

Veterinaria México

Volumen 34
Volume

Número 3
Number

Julio-Septiembre 2003
July-September

Artículo:

Efecto de la hormona en la respuesta superovulatoria y de la sincronía del estro en el porcentaje de gestación de ovejas Pelibuey

Derechos reservados, Copyright © 2003:
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

*Others sections in
this web site:*

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)

Efecto de la hormona en la respuesta superovulatoria y de la sincronía del estro en el porcentaje de gestación de ovejas Pelibuey

Effect of hormone in the superovulatory response and synchrony of estrus on pregnancy rate in Pelibuey ewes

Jesús Ricardo Aké-López*
Manuel Heredia y Aguilar**
Militza Alfaro-Gamboa*
Fernando Centurión-Castro*
Octavio Rojas-Rodríguez**

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of two hormones in the superovulatory response, and on the degree of synchronization of estrus between donor and recipient, on the pregnancy rate. Twenty-four Pelibuey ewes were superovulated with 500 IU of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone (n = 14; FSH + LH group) or with 25 mg of follicle stimulating hormone (n = 10; FSH group). According to the degree of synchronization of the estrus, two groups of recipients were formed: ewes with 0 ± 12 h of asynchrony (n = 24) and ewes with more than 12 hours (> 12 h) of asynchrony (n = 15). Twelve ewes (85.7%) treated with FSH + LH responded satisfactorily to a superovulation with a mean of 12.41 ± 8.10 of *corpora lutea* (CL), 6.25 ± 5.69 total ova + embryos (TO + E) and 4.00 ± 4.86 transferable embryos (TE). Seven donors (70%) treated with FSH responded satisfactorily to superovulation with a mean of 8.28 ± 7.78 CL, 7.57 ± 5.86 TO + E, and 6.28 ± 4.79 TE ($P > 0.05$). The pregnancy rate was 58.3% for the recipients with 0 ± 12 h of asynchrony and 20% ($P < 0.05$) for the recipients that presented a > 12 h estrus. Results did not reveal significant effects of the hormone on the superovulatory response. The pregnancy rate increased when embryos were transferred in recipients with 0 ± 12 h of asynchrony.

Key words: PELIBUEY EWES, SUPEROVULATION, FSH + LH, PREGNANCY RATE, SYNCHRONY OF ESTRUS.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos hormonas en la respuesta superovulatoria y el grado de sincronía entre el estro de la donadora y la receptora en el porcentaje de gestación. Se superovularon 24 ovejas Pelibuey con 500 UI de hormona folículo estimulante y hormona luteinizante (n = 14; grupo FSH + LH), o con 25 mg de hormona folículo estimulante (n = 10; grupo FSH). De acuerdo con el grado de sincronía del estro, se formaron dos grupos de receptoras; ovejas con 0 ± 12 horas de asincronía (n = 24), y ovejas con una diferencia mayor de 12 horas (> 12 h) de asincronía (n = 15). Doce donadoras (85.7%) tratadas con FSH

Recibido el 14 de mayo de 2002 y aceptado el 17 de octubre de 2002.

* Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Km 15.5, Carretera Mérida-Xmatkuil, A. P. 4-116, Itzimná, Mérida, Yucatán, México. E-mail: alopez@tunku.uady.mx

** Campo Experimental-Mocochá, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (SAGARPA.) Apdo. Postal 4-100, Mérida, Yucatán, México.

+ LH respondieron satisfactoriamente al tratamiento superovulatorio con un promedio de 12.41 ± 8.10 cuerpos lúteos (CL), 6.25 ± 5.69 en el total de óvulos y embriones (TO + E), y 4.00 ± 4.86 embriones transferibles (ET). Siete donadoras (70%) tratadas con FSH respondieron satisfactoriamente al tratamiento superovulatorio con un promedio de 8.28 ± 7.78 CL, 7.57 ± 5.86 TO + E, y 6.28 ± 4.79 ET ($P > 0.05$). El porcentaje de gestación fue 58.3 para las receptoras con 0 ± 12 horas de asincronía, y 20% ($P < 0.05$) para las receptoras que presentaron el estro con > 12 horas. Los resultados no muestran diferencias significativas entre las hormonas en la respuesta superovulatoria, y se obtuvo un mayor porcentaje de gestación cuando se transfirieron los embriones en las receptoras con 0 ± 12 horas de asincronía.

Palabras clave: OVEJAS PELIBUEY, SUPEROVULACIÓN, FSH+ LH, PORCENTAJE DE GESTACIÓN, SINCRONÍA DEL ESTRO.

Introduction

The level of success that can be achieved in a multiple ovulation and embryo transfer program (MOET) depends, in principle, on the response obtained in the superovulatory treatment and embryo survival following the transfer. Superovulation can be affected by diverse factors,¹⁻³ which include the type and dose of gonadotropin employed.^{1,4,5} Various studies indicate that when using follicle stimulating hormone (FSH) a better superovulatory response is obtained than when using pregnant mare serum gonadotropin.^{4,6} On the other hand, it is reported that the superovulatory response decreases when using FSH that contains or is contaminated with a certain proportion of luteinizing hormone (LH).^{7,8} However, other studies show that the application of FSH containing known quantities of LH can increase the superovulatory response.^{8,9} This response may be influenced by the breed of the animal being used.¹⁰

On the other hand, embryo survival following transfer depends on factors related to the recipient and to the embryo itself.^{3,11,12} However, an essential aspect for optimum fertility is the synchronization between estrus in the donor and in the recipient.¹²⁻¹⁷ Various reports indicate that the greatest embryo survival is obtained when embryos are transferred to recipients that present estrus no more than 12 hours before or 12 hours after the donor.^{12,18-20} Other studies show that in sheep there can be a one day,^{15,19} or even three day,¹⁷ asynchrony without it affecting embryo survival.

