos en las concentraciones plasmáticas de progesterona (P<sub>4</sub>) y estradiol (E<sub>2</sub>) al inicio de la fase luteal.

## AGRADECIMIENTO

Los autores quieren expresar su agradecimiento a la Fundación de Amparo y Pesquisa del Estado de Sao Paulo-FAPESP, Sao Paulo, Brasil y al CRRA de la Universidad de Montreal, Québec, Canadá, por el financiamiento de esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BARRETT, D.M.W.; BARTLEWSKI, P.M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; RAWLINGS, N.C. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. **Theriogenol.** 61: 311-327. 2004.
- [2] CAHILL, L.P.; SAUMANDE, J.; RAVVAULT, J.P.; BLANC, M.; THIMONIER, J.; MARIANA, J.C.; MAULÉON, P. Hormonal and follicular relationship in ewes of high and low ovulation rates. **J. Reprod. Fert.** 62: 141-150. 1981.
- [3] CAMPBELL, B.K.; MANN, G.E.; McNEILLY, A.S.; BAIRD, D.T. The pattern of ovarian inhibin, estradiol, and androstenedione secretion during the estrous cycle of the ewe. **Endocrinol.** 127: 227-235. 1990.
- [4] CHAMLEY, W.A.; BUCKMASTER, J.M.; CAIN, M.D.; CERINI, J.; CERINI, M.E.; CUMMING, I.A.; GODING, J.R. The effect of prostaglandin F<sub>2α</sub> on progesterone, oestradiol and luteinizing hormone secretion in sheep with ovarian transplants. **J. Endocrinol.** 55: 253-263. 1972.
- [5] CLINE, M.A.; RALSTON, J.N.; SEALS, R.C.; LEWIS, G.S. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G 600 to estrus and ovulation in ewes. **J. Anim. Sci.** 79: 589-594. 2001.
- [6] DIAS, F.E.F.; LOPES, E.S.; VILLAROEL, A.B.S.; RONDINA, D.; LIMA-VERDE, J.B.; PAULA, N.R.O.; FREITAS, V.J.F. Estrus synchronization, ovulation induction and fertility in hairless ewes treated with equine chorionic gonadotrophin. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoo.** 53: 618-623. 2001.
- [7] EVANS, A.C.O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. **Anim. Reprod. Sci.** 78: 289-306. 2003.
- [8] EVANS, G; ROBINSON, T. J. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. **J. Agric. Sci.** 94: 69-88. 1980.
- [9] FOSTER, D.L.; LEMONS, J.A.; JAFFE, R.B.; NISWENDER, G.D. Sequential patterns of circulating luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in female sheep from early postnatal life through the first estrous cycles. **Endocrinol.** 97: 985-994. 1975.
- [10] GONZALEZ-BULNES, A; VEIGA-LOPEZ, A; GARCIA, P; GARCIA-GARCIA, R.M; ARIZNAVARRETA, C; SANCHEZ, M.A; TRESGUERRES, J.A.F; COCERO, M.J; FLORES, J.M. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. **Theriogenol.** 63: 2523-2534. 2005.
- [11] GONZÁLEZ-REYNA, A.; VALENCIA, M.J.; FOOTE, W.C.; MURPHY, B. D. Hair sheep in México: reproduction in the Pelibuey sheep. **Anim. Breed. Abst.** 59: 509 - 524. 1991.
- [12] GREYLING, J.P.C; BRINK, W.C.J. Synchronization of oestrus in sheep: The use of controlled internal drug release (CIDR) dispensers. **South African Tydskr. Veekd.** 17: 128-132. 1987.
- [13] HAMRA, A.H.; MASSRI, Y.G.; MARCEK, J.M.; WHEATON, J.E. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone-controlled drug release dispenser, implants and sponges. **Anim. Reprod. Sci.** 11: 187-194. 1986.
- [14] HAUGER, R.L.; KARSCH, F.D.; FOSTER, D.L. A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on the temporal relationship between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum

