

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**RESPUESTA REPRODUCTIVA DE OVEJAS INSEMINADAS A TIEMPO
FIJO VÍA CERVICAL CON UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE
ESTROS EN BASE A PROSTAGLANDINA, SUPLEMENTADAS O NO CON
HARINA DE SOJA**

Por

ORTIZ MARQUEZ, Paula Florencia

OSORES CERRUTTI, María Eloísa

TESIS DE GRADO: presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación Producción Animal

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY**

2015

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa

Ing. Agr. Martin Claramunt

Segundo miembro (tutor)

Dr. Julio Olivera Muzante

Tercer miembro

Dra. Daniela Crespy

Cuarto miembro

Dra. Georgget Banchemo

Fecha

29 / 09 / 2015

Autores

Br. Paula Ortiz Márquez

Br. Eloísa Osoro Cerrutti

AGRADECIMIENTOS

- A nuestro tutor el Dr. Julio Olivera y a nuestra co-tutora la Dra. Georget Banchero por la gran paciencia y dedicación que nos tuvieron tanto a lo largo del ensayo experimental como en el transcurso de la tesis.
- Al proyecto INIA FPTA 315
- A la Dra. Carolina Viñoles y al Dr. Sergio Fierro por la colaboración en las ecografías, y al Dr. Jorge Gil por sus aportes en reproducción.
- A la familia Errandonea-López por brindarnos hospitalidad y tratarnos como parte de la familia durante nuestra estadía en Tomás Gomensoro.
- A los funcionarios de la biblioteca de Facultad de Veterinaria por ayudarnos con los materiales necesarios y con la corrección final de la bibliografía.
- A Facultad de Veterinaria por abrirnos sus puertas y permitirnos formarnos académicamente.
- A todos nuestros compañeros y amigos que la carrera nos dejó, que sin ellos hubiera sido más difícil el transcurso por esta etapa.
- A nuestras amistades y pareja por estar incondicionalmente apoyándonos tanto en los buenos momentos como en los no tan buenos, y principalmente a nuestras familias por darnos la gran oportunidad de cumplir esta gran meta, que sin ellos esto no podría haber sido posible.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS	3
TABLA DE CUADROS Y FIGURAS	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY	7
INTRODUCCIÓN	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
Ciclo estral ovino	10
Dinámica folicular en ovinos.....	11
Inseminación artificial (IA).....	13
Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)	15
Protocolos de IATF	15
Protocolos de IATF en base a PGF2 α	16
Alternativas para mejorar la TO	18
Alimentación focalizada.....	18
HIPÓTESIS	22
OBJETIVOS	22
Objetivo general:	22
Objetivos específicos:.....	22
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Animales:.....	22
Manejo Nutricional:	22
Manejo Sanitario:	23
Diseño Experimental:.....	23
Inseminación Artificial:.....	23
Mediciones en la pastura y en el suplemento:	24
Variables productivas:	24
Variables reproductivas:.....	24
Análisis estadístico:	25
RESULTADOS	26
Evolución del PV y CC	27
Peso vivo:	27
Condición Corporal:	28

Consumo voluntario estimado de MS	28
Consumo de PC estimada.....	29
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIÓN.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34

TABLA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS:

Cuadro 1: Respuesta ovulatoria de ovejas Merino multíparas en estro inducido con dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG) separadas 15 días, con o sin alimentación focalizada con harina de soja. 26

Cuadro 2: Respuesta reproductiva de ovejas Merino multíparas en estro inducido con dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG) separadas 15 días e IATF, con o sin alimentación focalizada con harina de soja previo al servicio. 26

FIGURAS:

Figura 1: Endocrinología del ciclo estral (adaptado de Senger, 1999). 10

Figura 2: Esquema del crecimiento folicular en ondas en la oveja (en base a Senger, 2005 y Fierro, 2010). 12

Figura 3: IA por técnica cervical sobre el tubo. 14

Figura 4: IA por técnica intrauterina laparoscópica en camillas. 14

Figura 5: Representación de las diferentes instancias que se realizaron en el trabajo. 25

Figura 6: Representación de la evolución del peso vivo a lo largo del ensayo... 27

Figura 7: Representación de la evolución de la condición corporal a lo largo del ensayo. 28

Figura 8: Representación del consumo estimado de proteína cruda 29

RESUMEN

El objetivo de este experimento fue estudiar la respuesta reproductiva de ovejas Merino Australiano, en estro inducido con un análogo sintético de prostaglandina F_{2α} (PG) e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) vía cervical, que recibieron o no, una suplementación proteica de corta duración en base a harina de soja previo al servicio. El experimento se realizó en el establecimiento “El Recuerdo” de la familia Errandonea López, ubicado en la localidad de Tomás Gomensoro, Artigas, Uruguay (-30,4° S, -57,4° O). Se utilizaron 218 ovejas multíparas, en estación reproductiva, manejadas sobre tapiz natural (1305 Kg/MS/ha masa de forraje; PC 11,1%, FDA 38,3%), conformándose 2 grupos en base a condición corporal (CC) (3,2 ± 0,2 puntos de condición corporal) y peso vivo (PV) (39,4 ± 6,2 Kg) promedio. Cada grupo fue sincronizado con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina (PG) separadas 15 días (PG15), el grupo control (PG15) y grupo suplementado (PG15+Hsoja) respectivamente. Se les realizó IATF (Día 0) 56 ± 1,5 horas después de la segunda PG, con semen heteroespérmico fresco de 5 carneros adultos Merino Dohne. A ambos grupos se le ofreció una oferta de forraje de 6,8 Kg MS/100 Kg de peso vivo/ día de campo natural y al grupo PG15+Hsoja además se les ofreció 1,14 Kg MS/100 Kg PV/ día de harina de soja (PC 52%, FDA: 9%) durante 5 días previos a la administración de la segunda PG (Días -7 a -2). Las ovejas permanecieron juntas en la pastura de campo natural por 26 días y sólo se separaron durante la suplementación. Se evaluó el porcentaje de ovejas que ovularon (número de ovejas con cuerpo lúteo/total en servicio*100), la tasa ovulatoria (TO; N° cuerpos lúteos/oveja ovulada) y el nivel ovulatorio (N° cuerpos lúteos/total de ovejas en servicio) mediante ecografía transrectal al Día 8; la fertilidad (ovejas gestantes/total de ovejas en servicio*100), prolificidad (fetos/ovejas gestantes) y fecundidad (fetos/total de ovejas en servicio*100) mediante ecografía transabdominal al Día 60; y la tasa de no retorno al estro entre el Día 13 y 21 (ovejas que no retornan al servicio/ovejas inseminadas que ovulan*100; NR_D21) mediante detección con capones androgenizados a razón de 3/100 ovejas. Se estimó consumo de forraje, proteína cruda (PC) del forraje y del suplemento durante el período de suplementación para los dos grupos de ovejas. No se observaron diferencias significativas entre grupos en el porcentaje de ovejas ovuladas (100 vs. 100%; P>0,05), pero si en TO (1,06 vs. 1,36) y/o nivel ovulatorio (106 vs 136%, P<0,05), a favor del grupo PG15+Hsoja. No se observaron diferencias significativas (P>0,05) entre grupos en NR_D21 (63,3 vs. 65,1%) y/o fertilidad (61,5 vs 63,3%), pero si en prolificidad (1,03 vs. 1,23; P<0,05) y fecundidad (63,3 vs 78,0%; P=0,07) a favor del grupo PG15+Hsoja. El consumo estimado de proteína cruda de las ovejas PG15+Hsoja y PG15 fue de 284 y 79,9 gr. por oveja por día respectivamente. Se concluyó que una suplementación proteica “focalizada” previa a la IATF de ovejas sincronizadas con dos dosis de PG separadas 15 días mejora la respuesta ovulatoria (TO y nivel ovulatorio) y la respuesta reproductiva (prolificidad y fecundidad).

SUMMARY

The objective of this experiment was to study the reproductive performance of Australian merino sheep in induced estrus with a synthetic analogue of prostaglandin F_{2α} (PG) and cervical timed artificial insemination (TAI), which received a pre-service protein supplementation of soybean meal. The experiment was performed in the farm "El Recuerdo" belonging to Errandonea Lopez family, located in the town of Thomas Gomensoro, Artigas, Uruguay; (-30.4 ° S, -57.4 ° W respectively). 218 multiparous ewes in breeding season were used. The ewes were managed on native pastures (forage mass 1305 Kg / DM / ha; CP 11.1%, 38.3% ADF), sorted in two groups based on their body condition (BC) (3, 2 ± 0.2 points BCS) and body weight (39, 4 ± 6, 2 Kg). Each group was synchronized with two doses of a synthetic analogue of prostaglandin (PG) separated 15 days (PG15), the control group (PG15) and supplemented group (PG15 + Hsoja) respectively. Performing TAI (Day 0) 56 ± 1.5 hours after the second PG, with fresh heterospermic sperm of 5 adults Merino Dohne rams. Both groups were offered 6, 8 kg MS/100 kg PV/ day of native pasture forage per ewe per day and the group PG15 + Hsoja were offered the same amount of forage and were supplemented with 1, 14 Kg MS/100 Kg PV/ day of soybean meal/ewe/day (52% CP, 9 % ADF) for 5 days prior to administration of the second PG (days -7 to -2). The ewes grazed together for 26 days and were only separated during supplementation. The percentage of ovulating ewes (number of ewes with CL/ number of ewes on service * 100), ovulation rate (OR; number of CL/ number of ewes with CL) and the ovulatory level (number of CL/number of ewes on service) were assessed by ultrasound transrectal at Day 8; fertility (total pregnant ewes/ewes in service * 100), prolificacy (number of fetuses/pregnant ewes) and fecundity (number of fetuses/total ewes in service * 100) by transabdominal ultrasound at Day 60; and the rate of no return to estrus between Day 13 and 21 (ewes not returning to service/inseminated ewes that ovulated * 100; NR_D21) detected using 3% androgenized wethers (teasers). Amount of forage and forage and supplement crude protein intake were estimated during the supplementation period for the two groups of ewes. No significant differences in the percentage of ovulated ewes (100 vs 100%, P > 0.05) between groups were observed, but OR (1.36 vs 1.06) and ovulatory level (136 vs 106%, P < 0.05) were higher in PG15 + Hsoja group compared to control group. There was no differences (P > 0.05) for NR_D21 (63.3 vs 65.1%) and fertility (61.5 vs 63.3%) between groups. Prolificacy (1.03 vs 1.23, P < 0.05) and fecundity (63.3 vs 78.0%; P = 0.07) were higher in PG15 + Hsoja group compared to control group. The estimated intake of crude protein were 284 y 79, 9 gr./ewe/day for PG15+Hsoja and PG15 ewes respectively. It was concluded that a short period of protein supplementation before IATF in sheep synchronized with two doses 15 days apart PG improves ovulatory response (OR and ovulatory level) and reproductive response (prolificacy and fecundity).

INTRODUCCIÓN

Luego de una importante caída del stock ovino en las dos últimas décadas, nuestro país vive un período de aparente estabilidad en lo que se refiere a la producción ovina y sus productos, con la aparición de nuevos mercados y mejores valores de exportación, tanto para lana y sobre todo para carne ovina de calidad (SUL, 2015). Esto ha provocado una nueva revalorización del ovino, y el interés de muchos de los productores ligados aún a ésta especie (MGAP-DIEA, 2014), a maximizar la producción y la eficiencia económica del mismo.

Existen diferentes herramientas reproductivas para maximizar la producción ovina, dentro de ellas se encuentra la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Esta biotecnología reproductiva permite propiciar un “manejo ovino de precisión” (Ponzoni, 2014), y en consecuencia maximizar la eficiencia de este rubro.

La IATF aparece como una alternativa útil para minimizar algunos problemas y/o costos derivados de la IA tradicional a esto detectado, como ser: disponibilidad de mano de obra, errores en la detección de estro, problemas sanitarios, etc. Además la IATF permitiría, por concentrar en forma importante los eventos, una utilización más eficiente de los escasos recursos disponibles en un predio, como ser una alimentación focalizada pre-servicio y pre-parto, el uso eficiente de la mano de obra (por posibilitar una parición concentrada y por ende mejor controlada), además de progenies mucho más parejas para su cría e invernada (Olivera y Gil, 2005).

Sin embargo, para lograr una IATF exitosa es importante lograr una efectiva sincronización de estros y ovulaciones, para luego poder inseminar el mayor número de hembras por día sin la necesidad de detectar estros (Menchaca y Rubianes, 2004). Los protocolos más difundidos en ovinos han sido en base al uso de progestágenos (dispositivos intravaginales) y eCG (gonadotropina coriónica equina) (P4-eCG). Estos protocolos han evidenciado aceptables resultados desde el punto de vista reproductivo, además de ofrecer la posibilidad de ser usados dentro y fuera de la estación reproductiva (Gordon, 1983). Sin embargo, para masificar esta biotecnología resulta importante alcanzar aceptables resultados con protocolos menos costosos, de más fácil implementación, con buenos resultados por la vía cervical, y que consideren aspectos del bienestar “humano-animal-ambiental” (residuos en carne y leche, estrés animal por manejos prolongados, residuos en ambiente; Olivera-Muzante y col. 2011b; Fierro y col. 2014).