In tropical conditions, there is growing interest concerning the use of MOET as a tool for bettering the genetic quality of ovine herds. However, high temperatures, which are common in the tropics, can cause alterations in the uterine environment and upon the embryo,^{21,22} altering maternal-embryo synchrony, which can provoke embryo death following transfer. Likewise, the use of FSH in combination with LH can

Introducción

El grado de éxito que se puede lograr en un programa de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET) depende, en principio, de la respuesta obtenida en el tratamiento superovulatorio y de la sobrevivencia del embrión después de su transferencia. La superovulación puede ser afectada por diversos factores,¹⁻³ entre los que se encuentran el tipo y la dosis de gonadotropina empleada.^{1,4,5} Diversos estudios indican que al utilizar hormona folículo estimulante (FSH) se obtiene mejor respuesta a la superovulación que cuando se utiliza la gonadotropina sérica de yegua preñada.^{4,6} Por otro lado, se menciona que la respuesta a la superovulación disminuye cuando se utiliza FSH que contiene o está contaminada con cierta proporción de hormona luteinizante (LH);^{7,8} sin embargo, otros trabajos muestran que la aplicación de FSH conteniendo cantidades conocidas de LH puede incrementar la respuesta a la superovulación,^{8,9} la respuesta puede estar influenciada por la raza de los animales.¹⁰

Por otro lado, la sobrevivencia del embrión después de su transferencia depende de factores relacionados con la receptora o el mismo embrión;^{3,11,12} sin embargo, un aspecto esencial para una óptima fertilidad es la sincronía entre el estro de la donadora y el de la receptora.¹²⁻¹⁷ Diversos informes indican que la mayor sobrevivencia embrionaria se obtiene cuando se transfieren embriones en receptoras que presentan estro no más de 12 horas antes o 12 horas después que la donadora,^{12,18-20} otros estudios muestran que en ovejas se puede tolerar un día,^{15,19} o hasta tres días de asincronía,¹⁷ sin que se afecte la sobrevivencia embrionaria.

En condiciones tropicales, cada día hay mayor interés en utilizar la MOET como herramienta para mejorar la calidad genética de los hatos ovinos; sin embargo, las altas temperaturas, características del trópico, pueden provocar alteraciones en el ambiente uterino y embrión,^{21,22} alterando la sincronía materno embrionaria, esa situación puede provocar la muerte del embrión después de su transferencia. Asimismo, la utilización de la FSH en com-

be a good alternative for bettering the superovulatory response in Pelibuey ewes. However, environmental conditions, as well as sheep breed, can be factors that modify the superovulatory response, thus requiring more studies into the subject.

The objective of the present study was to evaluate the effect of two hormones on the superovulatory response, as well as the effect of estrus synchronization between donor and recipient on the pregnancy rate in Pelibuey sheep under tropical conditions.

Material and methods

The present study was carried out between august 1997 and april 1998 at the Mococho Experimental Field installations, run by the INIFAP-SAGARPA, located in the central area of the state of Yucatan, in Mexico. This area is located precisely at 21° 06' north latitude and 89° 27' west longitude, having a warm-subhumid climate and summer rainfall (Aw0). There is an average annual temperature of 25.9°C and average annual rainfall of 927 mm.²³

A total of 63 Pelibuey ewes, 24 donors and 39 recipients, were used. The animals were maintained at pasture (between six and eight hours daily) in fields containing star grass (*Cynodon plectostachyus*) and an additional 200 g/animal of a commercial concentrate containing 14% of crude protein.

Females were selected based upon the following criteria: that they were not feeding young, were between their second and sixth birth, had no reproductive problems in their last parturition, and had a body condition score between 3 and 4, based upon the 1 to 5 scoring scheme.²⁴

So as to have donor ewes on the same estrus cycle and to know specifically on which day superovulation was to commence, estrus was synchronized using Norgestomet* implants that had been used previously in cows. The implant remained for nine days and, upon removal, 150 IU/ewe of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG)** was administered intramuscularly. Estrus detection was carried out in the morning (06:00 to 07:00) and afternoon (17:00 to 18:00), beginning 24 hours after the implant was removed. Androgenized females were used as estrus detectors.

Superovulatory treatment in the donors commenced on day 9-10 of the estrus cycle (estrus = day 0). Fourteen ewes were treated intramuscularly with 500 IU of follicle stimulating hormone and 500 IU of luteinizing hormone*** (FSH + LH Group), while ten ewes received 25 mg of follicle stimulating hormone* (FSH Group). Injections were applied every 12 hours (morning and afternoon) for a period of four days, in decreasing dosages. The administration scheme for the FSH +

binación con la LH puede ser buena alternativa para mejorar la respuesta a la superovulación en las ovejas Pelibuey; sin embargo, las condiciones ambientales, así como la raza de las ovejas, pueden ser factores que modifiquen la respuesta superovulatoria, por tal motivo es necesario realizar más estudios sobre este tema.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de dos hormonas sobre la respuesta superovulatoria y el efecto de la sincronía del estro donadora-receptora en el porcentaje de gestación en ovejas Pelibuey bajo condiciones de trópico.