- and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. **Endocrinol.** 101: 807-817. 1977.
- [15] KOHNO, H.; OKAMOTO, C.; IIDA, K.; TAKEDA, T.; KANEKO, E.; KAWASHIMA, C.; MIYAMOTO, A.; FUKUI, Y. Comparison of estrus induction and subsequent fertility with two different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. **J. Reprod. Dev.** 51: 805-812. 2005.
- [16] HUSEIN, M.Q.; KRIDL, R.T. Effect of progesterone prior to GnRH-PGF<sub>2α</sub> treatment on induction of oestrus and pregnancy in anoestrous awassi ewes. **Reprod. Dom. Anim.** 38: 228-232. 2003.
- [17] KOUSKOURA, T.H.; KOUIMTZIS, S.; ALEXAKI, E. Comparative studies of ovarian steroids in blood, and specific proteolytic enzymes in the cervical mucus, in four sheep breeds after oestrous synchronization (Progesterone and PMSG). 1. Breed variation of oestradiol-17 and progesterone in blood during natural oestrous, synchronization oestrous, and the first oestrous after synchronized oestrous. **Reprod. Dom. Anim.** 30: 8-13. 1995.
- [18] LATOUR, D.; LITTELL, R. Advanced general linear models with an emphasis on mixed models. Version 6.12. Cary: Statistical Analysis System Institute. 268 pp. 1996.
- [19] LEYVA, V.; BUCKRELL, B.C.; WALTON, J.S. Regulation of follicular and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenol.** 50: 395-416. 1998.
- [20] LIU, X.; DAI, Q.; HART, E.J.; BARRETT, D.M.W.; RAWLINGS, N.C.; PIERSON, R.A.; BARTLEWSKI, P.M. Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP)-releasing intravaginal and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Reprod. Dom. Anim.** 42: 393-401. 2007.
- [21] MAFFILI, V.V.; TORRES, C.A.A.; FONSECA, J.F.; MORAES, E.A.; PONTES, R.A.M. Sincronização de estro em cabras da raça saanem com esponja intravaginal e CIDR-G. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** 57: 591-598. 2005.
- [22] MARTIN, G.B. Factors affecting the secretion of luteinizing hormone in the ewe. **Biol. Rev.** 59: 1-87. 1984.
- [23] MARTÍNEZ, J.J.; SANCHEZ, M.T.; BUCIO, L.; ROJO, R.; MENDOZA, G.D.; LUIS, J.; MEJIA, O. Efecto de eCG e inseminación laparoscópica sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (Damara x Merino). **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XVI (1): 72-77. 2006.
- [24] MARTÍNEZ, J.J.; IZAQUIRRE, F.; SANCHEZ, L.; GUMARO, C.; MARTÍNEZ, G.; TORRES, G. Comportamiento reproductivo de ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas con MPA y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XVII (1): 47-52. 2007.
- [25] MEIKLE, A.; FORSBERG, M.; GAROFALO, E.G.; CARLSSON, M.A.; LUNDEHEIM, N.; RUBIANES, E. Circulating gonadotrophins and follicular dynamics in anoestrous ewes after treatment with estradiol-17β. **Anim. Reprod. Sci.** 67: 79-90. 2001.
- [26] MIHM, M.; DISKIN, M.G.; ROCHE, J.F. Regulation of follicle wave growth in cattle. **Reprod. Dom. Anim.** 31: 531-538. 1996.
- [27] OYEDIPE, E.O.; PATHIRAJA, N.; GYANG, E.O.; EDQVIST, L.E. Effect of dose of pregnant mare serum gonadotrophin on estrus parameters, ovulation rate and peripheral progesterone concentrations in Yankasa ewes. **Anim. Reprod. Sci.** 20: 255-264. 1989.
- [28] PANT, H.C.; HOPKINSON, C.R.N.; FITZPATRICK, R.J. Concentration of oestradiol, progesterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the jugular venous plasma of ewes during the oestrus cycle. **J. Endocrinol.** 73: 247-255. 1977.
- [29] PEARCE, D.T.; ROBINSON, T.J. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. **J. Reprod. Fert.** 75: 49-62. 1985.
- [30] QUIRKE, J.F.; HANRAHAN, J.P.; GOSLING, J.P. Plasma progesterone levels throughout the oestrus cycle and release of LH at oestrus in sheep with different ovulation rates. **J. Reprod. Fert.** 55: 37-44. 1979.
- [31] SCARAMUZZI, R.J.; ADAMS, N.R.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; FINDLAY, J.K.; HENDERSON, K.M.; MARTIN, G.B.; McNATTY, K.P.; McNEILLY, A.S.; TSONIS, C.G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Reprod. Fert. Dev.** 5: 459-478. 1993.
- [32] SCHRICK, F.N.; SURFACE, R.A.; PRITCHARD, J.Y.; DAILEY, R.A.; TOWNSEND, E.C.; INSKEEP, E.K. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. **Biol. Reprod.** 49: 1133-1140. 1993.
- [33] STABENFELDT, G.H.; HOLT, J.A.; EWING, L.L. Peripheral plasma progesterone levels during the ovine estrous cycle. **Endocrinol.** 85: 11-15. 1969.
- [34] THOMAS, G.B.; MARTIN, G.B.; FORD, J.R.; MOORE, P.M.; CAMPBELL, B.K.; LINDSAY, D.R. Secretion of LH, FSH and oestradiol-17β during the follicular phase of the oestrus cycle in the ewe. **Aust. J. Biol. Sci.** 41: 303-308. 1988.