Es por ello, que los protocolos en base a prostaglandina (PG) y/o sus análogos sintéticos podrían ser una alternativa viable al uso de P4-eCG (Olivera-Muzante y col., 2011b). En este sentido, y luego de sucesivos ensayos básicos y aplicados (Dutra da Silveira y Soler, 2013; Hourcade y Pechi, 2014; Bonino y Grela, 2014) concluyen que, una separación entre dosis de PG igual o mayor a 12 días determinaría una mejor respuesta reproductiva a la IATF que la obtenida con un protocolo de 7 días o incluso 10 días de separación. Trabajos posteriores evidenciaron que separaciones entre dosis de PG de 14 a 16 días igualarían incluso la fertilidad obtenida con el protocolo en base a P4 y eCG (Olivera-Muzante y col., 2013; Bentancor y González, 2015), constituyéndose así en alternativas de sincronización de estros e IATF vía cervical con semen fresco más “limpias, verdes y éticas” que las tradicionales.

Por otra parte los tratamientos nutricionales a “corto plazo” o de efecto “inmediato” (“focus feeding”, “flushing corto” o “alimentación focalizada”) mejorarían la tasa ovulatoria (TO: n° cuerpos lúteos/oveja) (Smith and Stewart, 1990; Downing y col., 1995; Viñoles y col., 2009; Scaramuzzi y col., 2010; Viñoles y col., 2010) en nuestras majadas debido al incremento de nutrientes y hormonas en plasma que actúan directamente a nivel ovárico, generando crecimiento y desarrollo de folículos sensibles a las gonadotrofinas (Muñoz-Gutiérrez y col., 2002, 2004, 2005; Scaramuzzi y col., 2006, 2010). Estos tratamientos inducen cambios dinámicos en el metabolismo homeostático de los animales ya desde los 3 días de suplementados (Teleni y col., 1989 a,b; Viñoles y col., 2005). Existen antecedentes de esta alternativa nutricional asociados a protocolos de IATF en base a P4 y eCG (Viñoles y col., 2012), o a protocolos en base a PG actuando sobre la primer “onda folicular” (Viñoles y col., 2010; Fierro y col., 2014) pero no asociados a los nuevos protocolos “largos” con PG (administradas en diferentes intervalos de tiempo: 10, 12, 13, 14, 15 o 16 días). Como resulta de interés mejorar la TO y/o prolificidad de las ovejas con el uso de éstos protocolos es que se plantea el siguiente trabajo experimental, que combina la suplementación focalizada con los “protocolos largos” de PG.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Ciclo estral ovino

El ciclo estral (CE; figura 1) es un conjunto de eventos que se repiten sucesivamente. En la oveja tiene una duración promedio de 17 días, se repiten en el animal no gestante durante un período del año, principalmente en el otoño (especie poliéstrica estacional; Ungerfeld, 2002).

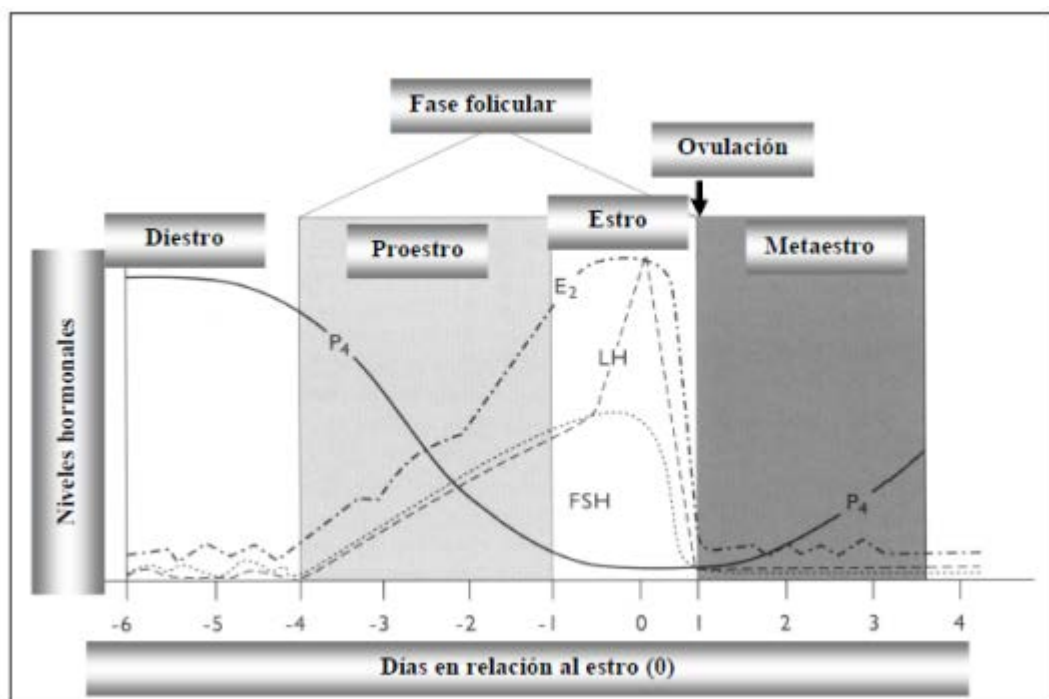


Figura 1: Endocrinología del ciclo estral (adaptado de Senger, 1999).

El ciclo estral es más corto en corderas que en ovejas adultas (16,8 y 17,2 días respectivamente; Uribe-Velásquez y col., 2009). El apareamiento se realiza preferentemente a fines de verano y durante el otoño, en los cuales se observa el comportamiento de estro y ovulaciones espontáneas (de Castro y col., 2007), produciéndose los partos en primavera cuando las condiciones climáticas son más favorables respecto a las demás épocas del año, incrementando de esta manera la supervivencia de los corderos recién nacidos (Pineda, 1991).

Se han definido dos fases del ciclo estral en hembras ovinas: una fase luteal desde el segundo día hasta el día 13, y una fase folicular que comprende desde el día 14 hasta el día primero, entendiéndose como día cero (0) el día de presentación del estro (Ungerfeld, 2002). A su vez estas fases pueden subdividirse en proestro (desde la luteólisis hasta el inicio del estro), estro (periodo en el cual la hembra es receptiva al macho), metaestro (desde el final del estro hasta la formación del cuerpo lúteo (CL)), y diestro (presencia del cuerpo lúteo activo; Fernández Abella, 1993; Ungerfeld, 2002).

Dado que el ciclo estral resulta de la coordinación fundamentalmente de 4 órganos (cerebro, hipófisis, ovarios y útero), debemos analizar cómo se vinculan éstos entre sí. La comunicación se realiza fundamentalmente (aunque no exclusivamente) a través de hormonas (Ungerfeld, 2002).

La hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) estimula la liberación de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) e induce la ovulación (pico de LH), entendiéndose por ovulación, el acto de ruptura del folículo maduro y la liberación del ovulo (Durán del campo, 1980).

La FSH es secretada en forma de picos y regula el crecimiento folicular, hay dos picos principales durante el ciclo estral, uno que coincide con el pico preovulatorio de LH y el segundo se encuentra muy próximo a la ovulación, después de 24-30 horas del primer pico (Fernández Abella, 1993). Se ha concluido que los niveles de FSH en el proestro están relacionados con la tasa ovulatoria y que los niveles en el segundo pico repercuten en la tasa ovulatoria de los próximos ciclos estrales (Forcada Miranda, 1996). Dependiendo del tamaño folicular es la respuesta que va a tener ese folículo a la secreción de FSH (mayor a 2 mm mayor sensibilidad) (Fernández Abella, 1993), reguladas por señales de feedback por el folículo mayor el cual secreta inhibina y estradiol (Rubianes y col., 1995).

La LH es secretada en pulsos, en la etapa preovulatoria los pulsos aumentan su frecuencia y disminuyen su amplitud, mientras que en presencia de cuerpo lúteo la frecuencia es baja y la amplitud es mayor. Cada vez que hay un pulso de LH en respuesta es secretado un pulso de estradiol, siendo este, el responsable del feedback positivo en la secreción de LH (Fernández Abella, 1993) y es el factor luteotrófico más importante (Ungerfeld, 2002).

Con respecto a los estrógenos, el principal en la oveja es el 17-beta estradiol, sus funciones principales son inducir el estro, determinar el pico preovulatorio de LH y regular el comportamiento sexual (Fernández Abella, 1993).

La Progesterona (como su nombre lo indica, la hormona de la preñez) es la principal secreción del cuerpo lúteo. Induce muchas respuestas, entre las que están: estimular la hipertrofia de las glándulas endometriales, estimular el crecimiento alveolar de las glándulas mamarias, estimular la actividad secretoria del oviducto y de las glándulas endometriales, estimular el comportamiento estral fuera del periodo normal en algunas especies (oveja y perra) en combinación con estrógenos, bloquear la motilidad uterina, y regular la secreción de gonadotrofinas. Los efectos de la progesterona se producen comúnmente en sinergismo con los estrógenos (Ungerfeld, 2002).

Dentro de las PGs, las más importantes desde el punto de vista reproductivo son la F2 α (PG) y la PGE2, su acción está relacionada a la inducción al parto, ovulación, lisis del cuerpo lúteo y transporte de gametos (Fernández Abella, 1993).

Dinámica folicular en ovinos

La emergencia de los folículos (figura 2) que crecen desde 3 hasta 6 mm ocurre en ondas, en un rango de 2 a 5 ondas foliculares en cada ciclo, siendo el patrón predominante de 3 ondas que emergen respectivamente alrededor de los días 0, 6 y 11 del CE ovino. En los casos que se encontró una cuarta onda, la onda 3 emerge más tempranamente y la onda 4 emerge el día 14 (Ginther y col., 1995; Viñoles y col., 1999; Evans y col., 2000).

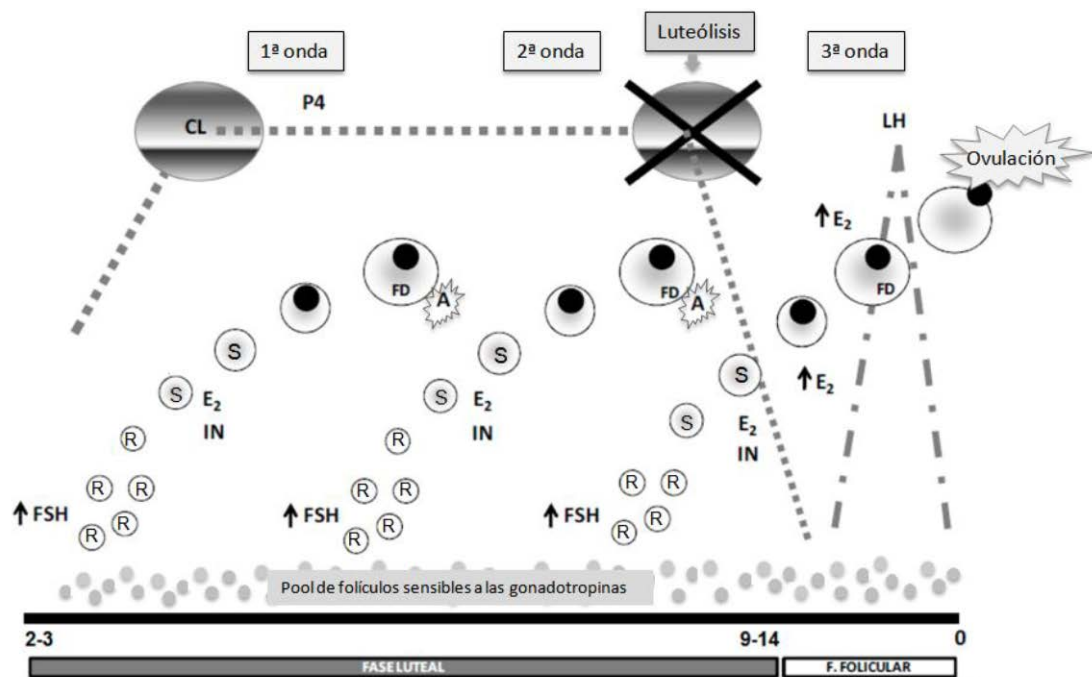


Figura 2: Esquema del crecimiento folicular en ondas en la oveja (en base a Senger, 2005 y Fierro, 2010).

CL: cuerpo lúteo; P4: progesterona; FSH: hormona folículo estimulante; LH: hormona luteinizante; S: selección folicular; FD: folículo dominante de la onda folicular; A: atresia (en presencia de altos niveles de P4, el FD de esa onda se atresia, se produce el recambio folicular - R-, y una nueva onda comienza con un pico previo de FSH, el cual se produce en presencia del FD de la onda anterior); IN: inhibina; E2: 17 β - estradiol; el FD secreta E2, ante la disminución de la P4, el folículo sigue creciendo, produciendo E2, por retroalimentación positiva se libera LH y se genera el pico preovulatorio de LH, el cual dará lugar a la ovulación del/los FD. F. Folicular: fase folicular.