Material y métodos

El presente estudio se realizó entre agosto de 1997 y abril de 1998, en las instalaciones del Campo Experimental Mococho, dependiente del INIFAP-SAGARPA, situado en la zona centro del estado de Yucatán, México; la región se sitúa a 21° 06' de latitud Norte y 89° 27' de longitud Oeste, cuenta con clima cálido-subhúmedo con lluvias en verano (Aw0); tiene temperatura promedio anual de 25.9 °C, y precipitación pluvial promedio de 927mm.²³

Se utilizaron 63 ovejas Pelibuey; 24 donadoras y 39 receptoras. Los animales se mantuvieron en pastoreo (entre seis y ocho horas al día) en potreros de zacate estrella (*Cynodon plectostachyus*) y se les dio 200 g/animal de un concentrado comercial con 14% de proteína cruda.

Las hembras se seleccionaron con base en los siguientes criterios: que no estuvieran amamantando, que tuvieran entre dos y seis partos, que no tuvieran problemas reproductivos en su último parto, y que tuvieran condición corporal entre 3 y 4, de acuerdo con la escala de 1 al 5.²⁴

Con la finalidad de tener a las ovejas donadoras en un mismo periodo del ciclo, y específicamente conocer el día en que se comenzó la superovulación, se realizó la sincronización de estros, utilizando para ello implantes con Norgestomet,* que habían sido previamente usados en vacas. El implante permaneció nueve días; al momento de retirarlo se administraron por vía intramuscular 150 UI/oveja de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG).** La detección del estro se realizó por la mañana (06:00 a 07:00 horas) y por la tarde (17:00 a 18:00 horas), comenzando 24 horas después de retirado el implante. Como detectores se utilizaron hembras androgenizadas.

El tratamiento superovulatorio de las donadoras inició el día 9-10 del ciclo estral (estro = día 0). Catorce ovejas se trataron con 500 UI de hormona folículo estimulante y 500 UI de hormona luteinizante*** (grupo FSH + LH), y diez

* Crestar, Intervet, México.

** Folligon, Intervet, México.

*** Pluset, Serono, Italia.

LH Group was: 200-200, 150-150, 100-100 and 50-50 IU; and for the FSH Group: 5-4, 4-3, 3-2 and 2-2 mg. On the third day of the superovulatory treatment donors received 7.5 mg of F2 α prostaglandin** (PGF2 α) in the morning and 7.5 mg in the afternoon. Natural mounting took place at 0, 12 and 24 hours after the initiation of estrus and Pelibuey rams' semen quality was evaluated previously.

Recipient estrus was synchronized with donor estrus using recycled Norgestomet implants. The recipient implants were removed on the same day as PGF2 α was administered to the donors such that implants in recipients were placed nine days prior to removal. Upon implant removal, 150 IU/ewe of PMSG were administered. Recipient estrus was detected as for donors. Based upon the initiation of estrus in both donors and recipients, two recipient groups were formed. The first group included 24 recipient ewes that presented estrus with a difference no greater than 12 hours previously, or up to 12 hours after the initiation of estrus in the donors (0 ± 12 hours). The second group included 15 recipients that presented estrus with a difference greater than 12 hours prior to or greater than 12 hours following the initiation of estrus in donors (> 12 hours); in this group asynchrony was never greater than 36 hours.

Embryo collection was undertaken surgically, in gravitational fashion,²⁵ six days after the first cross, and only in animals with three or more *corpora lutea*, considered as a positive response to superovulatory treatment. A buffered solution containing phosphates*** supplemented with 1% bovine fetal serum and antibiotics was used as a receiving medium.

Following collection into sterile silicon-coated jars, the solution was left undisturbed for 30 minutes to allow embryos to settle to the bottom of the medium so as to ease their retrieval, and then 60% to 70% of the medium was decanted off. The remaining medium was poured onto Petri dishes so as to locate embryos using a stereoscopic microscope. Embryo evaluation was based upon their developmental stage and morphological quality.²⁶

Embryos were transferred using a surgical method.²⁵ First, recipient ewes were confirmed to have one or more *corpora lutea* upon their ovaries, thus indicating ovulation. Once this had been confirmed, embryo transfer was undertaken placing two embryos per ewe in the final third of the ipsilateral uterine horn containing the *corpus luteum*. Only embryos in morula stage (early and late) and blastocyst stage (early and expanded) and considered to be of good or excellent quality, were transferred. Ultrasonographic pregnancy diagnosis was carried out 35 days after transfer.

Statistical analysis for analyzing the differences in the superovulatory response (average *corpora lutea*,

ovejas con 25 mg de hormona foliculo estimulante* (grupo FSH), en ambos casos por vía intramuscular. Las inyecciones se aplicaron cada 12 horas (en la mañana y en la tarde) durante cuatro días, en dosis decrecientes. El esquema de aplicación para el grupo FSH + LH fue 200-200, 150-150, 100-100 y 50-50 UI; para el grupo FSH fue 5-4, 4-3, 3-2 y 2-2 mg. Al tercer día del tratamiento superovulatorio se aplicó a las donadoras 7.5 mg de prostaglandina F2 α ** (PGF2 α) en la mañana y 7.5 mg por la tarde. El servicio se efectuó con monta natural a las 0, 12 y 24 horas del inicio del estro, los machos Pelibuey fueron evaluados previamente en cuanto a su calidad seminal.

Para sincronizar el estro de las receptoras con el estro de las donadoras se utilizaron también implantes de Norgestomet reciclados. Los implantes de las receptoras se quitaron el mismo día en que se inyectó la PGF2 α a las donadoras, para lo cual habían sido colocados nueve días antes de esta fecha; al retiro del implante se aplicaron 150 UI/oveja de PMSG. El estro de las receptoras se detectó de igual forma que en las donadoras. Con base en el inicio del estro de la donadora y el inicio del estro de la receptora, se formaron dos grupos de receptoras. El primero incluyó a 24 ovejas receptoras que presentaron el estro con una diferencia no mayor a 12 horas antes, o hasta 12 horas después del inicio del estro de las donadoras (0 ± 12 horas); el segundo incluyó 15 receptoras que presentaron el estro con una diferencia mayor de 12 horas antes o mayor a 12 horas después del inicio del estro de las donadoras (> 12 horas); en este grupo la asincronía nunca fue mayor a 36 horas.

La colección de los embriones se llevó a cabo por el método quirúrgico en forma gravitacional²⁵ seis días después de la primera monta, solamente en los animales con tres o más cuerpos lúteos, lo cual se consideró como respuesta al tratamiento superovulatorio. Se utilizó como medio de recolección una solución amortiguada con fosfatos,*** suplementada con 1% de suero fetal bovino y antibióticos.

La recolección se llevó a cabo en frascos de cristal estériles y siliconizados, y se dejó en reposo durante 30 minutos con la finalidad de que los embriones sedimentaran al fondo del recipiente para facilitar su búsqueda; posteriormente se decantó 60%-70% del medio. El medio restante se virtió en cajas de Petri para realizar la búsqueda de los embriones con la ayuda de un microscopio estereoscópico. La evaluación de los embriones se llevó a cabo con base en su estado de desarrollo y calidad morfológica.²⁶

Los embriones se transfirieron por medio del método quirúrgico.²⁵ Primero se confirmó en las ovejas recepto-

* Folltropin, Veterphan Laboratories, USA.

** Lutalyse, Upjohn Laboratories, USA.

*** Dulbecco's- PBS, Gibco Laboratories, USA.

total ova + embryos, transferable embryos and non-transferable embryos) according to the hormone employed was carried out using Student's *t* test. Pregnancy rate comparison according to estrus synchronization was analyzed using the Chi-squared test.²⁷

Results

A total of 85.7% (n = 12) of the donors treated with FSH + LH and 70% of those treated with FSH only, responded satisfactorily to the superovulatory stimulus. Table 1 shows the mean superovulatory response of ewes treated with both types of hormones used in this study. Despite there being no significant differences (P > 0.05) between treatments, a slightly greater number of total ova + embryos (7.57 ± 5.86 vs. 6.25 ± 5.69) and transferable embryos (6.28 ± 4.79 vs 4.0 ± 4.86) was found in ewes treated with FSH, when compared to means from ewes superovulated using FSH + LH.

Regarding pregnancy rate according to estrus synchrony, a greater percentage (58.3; n = 14) was found in recipients who presented estrus with 0 ± 12 hours of asynchrony, being statistically different (P < 0.05) to the percentage obtained in the group whose recipients presented estrus with more than 12 hours of asynchrony (20%; n = 3).

Discussion

In this study, though no statistical differences were found, the superovulatory response of ewes treated with FSH was slightly greater in total number of ova and embryos, and in transferable embryos, when

ras la presencia de uno o más cuerpos lúteos en los ovarios, como indicador de la ovulación; una vez confirmado, se procedió a la transferencia de los embriones (dos por oveja) que se colocaron en el último tercio del cuerno uterino ipsilateral al ovario que contenía el cuerpo lúteo. Para las transferencias se utilizaron sólo los embriones en estadio de mórula (temprana y tardía) y blastocito (temprano y expandido) y de calidad buena o excelente. El diagnóstico ultrasonográfico de gestación se realizó a los 35 días después de la transferencia.

El análisis estadístico se realizó mediante prueba "t" de Student,²⁷ para analizar las diferencias de la respuesta superovulatoria (promedio de cuerpos lúteos, total de óvulos + embriones, embriones transferibles y embriones no transferibles) de acuerdo con la hormona empleada. Para comparar los porcentajes de gestación según la sincronía del estro, se utilizó una prueba de Ji cuadrada.²⁷

Resultados

El 85.7% (n = 12) de las donadoras tratadas con FSH + LH y 70% (n = 7) de la tratadas con FSH respondieron satisfactoriamente al estímulo superovulatorio. En el Cuadro 1 se presentan los promedios de la respuesta superovulatoria de las ovejas tratadas con los dos tipos de hormonas empleadas. A pesar de que no hubo diferencia significativa (P > 0.05) entre los tratamientos, se encontró que la respuesta de las ovejas tratadas con FSH fue ligeramente mayor en el total de óvulos + embriones (7.57 ± 5.86 vs 6.25 ± 5.69) y de embriones transferibles (6.28 ± 4.79 vs 4.0 ± 4.86), comparada con los promedios de las ovejas superovuladas con FSH+LH.

En cuanto a los porcentajes de gestación de acuerdo a la sincronía del estro, se encontró que el mayor

Cuadro 1

PROMEDIOS (± D.E.) DE LA RESPUESTA SUPEROVULATORIA DE LAS OVEJAS PELIBUEY TRATADAS CON DIFERENTE HORMONA SUPEROVULATORIA

MEANS (± S.D.) OF THE SUPEROVULATORY RESPONSE IN PELIBUEY EWES TREATED WITH DIFFERENT SUPEROVULATORY HORMONES

| Variable | FSH (n = 7) | FSH and LH ^a (n = 12) |
|--------------------------|----------------|-------------------------------------|
| Corporalutea | 8.28 ± 7.78 | 12.41 ± 8.10 |
| Total ova and embryos | 7.57 ± 5.86 | 6.25 ± 5.69 |
| Transferable embryos | 6.28 ± 4.79 | 4.00 ± 4.86 |
| Non-transferable embryos | 1.28 ± 1.89 | 1.00 ± 1.35 |