Existe una relación entre la concentración de la hormona FSH y la emergencia folicular, donde un aumento en la concentración de FSH precede la emergencia de cada onda (Ginther y col., 1995; Souza y col., 1997). No obstante, la oveja es capaz de desarrollar más de un folículo dominante, fenómeno denominado co-dominancia, lo que permite la ocurrencia de ovulaciones múltiples. Las ovulaciones múltiples pueden ocurrir por el reclutamiento de un mayor número de folículos dentro de una misma onda, o por la ovulación de folículos dominantes de dos ondas consecutivas (Scaramuzzi y col., 1993).

Los niveles crecientes de P4 durante la fase lútea temprana suprimen el crecimiento del folículo dominante de la onda 1 en ovejas (Rubianes y col., 1996) y aceleran la emergencia de la siguiente onda folicular. En contraposición, niveles sublúteales de P4 prolongan la sobrevivencia del folículo dominante y extienden su dominancia (Viñoles y col., 1999). La dominancia en la fase lútea temprana del ciclo estral es mayor comparada con la que ocurre en fase lútea media o tardía (Seekallu y col., 2010). Esto podría tener implicancias en el número de folículos disponibles para ovular al momento de la segunda PG, y por ende en la TO alcanzada.

Viñoles y col. (2002), sostienen que la condición corporal (CC) afecta el número de ondas que se desarrollan durante el ciclo. Ovejas con buena CC (4,1 puntos de CC; escala 0 a 5, Russel y col., 1969) desarrollan un patrón constante

de 3 ondas, mientras que ovejas flacas (1,9 puntos de CC) desarrollan 2 o 3 ondas. Dado que las ovejas gordas tienen una tasa ovulatoria más alta que las flacas (efecto “estático” de la nutrición o peso estático) (Downing y Scaramuzzi, 1991), se plantea la asociación positiva entre la CC, el número de ondas foliculares y la TO. Debido a esto, Viñoles y col. (2003) propone la alimentación de calidad como una alternativa, que aportada en un momento dado (segunda mitad del ciclo estral, correspondiendo con la 3er onda folicular) repercutiría en la TO, debido a que el aporte de proteína y energía aumentaría los niveles circundantes de FSH durante la fase folicular, lo que conllevaría a un incremento en el número de folículos seleccionados para ovular.

Inseminación artificial (IA)

Es el método de reproducción en el que las células sexuales masculinas son transportadas al tracto genital femenino a través de medios mecánicos que sustituyen los habituales órganos especializados del macho (Durán del campo, 1980). La IA presenta varias ventajas, entre ellas la posibilidad de masificar el uso de reproductores genéticamente superiores para características de interés productivo (diámetro de lana y peso de vellón, peso corporal, conformación, etc.), ya que aumenta la cantidad de hembras que pueden ser cubiertas con el mismo macho (Duran del Campo, 1980; Gil, 2002; Menchaca y Rubianes, 2004; Vilariño y Menchaca, 2007). Desde el punto de vista operativo permite el uso de machos incapacitados físicamente, y permite el transporte del material genético de forma más económica con menores riesgos en el transporte del reproductor. Desde el punto de vista sanitario evita el contacto directo de macho y hembra previniendo la transmisión de enfermedades venéreas (Gil, 2002).

Técnicas de IA

Las diferentes técnicas de IA existentes varían dependiendo del sitio de deposición del semen. Pudiendo ser: vaginal profunda o “a ciegas”, cervical o pericervical, intrauterina quirúrgica, o intrauterina laparoscópica (Gil, 2002).

Inseminación vaginal profunda:

Consiste en depositar el semen cranealmente en la vagina sin ubicar el cérvix, es la técnica más sencilla de todas pero la mayoría de los trabajos reportan menores resultados comparando con IA cervical (Durán del Campo, 1993). Por lo tanto dicha técnica sólo se utiliza en caso de no ser posible la IA cervical, aumentando dos o tres veces la dosis de semen (Fernández Abella, 1995).

Inseminación cervical:

Esta es la técnica más utilizada hasta el momento (figura 3). La deposición de semen se realiza en la entrada del cérvix con el uso de un vaginoscopio y la pistola de inseminación. Los resultados obtenidos reflejados en el porcentaje de preñez dependen del tipo de preservación seminal. Cuando se utiliza semen fresco da como resultado una alta fertilidad, cercana a la que se obtiene con monta natural (Evans y Maxwell, 1990).



Figura 3: IA por técnica cervical sobre el tubo.

Inseminación Intrauterina (IAIU):

Más difícil y costosa que las anteriores, esta técnica (figura 4) permite depositar el semen directamente en el cuerno uterino evitando la barrera cervical. De esta forma se logran con semen congelado resultados similares a la IA cervical con semen fresco. El procedimiento más utilizado para IAIU es la laparoscopia (Ungerfeld, 2002).



Figura 4: IA por técnica intrauterina laparoscópica en camillas.

Por otra parte, según Duran del Campo (1980), la elevada mano de obra necesaria así como la escasez de la misma y la gran cantidad de excelentes carneros, quizás han actuado hasta ahora como freno al desarrollo y extensión de la técnica de IA tradicional. Es por ello, que en busca de masificar el uso de la IATF, parece importante identificar y validar otros protocolos de sincronización de celos que permitan simplificar, economizar y equiparar resultados obtenidos, y que consideren a su vez aspectos del bienestar “humano-animal-ambiental” (tiempos de espera para el consumo de carne y leche, estrés animal por

manejos prolongados, residuos en el ambiente; Olivera-Muzante y col., 2011b; Fierro y col., 2014).

Según los análisis estadísticos presentados (MGAP-DIEA, 2014), de un total de 4 millones de ovejas de cría presentes en el Uruguay, solo se inseminan 337.715 ovejas, este bajo porcentaje podría incrementarse con el planteamiento de nuevas biotecnologías (IATF vía cervical). Otro de los factores mencionados anteriormente que interesan a la hora de utilizar una IA, es la mortalidad neonatal que sigue siendo la principal pérdida reproductiva observada en nuestros sistemas ovinos extensivos (Azzarini, 2000). Hasta que no se demuestre que la mortalidad neonatal de una IATF puede ser similar (e incluso inferior por permitir una mejor vigilancia), a la acumulada en una parición de servicio natural, o de IA a estro visto, la IATF como biotecnología no crecerá.

Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)

Existen diferentes herramientas reproductivas para propiciar un “manejo ovino de precisión” (Ponzoni, 2014), y en consecuencia alcanzar una mayor eficiencia de este rubro. Una de estas herramientas es la IATF. La IATF aparece como una alternativa útil para minimizar algunos problemas y/o costos derivados de la IA tradicional con estro detectado, como ser los de disponibilidad de mano de obra, errores en la detección de estro, problemas sanitarios, etc. (Olivera y Gil, 2005).

Además la IATF permitiría, por concentrar en forma importante los eventos, una utilización más eficiente de los escasos recursos disponibles en un predio, como ser una alimentación “focalizada” pre-servicio y pre-parto, el uso eficiente de la mano de obra (por posibilitar una parición concentrada y por ende mejor controlada), además de generar progenies mucho más parejas para su recría y/o internada (Olivera y Gil, 2005). Para lograr una IATF exitosa es importante lograr una efectiva sincronización de estros y ovulaciones para luego poder inseminar el mayor número de hembras por día sin la necesidad de detectar estros (Menchaca y Rubianes, 2004).

Protocolos de IATF

Dentro de los protocolos de IATF en ovinos, los más difundidos han sido en base al uso de progestágenos (dispositivos intravaginales) y gonadotrofina coriónica equina (Colas, 1975; Gordon, 1983). Estos protocolos han generado aceptables resultados desde el punto de vista reproductivo, además de ofrecer la posibilidad de ser usados dentro y fuera de la estación reproductiva. Sin embargo, el repetido uso de la eCG ha sido asociado con una respuesta inmune humoral (Roy y col., 1999) y con el desarrollo de quistes ováricos, lo que conllevaría a una disminución de las tasas de preñez (Viñoles y col., 2001). Adicionalmente, el uso de P4 y eCG se ha limitado en algunos países debido a preocupaciones en salud pública (residuos) y en el bienestar animal (adherencias, vaginitis, etc; González-Bulnes y col., 2005). Es por ello, que en busca de masificar el uso de la IATF, parece importante identificar y validar otros protocolos de sincronización de estro que permitan simplificar, economizar y equiparar resultados obtenidos, y que consideren a su vez aspectos del

bienestar “humano-animal-ambiental” (tiempos de espera para el consumo de carne y leche, estrés animal por manejos prolongados, residuos en el ambiente; Olivera-Muzante y col., 2011b; Fierro y col., 2014).

Protocolos de IATF en base a PGF2 α

El uso de PGF2 α o sus análogos sintéticos (PG) está restringido a la estación reproductiva, ya que se basa en la capacidad de la hormona de promover la lisis del CL (McCracken y col., 1970). Las prostaglandinas naturales tienen bajas concentraciones plasmáticas debido a que un 99 % son metabolizadas en un sólo pasaje por el pulmón, por lo que no se acumulan en los tejidos y por ende no habría tiempo de espera en su uso (Davis y col., 1980; Moller-Holtkamp, 1980, citados por Fierro, 2010). Acritopolou y Haresign (1980) comprobaron que la administración de PG entre los días 5 y 14 del ciclo estral induce la luteólisis seguido de estro y ovulación, es por esto que se ha implementado su uso en protocolos de sincronización.

La respuesta de las ovejas a la inyección de PG es variable dependiendo del momento del ciclo estral en que se encuentren (Rubianes y col., 1997b, revisado por Fierro y col., 2013). Es por esto que se han estudiado diferentes protocolos con diferentes intervalos para lograr sincronizar el mayor número de ovejas.

Los protocolos de sincronización en base a PG más difundidos consisten en dos dosis separadas de 9 a 12 días (Gordon, 1983) donde una alta proporción de ovejas se detectan en estro después de la segunda PG en un intervalo de 4 a 5 días (Loubser y Van Niekerk, 1981; Evans y Maxwell, 1987), siendo necesaria la detección de estro, por lo tanto invalidando este protocolo para IATF según algunos autores (Menchaca y Rubianes, 2004). Sin embargo Rubianes y col. (2003) demostraron que la refractariedad del CL ovino recién formado a la PG podría restringirse al segundo día después de la ovulación. Basados en esta observación se propuso un nuevo protocolo de sincronización de estros y ovulaciones (Synchrovine®, MIEM – Cámara Nacional de Registros, Montevideo Uruguay), este protocolo consiste en la administración de dos dosis de PG separadas 7 días (rango de 6 a 8 días; Menchaca y Rubianes, 2004), sin conocer el momento del ciclo estral en el cual se administra la primera dosis de PG se induce la luteólisis y la ovulación (en aquellas ovejas con CL sensible a la PG) a los dos a cuatro días más tarde (Día 0 o día del estro), dando lugar a la emergencia de la denominada “Onda 1”. La segunda dosis de PG administrada 7 días después, con la mayoría de las ovejas entre el Día 3 a 5 del ciclo estral y el folículo de la Onda 1 en crecimiento, genera una importante sincronización de estros (80% de los animales entre las 24 y 48 horas pos segunda dosis de PG; (Menchaca y Rubianes, 2004), y una ovulación muy sincronizada (60 ± 1 hora; Rubianes y col., 2003; Contreras-Solís y col., 2009), por lo que permitiría su utilización para IATF. El momento de IA se planteó para la vía cervical y semen sin preservación entre las 42 y 48 horas pos segunda dosis de PG (Menchaca y Rubianes, 2004). Este protocolo genera una alta sincronización de estro y ovulaciones, pero los resultados reproductivos promedios no han sido, en términos globales los esperados (Fierro y col., 2013).

Diferentes alternativas planteadas para este protocolo como ser la categoría animal (Olivera y col., 2004, 2006), el momento y la vía de IA

empleada (Menchaca y Rubianes, 2004; Olivera-Muzante y col., 2011a), la dosis de PG y la separación entre dosis (7 vs 8 días) de PG (Olivera-Muzante y col., 2011b), la inclusión de un análogo sintético de GnRH a las 24 o 36 horas luego de la segunda PG o al momento de la IATF (Olivera-Muzante y col., 2011b; Olivera-Muzante y col., 2013), y su asociación con tratamientos nutricionales focalizados (Fierro y col., 2014), no han incrementado sustancialmente sus resultados.

En un ensayo de carácter básico se observó que este protocolo generaría un perfil alterado de progesterona plasmática durante la fase de crecimiento del folículo pre-ovulatorio, pudiendo determinar así una disminución de TO, la prolificidad y la fertilidad cuando se lo compara con el estro natural (Fierro y col., 2011), o con el protocolo de P4 y eCG (Olivera-Muzante y col., 2011a).