^a No significant differences (P > 0.05) were found between treatments.

compared to the response obtained in ewes treated with FSH + LH. The difference in the means, though small, could be due, at least in part, to the use of a hormone that contained a high ratio (50%) between follicle stimulating hormone and luteinizing hormone. Various studies have reported that when one uses FSH with a high LH proportion for superovulation, this affects the response.^{8,10,28} The high LH concentration might generate greater stimulus upon the ovaries, which could provoke greater follicular development, and with more follicles there is the increased possibility of greater estrogen production, which could, in turn, create unbalance between estrogens and progesterone that could affect the transport of gametes (oocytes and spermatozooids), embryos and also affect embryo development.^{18,29}

The means obtained in the ewes treated with FSH in this study are similar to those reported by Heredia *et al.*³⁰ who treated Pelibuey ewes with 25 mg of FSH and found an average of 6.7 for total number of ova + embryos (TO + E) and 5.9 for average number of transferable embryos (TE). However, they were lower than those reported by Smith³¹ and Maurer.³² Smith, working with ewe crosses, obtained averages of 14.39 for CL, 8.44 for TE and 0.72 for non-transferable embryos (nTE). Maurer, in his study, obtained averages of 14.8 for CL, 12.1 for TO + E and 7.1 for TE, in Suffolk ewes.

These differences could be explained by the varying breeds of animals employed in each of the studies. Various studies have demonstrated that the breed of the donors has a marked effect on the superovulatory response.^{32,33} Another factor that could have had some influence is higher dosage of FSH (30 mg) used in both Smith and Maurer's studies, as opposed to the dosage used in this study (25 mg). The similarity of results found in this study and that of Heredia *et al.*³⁰ is expected, given the similar conditions found in both.

On the other hand, the superovulatory response of ewes treated with FSH + LH in this study was similar to that reported by Mejía *et al.*³⁴ and Herrera *et al.*,³⁵ who also used a superovulatory hormone with the same hormonal combination (FSH + LH). Mejía *et al.*, report averages of 6.5 for TO + E, 3.56 for TE and 2.94 for nTE, while Herrera *et al.*, using Pelibuey ewes, report averages of 10.2 for CL, 4.40 for TO + E and 3.46 for TE.

Regarding pregnancy rate, the present study found this to be greater in recipients with 0 ± 12 hours of asynchrony, being statistically different from that observed in recipients with greater than 12 hours of asynchrony. These results concur with previous studies that mention that better pregnancy rates are obtained when embryos are transferred to recipients that

porcentaje (58.3; n = 14) correspondió al grupo de receptoras que presentaron el estro con 0 ± 12 horas de asincronía y fue estadísticamente diferente ($P < 0.05$) al porcentaje de gestación obtenido en el grupo de receptoras que presentaron el estro con más de 12 horas de asincronía (20%; n = 3).

Discusión

En este estudio aunque no se encontró diferencia estadística, la respuesta superovulatoria en las ovejas tratadas con FSH fue ligeramente mayor en el total de óvulos y embriones y embriones transferibles, comparada con la respuesta obtenida de las ovejas tratadas con FSH + LH; la diferencia en los promedios, aunque pequeña, puede deberse, en parte, a que se utilizó una hormona que contiene una alta relación o proporción (50%) entre la hormona foliculo estimulante y la hormona luteinizante. Diversos estudios informan que cuando se utilizan para la superovulación FSH con una alta relación o proporción de LH, se afecta la respuesta superovulatoria.^{8,10,28} La alta concentración de LH quizá genere mayor estímulo en los ovarios, lo que ocasiona mayor desarrollo folicular, al haber mayor número de folículos existe la posibilidad de más producción de estrógenos, lo que puede crear un desbalance entre los estrógenos y la progesterona que podría afectar el transporte de los gametos (óvulos y espermatozoides), de los embriones, así como el desarrollo embrionario.^{18,29}

En cuanto a los promedios obtenidos en las ovejas de este estudio, tratadas con FSH, son similares a los registrados por Heredia *et al.*,³⁰ en ovejas Pelibuey tratadas con 25 mg de FSH, quienes encontraron promedios de 6.7 en el total de óvulos + embriones (TO + E) y 5.9 para el promedio de embriones transferibles (ET). Sin embargo, inferiores a los señalados por Smith³¹ y Maurer.³² Smith, trabajando con ovejas cruzadas, obtuvo promedio de 14.39 CL, 8.44 ET y 0.72 embriones no transferibles (EnT); por su parte, Maurer obtuvo 14.8 CL, 12.1 TO + E, y 7.1 ET en ovejas Suffolk.

Estas diferencias podrían explicarse por la diferente raza de animales empleados. Diversos estudios han demostrado que la raza de las donadoras tiene un efecto marcado sobre la respuesta superovulatoria.^{32,33} Otro factor que pudo haber influido es que en los estudios de Smith y Maurer se utilizaron dosis mayores de FSH (30 mg) que en los animales de este estudio (25 mg). En cuanto a la similitud en la respuesta encontrada aquí con el trabajo de Heredia *et al.*,³⁰ ésta era de esperarse, debido a que las condiciones fueron similares en ambos estudios.

Por otro lado, la respuesta superovulatoria de las ovejas tratadas con FSH + LH en este estudio fue similar a la registrada por Mejía *et al.*,³⁴ y Herrera *et al.*,³⁵ quienes también utilizaron como hormona superovulatoria el

have presented estrus with less than 12 hours of asynchrony (be it before or after) with respect to estrus in the donors.^{12,18-20}

The results of the present study differ from what is reported by Mejia and Mejia *et al.*,^{36,37} who did not find differences in the gestation percentage when transferring embryos with up to three days of asynchrony. Mejia observed that fertility was 83.33% when the recipients were synchronized with the donors (at the sixth postestrus day), and that fertility was not statistically different ($P > 0.05$) when the recipients presented three days of asynchrony (57.14%), only finding a difference ($P < 0.05$) when recipients had four days of asynchrony (5.26%). In another study, Mejia *et al.*³⁶ observed that when the recipients were synchronized with the donor at the sixth postestrus day, fertility was 86.66%, and was not statistically different ($P > 0.05$) when there were three days of asynchrony (68.75%).

Another difference found between the results of the present study and those of Mejia¹⁷ and Mejia *et al.*, are the pregnancy rates obtained. In this study, recipients with 0 ± 12 hours of asynchrony had a pregnancy rate of 58.3, while this value dropped to 20 in recipients with greater than 12 hours of asynchrony. In the studies carried out by Mejia¹⁷ and Mejia *et al.*,^{36,37} pregnancy rates were between 77.77 and 86.66 in recipients that were synchronized with the donors, and were 57.14 and 68.75 in recipients with three days of asynchrony. These last percentages are more similar to those obtained in the recipients with greater synchrony in the present study.

The differences found between the results in this study and those reported by Mejia¹⁷ and Mejia *et al.*,^{36,37} could be explained by the different types of animals used. However, a more probable explanation would be the differences in climate in the studies. The studies by Mejia and Mejia *et al.* were carried out in semicold-semihumid climate [c(w) (w) b (ij)], whereas the present study was carried out in a warm-subhumid climate (Aw0). Various studies have demonstrated that high temperatures, such as those found in the tropics, can affect maternal-embryo synchrony through an alteration of the uterine environment or of the embryo^{21,22} that leads to inadequate maternal recognition of gestation, thus affecting the embryo survival rate and fertility.^{38,39}

The importance of adequate synchronization between estrus in the donor and in the recipient lies in the short interval that exists between the signals that are emitted and their recognition by the uterus. Roberts *et al.*⁴⁰ mentions that an embryo at around day 12 or 13 of gestation secretes appreciable quantities of ovine trophoblastic protein (oTP-1), which ensures the rescue of the *corpus luteum* and is the most important message

mismo tipo de combinación hormonal (FSH + LH); Mejía *et al.* informan promedios de 6.5 TO + E, 3.56 de ET y 2.94 de EnT. Por su parte, Herrera *et al.*, en ovejas Pelibuey, registraron promedios de 10.2 CL, 4.40 TO + E y 3.46 ET.

Con respecto a los porcentajes de gestación, en el presente estudio se encontró que fue mayor en las receptoras con 0 ± 12 horas de asincronía, y este porcentaje fue diferente estadísticamente al observado en las receptoras que presentaron el estro con más de 12 horas de asincronía. Estos resultados concuerdan con estudios previos que mencionan que los mejores porcentajes de gestación se obtienen cuando se transfieren embriones en receptoras que presentaron el estro con menos de 12 horas de asincronía (antes o después) con respecto al estro de las donadoras.^{12,18-20}

Los resultados del presente estudio difieren de lo mencionado por Mejía¹⁷ y Mejía *et al.*,^{36,37} quienes no encontraron diferencias en el porcentaje de gestación cuando transfirieron embriones hasta con tres días de asincronía. Mejía observó que la fertilidad fue de 83.33% cuando las receptoras estaban en sincronía con las donadoras (al día seis posestro), y que la fertilidad no fue diferente estadísticamente ($P > 0.05$) cuando las receptoras tenían tres días de asincronía (57.14%), y sólo encontró diferencia ($P < 0.05$) cuando las receptoras tenían cuatro días de asincronía (5.26%). En otro estudio, Mejía *et al.*³⁶ observaron que cuando las receptoras se encontraban en sincronía con la donadora al día seis posestro la fertilidad fue de 86.66%, y no fue diferente estadísticamente ($P > 0.05$) la fertilidad de las receptoras que tenían tres días de asincronía (68.75%).

Otra diferencia encontrada entre los resultados del presente estudio y los de Mejía¹⁷ y Mejía *et al.*, son los porcentajes de gestación obtenidos; aquí se obtuvo 58.3 en las receptoras con 0 ± 12 horas de asincronía y 20 en las receptoras con más de 12 horas de asincronía; en los estudios de Mejía¹⁷ y Mejía *et al.*,^{36,37} los porcentajes de gestación se encuentran entre 77.77 y 86.66 en las receptoras que estaban en sincronía con las donadoras, y los porcentajes de gestación en las receptoras que tenían tres días de asincronía estaban entre 57.14 y 68.75. Estos últimos porcentajes se asemejan más a los obtenidos en las receptoras con mayor sincronía de este estudio.

Las diferencias encontradas entre los resultados de este estudio y los mencionados por Mejía¹⁷ y Mejía *et al.*,^{36,37} pudieran explicarse por el diferente tipo de animales empleados. Sin embargo, una explicación más probable podría ser por las diferencias climáticas entre los estudios; los trabajos de Mejía y Mejía *et al.* fueron realizados en condiciones de clima semifrío-semihúmedo [tipo c(w) (w) b (ij)] y el presente estudio se realizó en un clima cálido-subhúmedo (tipo Aw0). Diversos trabajos han demostrado que las altas temperaturas, características de los trópicos, pueden afectar la sincronía materno-embriónica, a través de la alteración del ambiente uterino o del

for the recognition of gestation.⁴¹ Likewise, the uterus is programmed to establish a pulsing and luteolytic secretion of PGF2 α at around day 14 or 15 of the estrus cycle.⁴² Therefore, there are only one or two days for the adequate recognition of gestation without which there is embryonic loss.