Existen reportes internacionales previos que utilizan más días de separación entre las dosis de PG (Boland y col., 1978; Loubser y Van Niekerk, 1981; Hackett y col., 1981; Acritopoulou-Fourcroy y col., 1982), y que parecerían tener mejores resultados reproductivos en términos numéricos que el protocolo Synchrovine®, y equiparables al protocolo de P4 y eCG en algunas situaciones. Sin embargo el número de animales, las diferentes razas y condiciones de manejo empleadas no permiten sacar conclusiones válidas de ellos. Por ello, Fierro y col. (2013), plantearon en su trabajo de revisión la hipótesis de que una mayor separación entre las dosis de PG podría generar un desarrollo folicular en un ambiente con mejores niveles de progesterona plasmática, con mejor calidad de los ovocitos generados, y en consecuencia con mejores resultados reproductivos finales.

Sin embargo no se conocía a ese momento qué separación entre dosis de PG permitiría realizar la IATF (dispersión de los estros), cuál sería la hora de inseminación a utilizar, y cuáles serían sus resultados reproductivos finales en una IATF. Dutra da Silveira y Soler (2013), estudiaron la respuesta estral y reproductiva obtenida en ovejas sincronizadas con dos dosis de PG, administradas en diferentes intervalos de tiempo (10, 12, 14 y 16 días; PG10, 12, 14 o PG16 respectivamente) y un grupo control de estro espontáneo. Se concluyó que los grupos PG10 y PG12 parecerían ser los protocolos más adecuados para evaluar en programas de IATF, debido a que presentaron una mayor concentración y respuesta estral pos segunda PG. Sin embargo, los protocolos PG14, PG16 y estro espontáneo tuvieron una respuesta reproductiva superior en un servicio de IA a estro detectado vía cervical con semen fresco, respecto a los protocolos PG10 y PG12, sin diferencias entre ellos. Por otro lado, Hourcade y Pechi (2014) determinaron que la aplicación de dos dosis de PG administradas a intervalos de 10, 12, 14 o 16 días no generaría diferencias en cuanto a respuesta estral, intervalo PG-inicio del estro, diámetro folicular máximo y final, tasa de crecimiento folicular y/o momento de ovulación. Bonino y Grella (2014) se plantearon estudiar la respuesta reproductiva a la IATF de ovejas sincronizadas con dos dosis de PG administradas a estos intervalos de tiempo e inseminadas vía cervical a las 56 horas pos segunda PG. Se observó que una mayor separación entre dosis de PG (PG12 o más días) mejoraría la respuesta reproductiva a la IATF, en comparación con el protocolo Synchrovine® y/o el PG10. Finalmente se planteó comparar el uso de PG con separaciones de 12, 13, 14, 15 ó 16 días y el protocolo de P4-eCG (protocolo control). Se observó que separaciones entre dosis de PG de 14 a 16 días igualarían la fertilidad y fecundidad obtenidas a la IATF con este protocolo control (Olivera-Muzante y

col., 2013; Bentancor y González, 2015), constituyéndose así en alternativas de sincronización de estros e IATF vía cervical con semen fresco más “limpias, verdes y éticas” que las tradicionales. Si bien en este último ensayo se observaron diferencias estadísticas en TO a favor del protocolo de P4-eCG, no las hubo en prolificidad final, siendo de esperar que existieran, dado el normal incremento en estas variables cuando se incluye una dosis de eCG. Esto constituye un desafío a tener en cuenta y superar para estos nuevos protocolos “largos” con PG, y una nueva línea de trabajo a considerar.

Alternativas para mejorar la TO

Existen muchos factores afectando TO y/o prolificidad final de una majada al servicio. La influencia del ambiente sobre todo la nutrición repercute sobre la TO. Es así que dentro de un mismo biotipo se puede obtener una mayor TO cuando las ovejas llegan con un mayor peso vivo (PV) al servicio (esto sucede en la mayoría de los biotipos), o presentan una muy buena condición corporal (conocido como efecto “estático” del PV) (Banchemo y col., 2006). El “efecto estático”, es el peso en sí en el momento de la encarnerada. La importancia ha sido demostrada evidenciando la existencia de un peso crítico, ya que por debajo de ese peso la oveja no se reproduce con eficiencia. Para Corriedale y Romney el peso crítico sería 42-43 Kg y para el Merino 37 Kg. El peso de la oveja no solo influye sobre el número de ovejas falladas sino también sobre la cantidad de ovejas gestantes de mellizos (Azzarini y Ponzoni, 1971).

El “efecto dinámico” o efecto “flushing tradicional” representa un aumento en la TO provocado por un aumento en el PV y la CC tres semanas previo a la encarnerada (Forcada y col., 1992). Rattray y col. (1980), concluyeron que ovejas de menor peso tienen una mayor respuesta al incremento del peso vivo en comparación con ovejas de mayor peso, por lo que se espera un incremento en la proporción de ovejas con múltiples ovulaciones. La tasa mellicera puede aumentar tanto en ovejas flacas como en ovejas de mejor condición, pero en estas últimas será inicialmente mayor por el efecto de su mayor peso estático (Azzarini y Ponzoni, 1971). El efecto dinámico es positivo si las ovejas alcanzan o superan el peso crítico o estático (Fernández Abella y col., 2007). Un aumento por ejemplo de 4,5 Kg de PV incrementa un 6% la tasa mellicera obteniendo una correlación positiva entre el peso y la TO previo a la encarnerada (Azzarini, 1985). Rhind y McNeilly (1986) encontraron que ovejas en buena condición corporal desarrollan un mayor número de folículos grandes estrogénicos que ovejas en baja condición corporal, y esa diferencia se ve reflejada en la TO. Para nuestras condiciones, se encontró en ovejas Corriedale, que por cada Kg de PV extra a la encarnerada, el número de corderos nacidos aumentaba 1,7% (Ganzábal, 2005).

Alimentación focalizada

La “alimentación focalizada”, o sea de corta duración, es un componente integral del paquete “limpio, verde y ético” para aumentar la eficiencia reproductiva en ovinos (Martin y col., 2004). La suplementación “focalizada” es aquella donde los periodos de suplementación van de 5 a 16 días, dependiendo

si los estros de las ovejas están o no sincronizados (Banchemo, 2011). A pesar de ser una alternativa económica para aumentar la tasa de mellizos, los resultados variables obtenidos hacen que no sea aplicada en forma masiva por los productores (Viñoles, 2003).

Los tratamientos nutricionales a “corto plazo” o de efecto “inmediato” (“focus feeding”, “flushing corto” o “alimentación focalizada”) mejorarían la TO en nuestras majadas debido al incremento de nutrientes y hormonas en plasma que actúan directamente a nivel ovárico generando un crecimiento y desarrollo de los folículos sensibles a las gonadotropinas (Muñoz-Gutiérrez y col., 2002; 2004; 2005; Scaramuzzi y col., 2006; 2010). Estos tratamientos inducen cambios dinámicos en el metabolismo homeostático de los animales ya desde los 3 días de suplementados (Teleni y col., 1989 a, b; Viñoles y col., 2005). El balance energético positivo conduce a un aumento de las concentraciones de insulina, leptina y glucosa en la sangre, estos cambios parecerían afectar directamente al ovario y se asocian con un incremento en la foliculogénesis y por consiguiente un incremento en la TO de las ovejas, a su vez el balance energético positivo tiene una acción estimuladora sobre el eje hipotálamo-hipofisario (Scaramuzzi y col., 2006).

Es posible aumentar la TO y la prolificidad de una majada en mediano a buen estado corporal induciendo un cambio brusco en el nivel nutricional previo al servicio (en cantidad y/o calidad), por un período de tan solo unos pocos días, sin generar cambios en el PV o CC del animal (Smith y Stewart, 1990; Downing y col., 1995; Viñoles y col., 2009; 2010; Scaramuzzi y col., 2010). La tendencia a una mayor TO en ovejas suplementadas con maíz entero y harina de soja (Viñoles y col., 2009) con mayor CC, sugiere que la respuesta a un período corto de suplementación ocurre si las ovejas están en un balance energético adecuado. Este hallazgo parecería contradictorio con el mayor impacto de un plano nutricional elevado en ovejas en peor condición. Sin embargo, es el efecto flushing y no el efecto nutricional inmediato el que promueve una mejor respuesta en animales en peor CC (Viñoles y col., 2003).

El momento del ciclo estral en que ésta suplementación de corta duración es efectiva, es acotado. La suplementación con lupino desde el día -8 al -5 antes de la ovulación promueve un aumento en la TO. Para ser efectivo, el suplemento debe ser administrado previo a la luteólisis, momento en el que ocurre la emergencia de la onda ovulatoria, y previo a la fase folicular del nuevo ciclo estral (Smith y Stewart, 1990; Downing y col., 1995). Incluso alimentar las ovejas los días -4 a -1 respecto a la ovulación, puede ser detrimental (Smith y Stewart, 1990).

Con respecto a la composición nutricional, la proteína y energía del alimento pueden actuar en la TO independientemente uno del otro, sin embargo el nivel de uno de estos componentes puede influir en el otro. Los mecanismos por el cual estos componentes incrementan la TO no están claramente dilucidados y frente a ello hay muchas hipótesis. Por ejemplo se cree que la energía provoca un mayor metabolismo hepático de los esteroides, disminuyendo el feedback negativo que estos causan sobre el eje hipotálamo-hipofisario, lo que causaría una mayor producción de gonadotropinas (revisado por García Pintos y col., 2014), además aumentos de glucosa e insulina por dietas energéticas permiten un ahorro de proteína como precursor de energía y esto permite mayor disponibilidad de nitrógeno para sintetizar enzimas microsomales hepáticas (Smith, 1988).

Muñoz-Gutierrez y col. (2004), en un experimento en el que se suministraba grano de lupino y se hacían infusiones de glucosa y glucosamina durante 5 días, encontraron que la insulina, la hormona de crecimiento (GH), la “insulina como factor de crecimiento 1” (IGF-1) y la leptina cumplen un rol importante en el crecimiento folicular y en la mediación de los efectos de la nutrición. La Hormona de crecimiento (GH) participa en la selección de los folículos, incrementando la insulina que determina una mayor producción de IGF-1 por las células de la granulosa y aumentando la sensibilidad de dichas células a la FSH (Fernández Abella, 1993). El incremento de este factor produce un mayor reclutamiento folicular y por lo tanto una mayor tasa ovulatoria (Fernández Abella y col., 2007). Bajo buena nutrición los folículos antrales más pequeños son estimulados por una interacción a nivel del ovario entre las gonadotropinas y las IGFs, sus proteínas de unión o la insulina, esto aumenta la cantidad de folículos que sobreviven a la atresia y llegan a desarrollarse en preovulatorios, también la IGF1 puede estimular la secreción de GnRH y la secreción de gonadotropinas (Martin y Banchemo, 1999). Por último Teleni y col. (1989b) encontraron que la respuesta en TO está muy relacionada con la tasa de entrada de glucosa. Los autores proponen que independientemente del tipo de alimento (energético o proteico), la tasa de entrada de glucosa es la que explica el incremento en la TO.

A su vez dicha composición (energía o proteína) sigue siendo muy discutida. Smith (1985) estableció que la TO aumenta con un incremento de proteína y energía. A un mismo nivel de energía, existe un incremento lineal en la TO a medida que la proteína aumenta. Pero para que esto suceda, debe ser consumido un nivel mínimo de proteína digestible por día de 125 gr. por oveja. Sin embargo, no se puede incrementar la TO mediante el uso de urea, lo que implica que otros factores como la baja degradabilidad ruminal y/o aporte energético del grano de lupino podrían ser los responsables del incremento en la TO y no solamente el mayor contenido de proteína cruda (Thompson y col., 1973). Banchemo y col. (2013), sostienen que por cada 50 gr. de proteína aportada por encima de la proteína cruda que aporta el campo natural, la TO se incrementará en 0,1 unidades. Cuando la proteína del suplemento es protegida con taninos condensados exógenos, la TO puede incrementarse un 10% más. Por otro lado, la suplementación de ovejas previo a la encarnera con raciones o bloques proteicos es una alternativa para los productores que no tienen mejoramientos de campo o cultivos en sus predios disponibles para los ovinos (Banchemo y col., 2006).

Las ovejas no necesitan ser alimentadas por mucho tiempo o con mucha comida para incrementar la TO. La práctica australiana de alimentar a las ovejas por períodos cortos con grano de lupino, no es otra cosa que proveer al animal con un alimento alto en proteína y energía cuando estos componentes están faltando o están en baja proporción en las pasturas secas o de baja calidad del verano (Banchemo y Quintans, 2005). Las mejores respuestas en TO, parece que se dan cuando la proteína que ofrece el suplemento es más alta que la que las ovejas estaban consumiendo para mantenimiento de su CC (Banchemo y col., 2009). Además y no menos importante, el animal debe estar en balance energético positivo para que la proteína adicional suministrada por el suplemento o la pastura de alta calidad, opere (Lindsay, 1988). Es así que Viñoles y col. (2012) no observaron cambios en cuanto a TO suplementando con grano de lupino a ovejas Merino, sincronizadas con P4 y eCG durante 6 días previos a la

IA. Estos resultados se debieron a que esas ovejas venían perdiendo peso y además el ambiente nutricional (proteico) solo les proporcionaba 60 % de los requerimientos para su mantenimiento, ya que se encontraban fuera de la estación reproductiva.

Estudios nacionales realizados por el INIA evaluaron la TO de ovejas con diferentes tipos de pasturas, se comparó el Lotus maku vs. campo natural obteniéndose un incremento de 16 a 35 puntos porcentuales en las ovejas que pastoreaban Lotus maku (Banchero y col., 2005). Dentro de las restantes leguminosas forrajeras evaluadas (Lotus corniculatus, trébol rojo, alfalfa) solo el acceso de las ovejas por 10 a 12 días al Lotus corniculatus cv. Draco tuvo un incremento en la tasa mellicera del orden de 14 a 25 puntos porcentuales para la raza Ideal pura, y de 36 para la cruce (F1) entre Frisona Milchschaft e Ideal. Dichas leguminosas fueron ofrecidas por períodos muy cortos. Si éstas hubieran sido ofrecidas por más tiempo seguramente se hubiera incrementado el PV y/o la CC de las ovejas logrando así un importante incremento de la tasa mellicera (flushing tradicional). Por otro lado, Viñoles y col. (2009) estudiaron la respuesta de ovejas Corriedale, sincronizadas con dos dosis de PG separadas 9 días, a la suplementación de grano de maíz (80%) y harina de soja (20%) durante los 11 a 17 días posteriores a la segunda inyección de PG, obteniendo así un incremento significativo en TO no asociado con cambios detectables en PV.

La mayoría de los trabajos que han realizado suplementación focalizada han utilizado un modelo de “pre-sincronización” de los estros, con una o dos dosis de PG o con progestágenos, empleando para la suplementación el estro natural posterior al inducido por estas hormonas (Viñoles y col., 2003; Banchero y col., 2011). Dada la inevitable dispersión de los estros naturales que se genera con estos tratamientos de pre sincronización (de 10 a 6 días, utilizando 1 o 2 PG respectivamente; Olivera y col., 2003; Olivera y Gil, 2005) es de suponer que no todas las ovejas reciben la alimentación en la “ventana” de tiempo más precisa. Por ello, y en vistas de lo expresado previamente, validar la alimentación focalizada con el uso de protocolos de IATF en base a PG parecería una medida de alto impacto, dada la baja dispersión de estros que conllevaría la misma. Existen algunos antecedentes de esta alternativa asociados a protocolos de P4 y eCG (Viñoles y col., 2012), o a protocolos en base a PG actuando sobre la primer onda folicular (Viñoles y col., 2010; Fierro y col., 2014), donde no se observaron diferencias en cuanto a TO y/o prolificidad. Debido a estos antecedentes y al no haberse reportado estudios donde se asocien la suplementación focalizada con protocolos “largos” de PG, para mejorar la TO y/o prolificidad, se propone la siguiente hipótesis.

HIPÓTESIS

Una suplementación proteica de corta duración sobre campo nativo, previo a la IATF de ovejas sincronizadas con dos dosis de PG separadas 15 días, genera mejoras en la respuesta reproductiva.

OBJETIVOS

Objetivo general:

El objetivo general del trabajo fue estudiar sobre condiciones de campo nativo la respuesta reproductiva de ovejas en estro inducido con dos dosis de PG separadas 15 días e IATF, que recibieron una suplementación proteica de corta duración en base a harina de soja previo al servicio.

Objetivos específicos:

Estudiar la respuesta ovulatoria (porcentaje de ovejas que ovulan, TO y nivel ovulatorio), y la respuesta reproductiva (porcentaje de no retorno al estro a 21 días, fertilidad, prolificidad y fecundidad a 60 días pos IATF). Evaluar evolución de peso y condición corporal a lo largo del trabajo. Estimar el consumo voluntario de las ovejas y el consumo de proteína cruda aportada (por el suplemento y por el campo natural).

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el establecimiento “El Recuerdo” (familia Errandonea López), ubicado a 5 Km de la localidad de Tomás Gomensoro, Artigas, Uruguay (30,4° S - 57,4° O) durante la estación reproductiva marzo-junio 2014. Los procedimientos experimentales empleados fueron puestos a consideración y avalados previamente por el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República (Exp: 111400-000079-12).

Animales:

Se utilizaron un total de 218 ovejas multíparas raza Merino Australiano, reproductiva (ciclando) y sanitariamente aptas al momento del servicio, con una condición corporal promedio de $3,2 \pm 0,2$ (escala 0-5; Russel y col. 1969), y un peso vivo de $39,4 \pm 6,2$ Kg (media \pm desvío estándar) estos parámetros fueron evaluados los días -34, -17 y 14 con respecto a la IATF (ver figura 5).

Manejo Nutricional:

La alimentación se realizó en base campo nativo (suelos de basalto medio y superficial), con una cantidad inicial de 1305 Kg/MS/ha (método de doble muestreo, Haydock y Shaw, 1975) y composición química que posiblemente no

fue limitante (PC 11,0%, FDA 38,3 %) (NRC, 1985). Las ovejas se manejaron a una dotación de 3,6 UG/Ha. La oferta de forraje fue 6,8 Kg MS/ 100 Kg PV/ día durante los 26 días experimentales (2/4 al 28/4/2014). Se calculó mediante la siguiente fórmula [(Cantidad inicial del área ofrecida - Disponibilidad final + tasa de crecimiento)/ días de pastoreo]/número de ovejas pastoreando (Conaprole, 2014). El grupo PG15+Hsoja además se le ofreció 1,14 Kg MS/ 100 Kg PV/ día (PC 52%, FDA: 9%) durante 5 días (Figura 5).

Manejo Sanitario:

Previo al experimento a las ovejas se les realizó en forma preventiva un baño (derramado de alto volumen) contra ectoparásitos (Mixan[®], Cipermetrina-Ethión; Laboratorio La Buena Estrella, Canelones, Uruguay), fueron vacunadas contra enfermedades clostridiales (Clostrisán[®], im; Laboratorio Santa Elena, Montevideo, Uruguay), y dosificadas contra parásitos gastrointestinales (Tritom[®], OF, vía oral; Laboratorio Cibeles, Montevideo, Uruguay).

Diseño Experimental:

Se conformaron 2 grupos (n = 109 ovejas/grupo) de ovejas multíparas al azar en base a condición corporal y peso vivo (evaluado mediante balanza electrónica).

Las ovejas de ambos grupos fueron sincronizadas con dos dosis de PG separadas 15 días (125 µg im de D-L Cloprostenol/dosis; Estrumate[®], Laboratorio Schering-Plough, Alemania).

El grupo PG15 (Control) no recibió suplemento proteico y solo pastoreó campo nativo (Figura 5).

El grupo PG15+Hsoja (Tratamiento) recibió, previo acostumbramiento al consumo, una suplementación proteica con harina de soja peleteada (Veterinaria Bortagaray y Cía., Salto, Uruguay; PC 52%, FDA: 9%). El suplemento se ofreció en comederos de madera lineales, en una fase de adaptación incremental por 3 días (0,2, 0,3 y 0,4 Kg promedio/oveja/día; los Días -10 a -7 respectivamente), y la dieta completa durante 5 días más (Días -7 a -2) a razón de 0,5 Kg promedio/oveja/día (Día 0= día de IATF). El suplemento fue ofrecido una vez al día por la mañana (hora 9 AM aprox.) previo a la medición del rechazo del día anterior y se constató que todas las ovejas consumieran el suplemento.

Las ovejas se manejaron siempre juntas y fueron separadas en dos grupos (parcelas del mismo potrero), solo durante el período de suplementación.

Se colocaron, a los efectos de mejorar la respuesta reproductiva de las mismas (Duran del Campo, 1980; Contreras-Solís y col., 2009), capones androgenizados a razón de 3 capones/100 ovejas (Dihidrotestosterona, 100 µg/im/dosis, 3 dosis; Laboratorio Dispert). Los capones se introdujeron luego de que las ovejas recibieron su segunda dosis de PG y permanecieron hasta 24 h pos servicio de IATF.

Inseminación Artificial:

Para la IATF se utilizaron 5 carneros adultos y reproductivamente aptos de la raza Merino Dohne, a los cuales se les realizó acostumbramiento a la vagina artificial en forma previa. La técnica de IA fue la cervical (Duran del

Campo, 1980) con semen fresco diluido en leche UHT, utilizando un volumen de inseminación de 0,2 cc/oveja (semen más diluyente), y 170 millones de espermatozoides/oveja. Siendo luego inseminadas a tiempo fijo a las 56 ± 1.5 h de la segunda dosis de PG (Hourcade y Pechi, 2014).

Mediciones en la pastura y en el suplemento:

La cantidad de campo natural se calculó a través del método de doble muestreo (Haydock y Shaw, 1975) en los Días -20 y 27 pos IATF. Se estableció una escala de 5 puntos incrementales en cantidad de forraje representativos de la pastura y se recorrió las parcelas para identificar el valor de escala promedio. Se realizaron cortes de la escala establecida mediante la utilización de un rectángulo de 0.5 por 0.2 m donde se cortó la pastura al ras con tijera de esquila. Las muestras se secaron por 48 hs en estufa de aire forzado a 60°C para obtener porcentaje de materia seca y la cantidad de forraje por unidad de escala. Con dichos valores y el valor de escala visual obtenido en la recorrida de las parcelas se estimó la cantidad de materia seca por hectárea. Las muestras de pastura así como del suplemento fueron enviadas al Laboratorio de Nutrición Animal de INIA La Estanzuela para análisis de PC y MS, entre otros (%FDA y cenizas).

Variables productivas:

Las ovejas se pesaron y se les realizó condición corporal (escala del 0 al 5, Russel y col., 1969) en los Días -34, -17 y 14 pos IATF. En base a los tres pesos se estimó ganancia individual para el período.

Se estimó consumo voluntario animal en base a la pastura desaparecida por animal, utilizando la disponibilidad original de la pastura ofrecida y la disponibilidad final (rechazo) luego del pastoreo mediante la siguiente fórmula: $[(\text{Cantidad inicial del área ofrecida} - \text{Disponibilidad final} + \text{tasa de crecimiento}) / \text{días de pastoreo}] / \text{número de ovejas pastoreando}$. Tasa de crecimiento forrajero del campo natural utilizada fue de 14,5 Kg MS/día/ha (Conaprole, 2014).

También se estimó consumo de proteína cruda aportada por el campo natural y/o el suplemento mediante la calidad de los alimentos, y el consumo estimado de cada uno por animal. Por otra parte se estimó el consumo de PC por parte de las ovejas, donde se tuvo en cuenta la selección por parte de las mismas, Montossi y col. (2000) sostienen que las ovejas capaces de seleccionar las pasturas consumen un 40% extra de PC de la aportada por el campo natural.

Variables reproductivas:

Se evaluó en cada grupo: el porcentaje de ovejas que ovulan (número de ovejas con cuerpo lúteo/total de ovejas en servicio*100), la TO (Nº cuerpos lúteos/oveja ovulada) y el nivel ovulatorio (Nº cuerpos lúteos/total de ovejas en servicio) al Día 8 por vía transrectal (según Viñoles y col., 2010); la fertilidad (ovejas gestantes/total de ovejas en servicio*100), prolificidad (fetos/ovejas gestantes) y fecundidad (fetos/total de ovejas en servicio*100) al Día 60 por vía transabdominal (ecógrafo Aloka 500 y transductor 7,5 y 3,5 MHz respectivamente). Se evaluó también el no retorno al estro desde el Día 13 al 21 pos IATF (ovejas que no retornan al servicio/ovejas inseminadas *100; NR_D21),

mediante detección dos veces al día con capones androgenizados a razón de 3 capones/100 ovejas.