High environmental temperatures modify not only the synchrony between these signals that are emitted by the embryo and their reception by the uterus,^{21,22} but also the pregnancy rate. According to the results obtained, this may have occurred in the present study, since apart from observing differences in the pregnancy rate depending on the level of synchronization, there was also an overall lower pregnancy rate than in other studies.^{17,36,37} This highlights the importance of excellent synchronization between the estrus of the recipients and the donors who live in tropical climates.

The results of this study showed no significant differences between the hormones used to obtain a superovulatory response. They also indicate that the level of estrus synchrony between donors and recipients significantly affected the pregnancy rate, the latter being greater when embryos were transferred to recipients with 0 ± 12 hours of asynchrony.

Acknowledgements

This study was carried out with financial support from the "Fundación Yucatán Produce, A.C.". The authors wish to thank "Laboratorios Sereno" and "Invervet" for donating the hormonal products.

Referencias

1. Crosby TF. Superovulation in sheep: the effects of pFSH type and ewe breed. *Theriogenology* 1993;39(Abstr):205.
2. Bindon BM, Piper LR, Cahill LP, Driancourt MA and O'Shea T. Genetic and hormonal factors affecting superovulation. *Theriogenology* 1986;25:53-70.
3. Ishwar AK, Memon MA. Embryo transfer in sheep and goats: a review. *Small Rumin Res* 1996;19:35-46.
4. Armstrong DT, Evans G. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology* 1983;19:31-42.
5. Mahmood S, Koul GL, Biswas JC. Comparative efficacy of FSH-P and PMSG on superovulation in Pashmina goats. *Theriogenology* 1991;35:1191-1196.
6. Jabbour HN, Evans G. Ovarian and endocrine responses of merino ewes to treatment with PMSG and/or FSH-P. *Anim Reprod Sci* 1991;26:93-106.
7. Donaldson LE, Ward DN. Superovulation in cattle: dose response to FSH-W with and without LH contamination. *Theriogenology* 1985;23(Abstr):189.
8. Chupin D, Combarnous Y, Procureur R. Antagonistic effect of LH on FSH-induced superovulation in cattle. *Theriogenology* 1984;21(Abstr):229.

embrión,^{21,22} lo que conduce a un inadecuado reconocimiento materno de la gestación, que afecta la tasa de sobrevivencia del embrión y la fertilidad.^{38,39}

La importancia de la adecuada sincronía entre el estro de la donadora y el de la receptora, radica en el corto intervalo que existe entre las señales que emite y a su reconocimiento por el útero. Roberts *et al.*⁴⁰ mencionan que el embrión alrededor de los días 12-13 de la gestación secreta cantidades apreciables de la proteína trofoblástica ovina (oTP-1), que se encarga de rescatar al cuerpo lúteo y que constituye el mensaje más importante para el reconocimiento de la gestación.⁴¹ Asimismo, el útero está programado para establecer alrededor de los días 14 o 15 del ciclo estral, un patrón de secreción pulsátil y luteolítico de la PGF2 α .⁴² Por tanto, sólo se cuenta con uno o dos días para que se produzca el reconocimiento materno de la gestación, y de no realizarse adecuadamente ocurre la pérdida embrionaria.

La elevada temperatura ambiente modifica no sólo la sincronía entre las señales que emite el embrión y su recepción por el útero,^{21,22} también los porcentajes de gestación. De acuerdo con los resultados obtenidos, quizá ocurrió esta situación en el presente estudio, ya que aparte de que se observó diferencia en los porcentajes de gestación dependiendo el grado de sincronía, también se encontró menor porcentaje de gestación en comparación con otros estudios,^{17,36,37} lo que demuestra la importancia de que exista, bajo condiciones de trópico, una estrecha sincronía entre el estro de las receptoras y el de las donadoras.

Los resultados de este estudio no muestran diferencias significativas entre las hormonas en la respuesta superovulatoria, e indican que el grado de sincronía del estro entre las donadoras y receptoras afectó significativamente la tasa de gestación, siendo ésta mayor cuando se transfirieron los embriones en las receptoras con 0 ± 12 horas de asincronía.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el apoyo financiero de la Fundación Yucatán Produce, A. C. Los autores agradecen a los Laboratorios Sereno e Intervet la donación de los productos hormonales.

9. Wierzchos E, Tischner M, Maffil M. Superovulation in a low fecundity sheep breed using a porcine gonadotrophin extract with a defined LH content. *Theriogenology* 1992;38:147-152.
10. Chupin D, Combarnous Y, Procureur R. Different effect of LH on FSH-induced in two breeds of cattle. *Theriogenology* 1985;23(Abstr):184.
11. Hernández JJ, Mejía VO, García GM, Cornejo TMA y Gutiérrez GC. Efecto de la respuesta superovulatoria, estadio de desarrollo y calidad del embrión sobre la gestación en