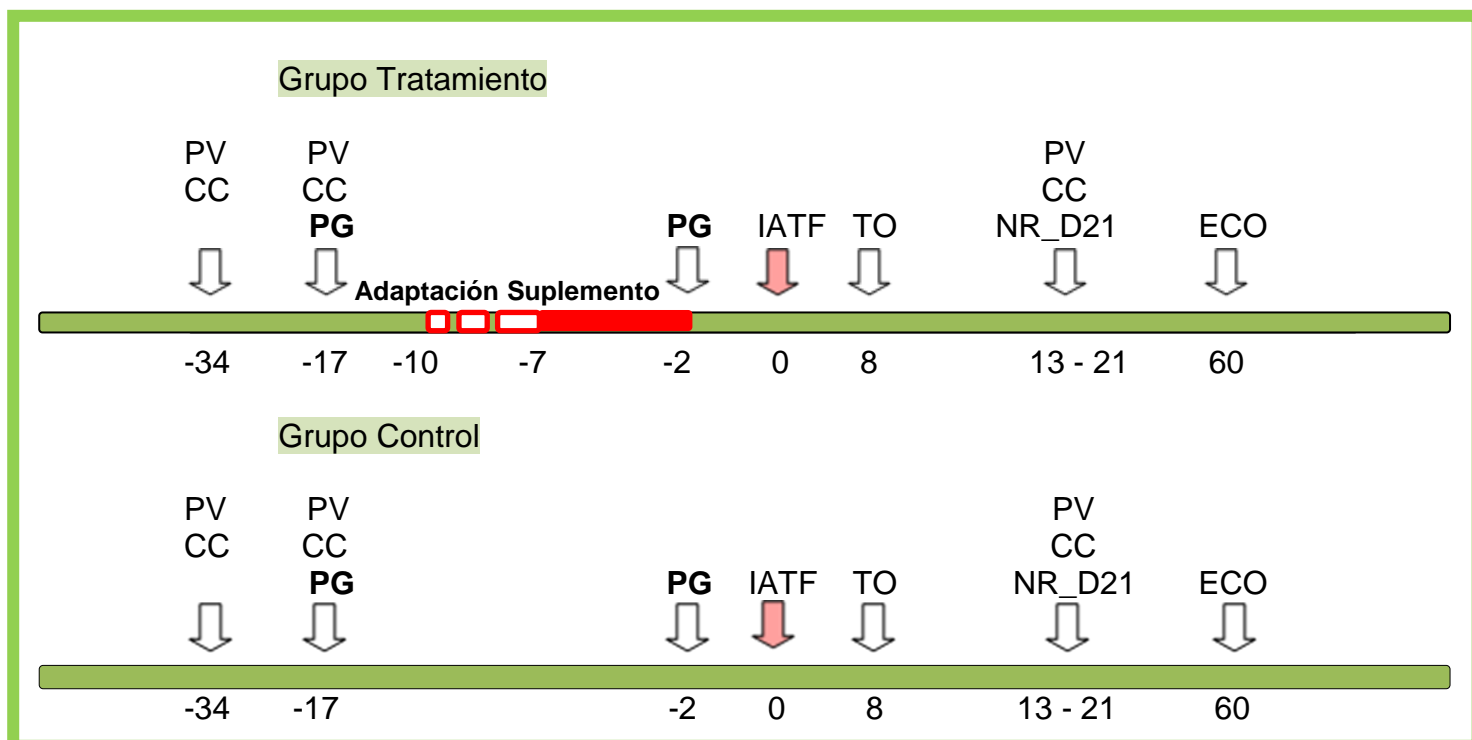


Figura 5: Representación de las diferentes instancias que se realizaron en el trabajo.

PG: dosis de análogo sintético de prostaglandina; Adaptación a la alimentación: 0,2, 0,3 y 0,4 Kg/día/oveja de suplemento; Suplemento: 0,5 Kg/día/oveja de harina de soja peleteada por 5 días; IATF: Inseminación artificial a tiempo fijo 56 horas post segunda PG (Día 0); TO: Tasa ovulatoria (ecografía transrectal al Día 8); NR_D21: no retorno al estro desde el Día 13 al 21 pos IATF; ECO: ecografía transabdominal al Día 60 post IATF. PV y CC: Peso y Condición corporal medidos los Días -34, -17 y 14 pos IATF respectivamente.

Análisis estadístico:

El porcentaje de ovejas que ovulan, el NR_D21 y la fertilidad fueron comparadas mediante el test de Chi Cuadrado; la TO, el nivel ovulatorio, la prolificidad y la fecundidad por el test de Brown (Brown, 1988), considerando como nivel de significación $P \leq 0,05$.

Las variables continuas (PV y CC) se analizaron con el paquete estadístico "GLM" del SAS (SAS, 2001).

RESULTADOS

La suplementación proteica no tuvo efecto en el número de ovejas que ovularon siendo 100% para los dos grupos (Cuadro1; $P>0,05$). Sin embargo, la suplementación proteica incrementó la tasa ovulatoria y nivel ovulatorio en las ovejas (PG15+Hsoja) comparado con aquellas ovejas que no recibieron suplemento (PG15; $P\leq 0,05$). Tanto el incremento en tasa ovulatoria como en nivel ovulatorio fue de 30 puntos porcentuales respecto a las no suplementadas.

Cuadro 1: Respuesta ovulatoria de ovejas Merino multíparas en estro inducido con dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG) separadas 15 días, con o sin alimentación focalizada con harina de soja.

Grupo (n)	Ovulación (%)	TO	Nivel Ovulatorio (%)
PG15 (109)	100 a	1,06 \pm 0,25 a	106 a
PG15+Hsoja (109)	100 a	1,36 \pm 0,50 b	136 b

a, b igual columna: $P<0,05$

Grupos PG15 y PG15+Hsoja: ovejas con estro inducido con dos dosis de PG separadas 15 días. Grupo PG15+Hsoja: consumo de harina de soja por 8 días previo al servicio (Días -10 a -2 respectivamente). % ovulación (Nº de ovejas con cuerpo lúteo/total de ovejas en servicio; %). TO (tasa ovulatoria: Nº de cuerpos lúteos/oveja ovulada). Nivel Ovulatorio (Nº de cuerpos lúteos/total de ovejas). Día 0: día de servicio.

No se observaron diferencias significativas en tasa de NR_D21 y/o fertilidad entre grupos comparados (Cuadro 2; $P\geq 0,05$), pero si en prolificidad ($P\leq 0,05$) y fecundidad final ($P=0,07$) a favor del grupo suplementadas (PG15+Hsoja).

Cuadro 2: Respuesta reproductiva de ovejas Merino multíparas en estro inducido con dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG) separadas 15 días e IATF, con o sin alimentación focalizada con harina de soja previo al servicio.

Grupo (n)	NR_D21 (%)	Fertilidad (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
PG15 (109)	63,3	61,5 a	1,03 \pm 0.17 a	63,3 a
PG15+Hsoja (109)	65,1	63,3 a	1,23 \pm 0.42 b	78,0 a*

a, b igual columna: $P<0,05$; a,a*: $P=0,07$.

Grupos PG15 y PG15+Hsoja: ovejas con estro inducido con dos dosis de PG separadas 15 días e IATF. Grupo PG15+Hsoja: consumo de harina de soja por 8 días previo al servicio (Días -10 a -2 respectivamente). NR_D21 (No retorno al estro desde el Día 13 al 21; ovejas que no retornan al servicio/ovejas inseminadas que ovularon; %). Fertilidad (ovejas gestantes/total de ovejas en servicio, al Día 60; %). Prolificidad (fetos/oveja gestante al Día 60). Fecundidad (fetos/total de ovejas en servicio, al Día 60; %). Día 0: día de IATF.

Evolución del PV y CC

Peso vivo:

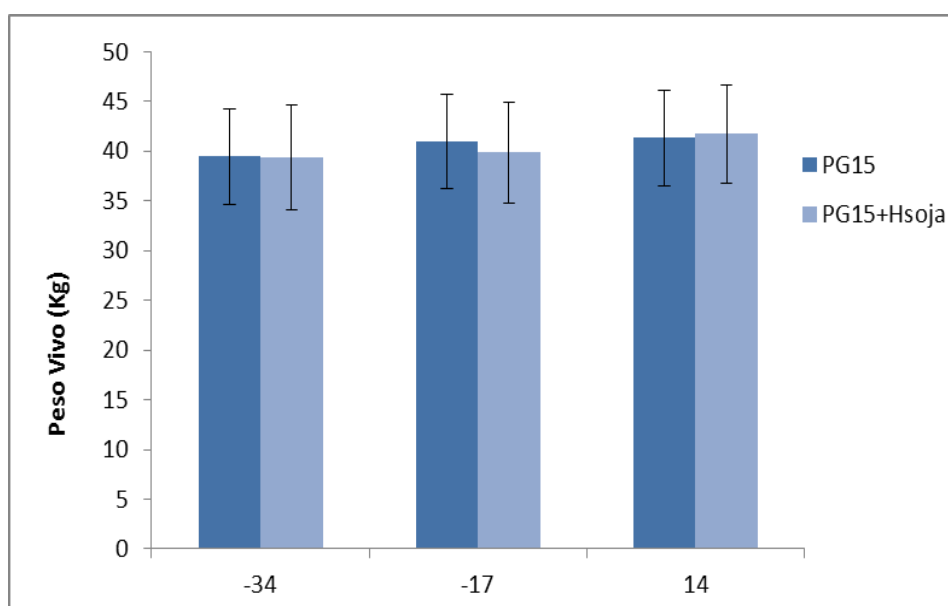


Figura 6: Representación de la evolución del peso vivo a lo largo del ensayo.

34 d prev IATF: pesada realizada el Día -34 (Día 0= IATF); 17 d prev IATF: pesada realizada el Día -17 (día 0= IATF); 14 d pos IATF: pesada realizada el Día 14 posterior a la IATF.

Al comienzo del experimento, las ovejas de ambos tratamientos presentaban el mismo peso ($39,4 \pm 6,2$ Kg). Al Día -17, todas las ovejas incrementaron el peso, pero las ovejas del tratamiento PG15+Hsoja incrementaron en 0,4 kilos ($39,8 \pm 5,06$) mientras que las ovejas PG15 incrementaron en 1,6 kilos ($41 \pm 4,76$). Al día 14 pos IATF siguió incrementando el peso en ambos grupos, pero las ovejas del tratamiento PG15 incrementaron en 0,3 kilos ($41,3 \pm 4,80$) mientras que las del tratamiento PG15+Hsoja incrementaron 1,9 kilos ($41,7 \pm 4,98$). No existen diferencias significativas entre grupos en las tres instancias experimentales

Condición Corporal:

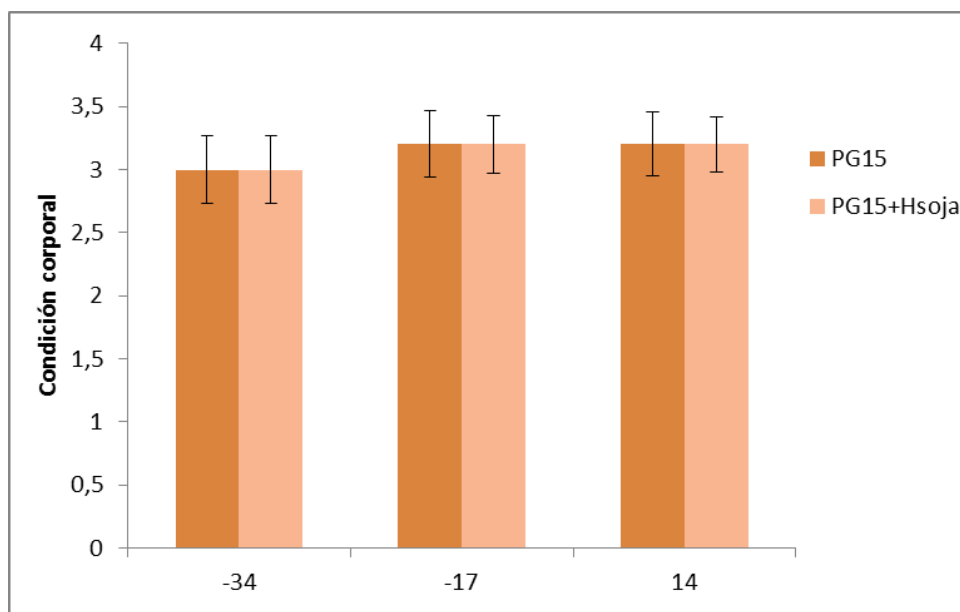


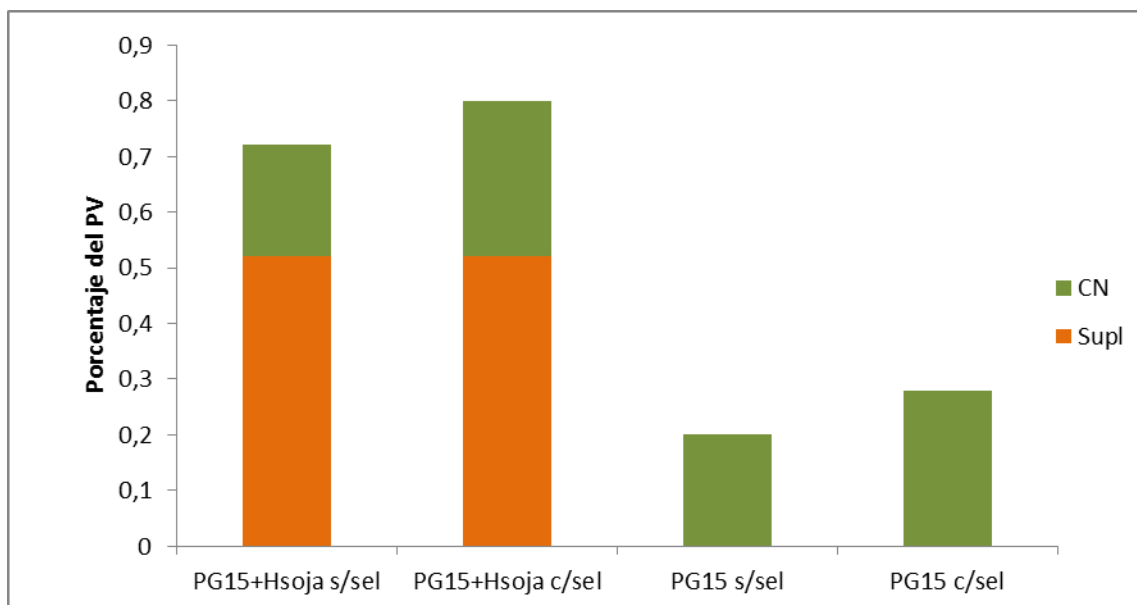
Figura 7: Representación de la evolución de la condición corporal a lo largo del ensayo.

34 d prev IATF: medición realizada el Día -34 (día 0= IATF); 17 d prev IATF: medición realizada el Día -17 (Día 0= IATF); 14 d pos IATF: medición realizada el Día 14 posterior a la IATF.

Las ovejas de los dos tratamientos incrementaron su condición corporal a lo largo del ensayo y ésta no fue diferente entre grupos. Al comienzo del experimento las ovejas de ambos tratamientos presentaron una CC $3 \pm 0,27$ y $0,28$ para los grupos PG15 y PG15+Hsoja respectivamente). Al Día -17 hubo un incremento en 0,2 puntos (PG15: $3,2 \pm 0,26$ y PG15+Hsoja: $3,2 \pm 0,23$), y se mantuvo a los 14 días pos IATF (condición 3,2 en ambos grupos, $\pm 0,25$ y $0,22$ para PG15 y PG15+Hsoja respectivamente).

Consumo voluntario estimado de MS

Las ovejas entraron al ensayo con una disponibilidad de 1305 Kg de MS/ha y el rechazo o disponibilidad final fue de 1226 Kg de MS/ha. En una superficie de 9 has se obtuvo un desaparecido de 355,5 Kg de MS. El consumo estimado del campo natural fue de 0,72 Kg MS/oveja (1,8% del PV) por parte del campo natural y 0,45 Kg MS/oveja (1,14% del PV) por parte del suplemento.



Consumo de PC estimada

Figura 8: Representación del consumo estimado de proteína cruda

Supl: Suplemento (harina de soja) adicionado; CN: campo natural; Porcentaje del PV: consumo de proteína cruda expresado en porcentaje del peso vivo; PG15+Hsoja s/sel y c/ sel: Grupo suplementado sin y con selección por parte de las ovejas, respectivamente; PG15 s/sel y c/ sel: Grupo que no recibió suplemento sin y con selección, respectivamente.

Al inicio del experimento el forraje presentaba un 11% de PC y al final del mismo el porcentaje de proteína disminuyó a 9,1 %.

La proteína cruda estimada que aportó el suplemento por día fue de 204 gr., mientras que la proteína de la pastura fue de 79,9 gr. Se estima que las ovejas con acceso a suplemento pudieron haber cosechado un total de 284 gr. lo que equivale a 0,72% PV de PC por día en caso de no haber sustitución de suplemento por pastura, y 40% extra (316 gr. ~ 0,80% PV) si seleccionaron la dieta. Mientras que las ovejas que no tuvieron acceso al suplemento sólo pudieron haber cosechado 79,9 gr. (~ 0,20% PV) en caso de no haber selección y 112 gr. (~ 0,28% PV) con selección. Cabe resaltar que no hubo rechazo del suplemento.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo confirman la hipótesis planteada. Una suplementación proteica de corta duración (5 días) previo a la IATF de ovejas sincronizadas con dos dosis de PG separadas 15 días mejoró la respuesta ovulatoria y reproductiva. Constituye, en nuestro conocimiento, la primera comunicación que asocia estas tecnologías (IATF en base a protocolos "largos" con PG y alimentación focalizada), con resultados promisorios para la misma.

En primera instancia, y en lo que respecta a la respuesta ovulatoria en ambos grupos observamos que todas las ovejas, independientemente de recibir o no suplementación, ovularon. Ello evidencia, que en las condiciones de manejo establecidas (estación reproductiva, biotipo, manejo nutricional y sanitario, y estado corporal), todas las ovejas estaban ciclando, que respondieron a una o a ambas dosis de PG, que el proceso de ovulación no se vió alterado, y que los CL generados con estos protocolos se mantuvieron "ecográficamente funcionales" al menos hasta el Día 8 (Viñoles y col., 2010). Esto se asemeja a lo obtenido previamente por Dutra da Silveira y Soler (2013), Bonino y Grela (2014) y, Bentancor y González (2015), empleando separaciones entre dosis de PG entre 14 y 16 días (fase luteal tardía), bajo otras condiciones de manejo (biotipo, suelos, manejo nutricional, etc). Con estos resultados a la vista podemos confirmar que la administración de PG no afectó el fenómeno de ovulación en sí mismo. Sin embargo, ha sido reportado que la secreción endógena de FSH y LH podría verse alterada en ovejas sincronizadas con PG (Barrett y col., 2002; Liu y col., 2006), reduciendo el número de folículos reclutados, o determinando fallas de ovulación del/o los folículos pre-ovulatorios y/o formación de cuerpos lúteos, fundamentalmente cuando la PG se aplica en fase luteal temprana (Barret y col., 2002).

Por otra parte, se observó un aumento significativo en la TO y en el nivel ovulatorio final del grupo suplementado respecto al grupo control, de un orden del 30%. Estos incrementos en TO se asemejan a los reportados por Stewart y Oldham (1986), Teleni y col. (1989) y Nottle y col. (1990). Banchemo y col. (2013), utilizando harina de soja sola aumento un 15% la TO, y cuando la misma fue protegida por taninos de quebracho, aumentó un 8% más en ovejas de raza Ideal, haciendo más eficiente así el uso de la misma. Este aumento observado en la TO de nuestro ensayo seguramente sea debido al aporte de proteína del suplemento ofrecido (204 gr. promedio/oveja/día), además del aporte del campo natural (79,9 gr. de PC por oveja/día), el cual fue necesario para cubrir los requerimientos de mantenimiento en las ovejas (NRC, 1985). Es sabido que las mejores respuestas se dan cuando el animal consume unos 100 a 110 gr de PC por encima de la proteína aportada por el campo natural, o lo que es equivalente a suplementos con más de 20 % de PC (Banchemo y col., 2006). Esta suplementación proteica aportada desde el día -7 al -2 previo a la IATF provocó similares efectos a los reportados por Viñoles y col. (2003), quienes observan que una suplementación durante 7 días con una dieta de maíz y harina de soja aplicada entre el día 8 y 14 del ciclo estral aumenta la TO en ovejas Corriedale en estro natural presincronizado.

Como ya mencionamos anteriormente los resultados de TO y nivel ovulatorio fueron iguales ya que en este experimento ovularon el 100% de las ovejas de ambos grupos, de esta manera podemos especular que pueda

deberse a que presentaban aceptable condición corporal promedio ($3,2 \pm 0,2$), reafirmando lo dicho por Rhind y McNeilly (1986; citado por Banchemo y col., 2003), quienes establecen que la condición determina el número potencial de folículos aptos para ovular. Si bien la CC aumentó en ambos grupos ésta no fue diferente entre tratamientos, esto puede deberse a que las ovejas (todas) pasaron a una mejor alimentación en forraje de CN. A su vez, la respuesta ovulatoria obtenida en el grupo suplementado pudo haber sido atribuida a que las ovejas estaban con una moderada a buena condición corporal al momento del servicio, a diferencia de lo descrito por Viñoles y col. (2009), quienes empleando ovejas de baja a moderada CC, no obtuvieron un incremento significativo en TO como respuesta a una suplementación. Lo que sería un factor a tener en cuenta a la hora de emplear una suplementación corta o focus feeding en la majada.

Por otro lado, pudimos comprobar que la suplementación influyó sobre el peso vivo pero no fue estadísticamente significativo, a los 14 días pos IATF las ovejas del tratamiento PG15+Hsoja incrementaron en 1,9 kilos, lo que pudo haber tenido cierta implicancia en los resultados obtenidos de TO, reafirmando lo dicho por Banchemo y col. (2006).

Frente a los resultados de TO, la diferencia entre grupos quizás hubiera sido diferente si hubiésemos utilizado una menor carga animal, ya que con la carga manejada posiblemente no pudieron seleccionar el alimento, y esto haber implicado el consumo de todo el suplemento. Sin embargo, teniendo en cuenta que al final del experimento la proteína del CN disminuyó (9,07%) podemos especular que las ovejas de ambos grupos, en principio sí pudieron elegir su dieta (pasturas ricas en proteína). A su vez, el tipo de campo natural utilizado en nuestro experimento tenía en su disponible 11% de PC, la cual fue 22 a 26% superior a la utilizada en otros experimentos de Banchemo donde la TO fue sensiblemente menor (Banchemo y col., 2006; Banchemo y col., 2011).

En lo referente a respuesta reproductiva de las ovejas, además de valores biológicamente más que aceptables para una IATF, no se observaron diferencias entre grupos en cuanto al NR_D21 y/o a la fertilidad final a los 60 días, ni tampoco pérdidas de fertilidad importantes dentro de cada grupo entre estos momentos. Sin embargo, la prolificidad y fecundidad final sí fueron incrementadas en forma significativa con la suplementación proteica (19 y 23% respectivamente). Este resultado es consistente con lo reportado por otros autores (Smith y Stewart, 1990; Downing y col., 1995; Viñoles y col., 2009; 2010a; Scaramuzzi y col., 2010) que sostienen que el focus feeding ha sido utilizado tradicionalmente para incrementar la TO y la prolificidad de las ovejas tratadas, debido a que la suplementación proteica actúa a nivel ovárico estimulando la foliculogénesis y aumentando el número de folículos que escapan a la atresia, repercutiendo así en la TO. Sin embargo el número de ovejas gestantes no fue mejorado por la suplementación. Esto es algo contradictorio ya que en términos globales una mejor prolificidad genera un mayor número final de ovejas gestantes (Wilkins, 1997).

Por último, como ya hemos mencionado la suplementación proteica mejoró la respuesta ovulatoria y reproductiva de la IATF con PG. Sin embargo existen antecedentes de esta alternativa asociados a protocolos de P4-eCG (Viñoles y col., 2012), o a protocolos en base a PG actuando sobre la primer onda folicular (Viñoles y col., 2010; Fierro y col., 2014), donde no se observaron diferencias en cuanto a TO y/o prolificidad. En estos casos la falta de respuesta

podría estar asociada al protocolo utilizado (“onda 1”), al biotipo de la oveja, al PV y a la CC que presentaban esas ovejas (Viñoles y col., 2009), al suplemento utilizado (Viñoles y col., 2009; Banchemo y col., 2011) como también al momento de su administración (Smith y Stewart, 1990; Downing y col., 1995) y a las características de la pastura (Banchemo y col., 2005).

En un ensayo reciente realizado por García Pintos y col. (2014), no se observaron diferencias en TO en las ovejas tratadas (1,65, 1,60 y 1,59 para los tratamientos de suplementación con o sin taninos y sin suplementación respectivamente), a pesar de que pudieron consumir 76 y 54% más proteína que las no suplementadas. La similitud en TO obtenida para los 3 tratamientos fue explicada por el alto aporte de PC por parte del campo natural (10,4%) (Banchemo y col., 2013). Esto no concordaría con nuestros resultados, donde sí observamos diferencias en TO a favor del grupo suplementado teniendo también un alto aporte de PC por parte del CN (10%). Si bien la carga animal en nuestro ensayo fue alta (3,6 UG/ha) y las ovejas contaron con una oferta de forraje de 6,8 kg de MS/ 100 kg de PV/ día, siendo mayor en el experimento de Banchemo y col. (2013; 12 Kg de MS/ 100 Kg de PV/ día), tuvimos un alto aporte de PC por parte del suplemento (204 gr.) lo que explicaría el resultado en TO.

Es por ello que es importante a la hora de utilizar la suplementación proteica evaluar la composición proteica de la pastura a aportar, ya que si la proteína es lo suficientemente alta en la pastura proporcionada no sería justificado el uso de la suplementación y/o no daría resultados importantes.

CONCLUSIÓN

Se concluye que una suplementación proteica de corta duración previa a la IATF de ovejas sincronizadas con dos dosis de PG separadas 15 días mejora la respuesta ovulatoria (TO y nivel ovulatorio) y la respuesta reproductiva (prolificidad y fecundidad).