- borregas receptoras. Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatría; 2001 agosto 16-18; Veracruz (Veracruz) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2001:228.
12. Moore JW, Shelton JN. Egg transfer in sheep, effect of degree of synchronization between donor and recipients, age of egg, and site of transfer on the survival of transferred eggs. *J Reprod Fertil* 1964;7:145-152.
 13. Sreenan JM, Diskin MG. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 1987;27:99-111.
 14. Ashworth CJ. Synchrony embryo-uterus. *Anim Reprod Sci* 1992;28:259-267.
 15. Armstrong DT, Pfitzner AP, Warnes GM, Seamark RF. Superovulation treatments and embryo transfer in angora goats. *J Reprod Fertil* 1983;67:403-410.
 16. Pope WF. Uterine asynchrony: a cause of embryonic loss. *Biol Reprod* 1988;39:999-1003.
 17. Mejía VO. Infertilidad por asincronía materno embrionaria en ovejas (tesis de doctorado). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1999.
 18. Wilmut I, Sales NI, Ashworth CJ. The influence of variation in embryo stage and maternal hormone profiles on embryo survival in farm animals. *Theriogenology* 1985;23:107-119.
 19. Rowson LEA, Moor RM. Embryo transfer in the sheep: the significance of synchronizing requirements. *J Reprod Fertil* 1966;11:207-212.
 20. Rowson LEA, Lawson RAS, Moor RM, Baker AA. Egg transfer in the cow: synchronization requirements. *J Reprod Fertil* 1972;28:427-431.
 21. Biggers BG, Geisert RD, Wettemann RP, Buchanan DS. Effect of heat stress on early embryonic development in the beef cow. *J Anim Sci* 1987;1512-1518.
 22. Putney DJ, Drost M, Thatcher WW. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between 1 to 7 post insemination. *Theriogenology* 1988;30:195-209.
 23. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática: Anuario estadístico del Estado de Yucatán. México (DF): INEGI, 1993.
 24. Russel A. Body condition scoring of sheep. In *Practice* 1984;May:91-92.
 25. Aké-López JR, Alfaro-Gamboa M, Herrera-Camacho J. Técnica de ovulación múltiple y transferencia de embriones. Memorias del Curso Teórico-Práctico de Ovulación Múltiple y Trasplante de Embriones en Ovinos; 1998 julio 13-18; Mochochá (Yucatán), Yucatán, México. Mérida (Yucatán) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán y Campo Experimental Mochochá-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 1998:107-132.
 26. Lindner MG, Wright WR. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 1983;20:407-417.
 27. Steel RGD, Torrie JH. Bioestadística: principios y procedimientos. México (DF): McGraw Hill, 1985.
 28. Armstrong DT, Opavsky MA. Biological characterization of a pituitary FSH preparation with reduced LH activity. *Theriogenology* 1986;25(Abstr):135.
 29. Saumande J. Concentrations of luteinizing hormone o estradiol-17 beta and progesterone in the plasma of heifers treated to induce superovulation. *J Endocrinol* 1980;84:423-437.
 30. Heredia AM, Rojas RO, Aké LR, Centurión CF, Alfaro GM. Resultados preliminares de ovulación múltiple y transferencia de embriones en ovejas Pelibuey en condiciones de trópico. Memorias de la XXXII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria-Morelos; 1996 diciembre 2-4; Cuernavaca (Morelos) México. México (DF): Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 1996:323.
 31. Smith CL. Dose effect of follicle stimulating hormone for superovulation of crossbred Targhee ewes. *Theriogenology* 1984;21(Abstr):262.
 32. Maurer RR. Superovulation with FSH in Dorset and Suffolk ewes. Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination; 1988 June 26-30; Dublin, Ireland. Dublin, Ireland: University College Dublin 1988:174-175.
 33. Tervit HR, Goold PG, McKenzie RD. Development of an effective goat embryo transfer regime. *Proc NZ Soc Anim Prod* 1986;46:233-236.
 34. Mejía VO, Angulo MR, Valencia MJ, Becerril CM. Superovulación de ovejas donadoras, de embriones utilizando Pluset. Memorias de la XXXIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria-Veracruz; 1997 noviembre 3-8; Veracruz (Veracruz) México. México (DF): Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 1997:144.
 35. Herrera CJ, Aké LR, Centurión CF, Alfaro GM, Heredia GJ, Rojas RO. Respuesta superovulatoria de ovejas Pelibuey en dos épocas del año. Memorias de la XXXIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Veracruz; 1997 noviembre 3-8; Veracruz (Veracruz) México. México (DF): Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 1997:160.
 36. Mejía VO, Balcázar SA, Zarco QL, Valencia MJ, Rojas MS. Sobrevivencia de embriones ovinos transferidos en asincronía mediante la administración de líquido folicular equino. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF) SAGAR, UACH, Paipeme, CP, UNAM.FMVZ.FESC. *Vet Méx* 1995;26(Supl 2):342.
 37. Mejía VO, Zarco QL, Rosas GM, Valencia MJ. Efecto del líquido folicular equino y la somatotropina bovina en la sobrevivencia de embriones transferidos asincrónicamente. *Vet Méx* 1998;29:359-367.
 38. Thatcher WW, Bazer FW, Sharp DC, Roberts RM. Interrelationship between uterus and conceptus to maintain *corpus luteum* function during early pregnancy. Sheep, cattle, pigs and horses. *J Anim Sci* 1986;62(Suppl 2):47-61.
 39. Thatcher WW, Staples CR, Dant-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EP. Embryo health and mortality sheep and cattle. *J Anim Sci* 1994;72(Suppl 3):16-30.
 40. Roberts RM, Leaman WD, Cross CJ. Role of interferons in maternal recognition of pregnancy in ruminants. *Soc Exp Biol Med* 1992;200:7-18.
 41. Hunter MG. Characteristic and causes of the inadequate *corpus luteum*. *J Reprod Fertil* 1991;43:91-99.
 42. Zarco L, Stabenfeldt GH, Basu S, Bradford GE, Kindahl H. Modification of prostaglandin F-2 α and release in the ewe during the initial establishment of pregnancy. *J Reprod Fertil* 1988;83:527-536.