BIBLIOGRAFÍA

1. Acritopoulou S., Haresign W. (1980) Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF₂ α given at different stages of oestrous cycle. *Journal of Reproduction Fertility*. 58:219-223.
2. Acritopoulou-Fourcroy S., Papas V., Peclaris G., Zervas N. (1982) Synchronization of oestrous in ewes with Provera sponges/PMSG, prostaglandin F₂ or the prostaglandin analogue, ICI80996, and fertility following natural mating or artificial insemination. *Reproduction Nutrition Development*. 22:345-354.
3. Azzarini M., Ponzoni R. (1971) La fertilidad y fecundidad de las ovejas. En: Azzarini M, Ponzoni R. Aspectos Modernos de la Producción Ovina. Montevideo, Universidad de la República, p. 75-98.
4. Azzarini M. (1985) Vías no genéticas para modificar la prolificidad ovina. II Seminario Técnico de Producción Ovina, Salto, Uruguay, p. 111-132.
5. Azzarini M. (2000) Consideraciones y sugerencias para mejorar los procreos ovinos. En: SUL. Una propuesta para mejorar los procreos ovinos. Montevideo, Secretariado Uruguayo de la Lana. p 3-35.
6. Banchemo G., Milton J., Lindsay D., La Manna A., Vázquez A.I., Quintans G. (2003) Cómo aumentar la tasa ovulatoria/mellicera en ovejas Corriedale. INIA Serie de Actividad de Difusión N° 332, p. 53-57.
7. Banchemo G., Quintans G. (2005) Alternativas nutricionales y de manejo para aumentar la señalada de la majada en sistemas ganaderos extensivos tasa ovulatoria/tasa mellicera. INIA Serie de Actividad de Difusión, N° 429, p. 28-33.
8. Banchemo G., Fernández M.E., Ganzábal A. (2005) Manejo nutricional estratégico previo a la encarnerada para aumentar el porcentaje de mellizos en ovejas Ideal e Ideal x Frisona Milchschaft. INIA Serie de Actividad de Difusión, N° 426, p. 3-5.
9. Banchemo G., Fernández M.E., Ganzábal A., Vázquez A., Quintans G. (2006) Manejo genético y nutricional para aumentar la tasa mellicera de nuestras majadas. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, p. 71-76.
10. Banchemo G., de Barbieri I., Montossi F. (2009) ¿Cómo Preñar más Ovejas y Producir más Corderos Después de la Sequía? INIA Serie de Actividad de Difusión, N° 17, p. 30-36.
11. Banchemo G. (2011) Estrategias y resultados de suplementación en ovinos. INIA Serie Actividades de Difusión N° 645, p. 37-41.
12. Banchemo G., Vázquez A., Vera M., Quintans G. (2011) Utilización de taninos condensados para incrementar la tasa ovulatoria en ovejas. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, p. 252-253.
13. Banchemo G., Montossi F., Barbieri I. (2013) Como lograr una buena encarnerada para mejorar la eficiencia reproductiva de nuestras majadas. *Revista INIA*, 32:12-16.
14. Barrett D.M.W., Bartlewski P.M., Cook S.J., Rawlings N.C. (2002) Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to

- PGF2 given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology*, 58:1409–1424.
15. Bentancor E., González V. (2015) Comparación reproductiva de diferentes protocolos de IATF vía cervical en ovinos en base a prostaglandina o progestágenos y eCG. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, UdelaR. 58 pp.
 16. Boland M.P., Lemanique F., Gordon I.R. (1978) Comparison of lambing outcome in ewes after synchronization of oestrous by progestagens or prostaglandin treatment. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 91:765-766.
 17. Bonino C., Grela S. (2014) Respuesta reproductiva a la IATF en ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α administrado a diferentes intervalos de tiempo. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, UdelaR. 47 pp.
 18. Brown G.H. (1988) The statistical comparisons of reproduction rates for groups of sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 39: 899-905.
 19. Colas G. (1975) The use of progestagen SC9880 as an aid of artificial insemination in ewes. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 15:317-327.
 20. Conaprole. (2014) Crecimiento forrajero. Disponible en: www.eleche.com.uy/cooperarios/productores-seguimiento-forrajero-satelital?es. Fecha de consulta: 22/07/15.
 21. Contreras-Solís I., Vásquez B., Díaz T., Letelier C., López Sebastián A., González-Bulnes A. (2009) Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and “male effect”. *Theriogenology*. 71: 1018-1025.
 22. De Castro T., Menchaca A., Rubianes E. (2007) Fisiología reproductiva y control del desarrollo folicular en ovejas y cabras. Fisiología y manejo reproductivo en pequeños rumiantes. Instituto de Reproducción Animal de Uruguay-2007, Curso de posgrado. Reproducción en Rumiantes. Montevideo, Uruguay, p. 8-19.
 23. DIEA. (2014) Anuario Estadístico Agropecuario. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2014/Diea-Anuario%202014-Digital01.pdf>. Fecha de consulta: 05/08/15.
 24. Downing J.A., Joss J., Connell P., Scaramuzzi R.J. (1995) Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. *Journal of Reproduction and Fertility*, 103:137-145.
 25. Durán del Campo A. (1980) Anatomía, Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial en Ovinos. Montevideo, Hemisferio Sur, 264 p.
 26. Durán del Campo A. (1993) Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos. Montevideo, Hemisferio sur, 199 p.
 27. Dutra da Silveira R., Soler D. (2013) Respuesta Reproductiva en ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina F2 alfa administradas a diferentes intervalos de tiempo. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria. UdelaR. 35 pp.
 28. Evans G., Maxwell W.M. (1987) Preparation of females for insemination. En: Evans, G. Salamon's Artificial Insemination of sheep and goats. Sydney, Butterworth, p. 55-74.

29. Evans G., Maxwell C. (1990) Inseminación artificial en ovejas y cabras. En: Evans, G. Salamon, S. Inseminación artificial en ovejas y cabras. Zaragoza. Acribia, p. 158-161.
30. Evans A.C.O., Duffi P., Hynes N., Boland M.P. (2000) Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*, 53:699-715.
31. Fernández Abella D. (1993) Principios de Fisiología Reproductiva Ovina. Montevideo, Hemisferio Sur, 247 pp.
32. Fernández Abella D.H. (1995) Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Montevideo, Universidad de la República, 206 pp.
33. Fernández Abella D., Formoso D., Casco O., Delgado M.A., García A.P., Ibáñez W. (2007) Efecto del pastoreo de *Lotus uliginosus* cv Maku sobre la tasa ovulatoria y fecundidad en dos biotipos de ovejas Corriedale. *Producción Ovina*, 19:25-32.
34. Fierro S. (2010) Pérdidas Reproductivas en Ovejas Sincronizadas con Prostaglandina. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria. UdelaR. 45 pp.
35. Fierro S., Olivera- Muzante J., Gil J, Viñoles C. (2011) Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology* 76(4):630-639.
36. Fierro S., Gil J., Viñoles C., Olivera-Muzante J. (2013) The use of Prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewes: A review. *Theriogenology*. 79:399-408.
37. Fierro S., Gil J, Viñoles C., Soca F., Banchemo G., Olivera- Muzante J. (2014) Protein supplementation during a short-interval prostaglandin-based protocol for timed AI in sheep. *Animal Reproduction Science*, 149:158-162.
38. Forcada F., Abecia J.A., Zarazaga L., Lozano J.M. (1992) Influencia del plano de alimentación sobre los parámetros reproductivos en ovejas de reducido nivel ovulatorio. *Archivos de Zootecnia*. 41:113-120.
39. Forcada Miranda F. (1996) Reproducción Ovina. En: Buxadé, C. Zootecnia. Madrid, Mundi prensa. V 8, p. 77-93.
40. Ganzábal A. (2005) Análisis de registros reproductivos en ovejas Corriedale. INIA Serie de Actividades de Difusión N° 401, p. 69-83.
41. García Pintos J.A., Herrmann F., Álvarez E. (2014) Tasa ovulatoria de ovejas Ideal con diferentes tratamientos alimenticios previo al servicio (flushing corto). Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria. UdelaR. 43pp.
42. Gil J. (2002) Inseminación artificial en ovinos. En: Ungerfeld R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea. V. 2, p. 319-338.
43. Ginther O.J., Kot K., Wiltbank M.C. (1995) Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology*, 43(3):689-703.
44. González-Bulnes A., Veiga-López A., García P., García-García R.M., Ariznavarreta C., Sánchez M.A., Tresguerres J.F.A., Cocero M.J., Flores M.J. (2005) Effect of progestagens and prostaglandin

- analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, 63:2523-2534.
45. Gordon I. (1983) Fixed-time sheep artificial insemination. En: Gordon, I. *Controlled breeding in Farm Animals*. Oxford. Pergamon, p. 197-208.
 46. Hackett A.J., Langford G.A., Robertson H.A. (1981) Fertility of ewes after synchronization of estrous with prostaglandin F₂ α and artificial insemination. *Theriogenology*, 15:599-603.
 47. Haydock K.P., Shaw N.H. (1975) The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 15:663-670.
 48. Hourcade G., Pechi C. (2014) Desarrollo folicular y momento de ovulación en ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina F₂ α administrados a diferentes intervalos de tiempo. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria. UdelaR. 54 pp.
 49. Lindsay D. (1988) Breeding the flock. *Modern Research and reproduction in sheep*. Melbourne, Intaka, 73 p.
 50. Liu X., Dai Q., Hart E.J., Duggavathi R., Barrett D.M.W., Rawlings N.C., Bartlewski, P.M. (2006) Ovarian and endocrine responses to prostaglandin F₂ (PGF₂) given at the expected time of the endogenous FSH peak at mid-cycle in ewes. *Theriogenology*, 66:811–821.
 51. Loubser P.G., van Niekerk C.H. (1981) Oestrous synchronization in sheep with progesterone-impregnated (MAP) intravaginal sponges and a prostaglandin analogue. *Theriogenology*, 15:547-552.
 52. Martin G.B., Bancharo G. (1999) Nutrición y reproducción en rumiantes. Symposium on ruminant reproduction, Colegio de Postgraduados, Programa de Ganadería, Montecillo, México, 27p.
 53. Martin G.B., Milton J., Davidson R., Bancharo G., Hunzicker G., Lindsay D., Blache D. (2004) Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 82–83:231–246.
 54. McCracken J.A., Glew M.E., Scaramuzzi R.J. (1970) Corpus luteum regression by prostaglandin F₂ α . *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolic*, 30(4):544-546.
 55. Menchaca A., Rubianes E. (2004) New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility Development*, 16:403-413.
 56. MGAP-DIEA. (2014) Censo General Agropecuario. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2014/DIEA-Anuario-2011-web.pdf>. Fecha de consulta: 13/11/2014.
 57. Montossi F., Pigurina G., Santamarina I., Berreta E. (2000) Estudios de selectividad animal en diferentes comunidades vegetales de la región de basalto y su importancia práctica en el manejo del pastoreo con ovinos y vacunos. INIA Serie Técnica, N° 113, p. 14-48.
 58. Muñoz-Gutierrez M., Blache D., Martin G.B., Scaramuzzi R.J. (2002) Folliculogenesis and ovarian expression of m RNA encoding aromatace in anoestrous sheep after 5 days of glucose or glucosamine infusion or supplementary lupin feeding. *Reproduction*, 124:721-731.

59. Muñoz-Gutierrez M., Blache D., Martin G.B., Scaramuzzi R.J. (2004) Ovarian follicular expression of m RNA encoding the type IIGF receptor and IGF-binding protein-2 in sheep following five days of nutritional supplementation with glucose, glucosamine or lupins. *Reproduction*, 128:747-756.
60. Muñoz-Gutierrez M., Findlay P.A., Adam C.L., Wax G., Campbell B.K., Kendall N.R., Khalid M., Forsberg M., Scaramuzzi R.J. (2005) The ovarian expression of m RNA for aromatase, IGF-I receptor, IGF-binding protein-2, -4 and -5, leptin and leptin receptor in cycling ewes after three days of leptin infusion. *Reproduction*, 130:869-881.
61. Nottle M.B., Seamark R.F., Setchell B.P. (1990) Feeding lupin grain for six days prior to a cloprostenol-induced luteolysis can increase ovulation rate in sheep irrespective of when in the oestrous cycle supplementation commences. *Reproduction Fertility Development*, 2:189-192.
62. NRC- National Research Council (1985) Nutrient requirements of sheep. Washington, National Academy, 99p.
63. Olivera J., Dighiero M., Oliveira G. (2003) Sincronización de estros con un análogo de Prostaglandina F2a: viabilidad productiva y económica. XXXI Jornadas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p. 160-162.
64. Olivera J., Gil J., Menchaca A., Rubianes E. (2004) Effect of GnRH associated with the application of timed artificial insemination in ewes (Abstract). *Reproduction Fertility Development*, 16(4):507.
65. Olivera J., Gil J. (2005) Estudio de diferentes alternativas para la sincronización de celos en ovinos: descripción y valorización económica. XXXIII Jornadas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p. 195-96.
66. Olivera-Muzante J., Gil J., Fierro S., Gamarra J., Texeira V. Araujo, A. Stoletniy, G. (2006) Sincronización de celos para la IA a tempo fijo vía cervical en majadas del Proyecto Merino Fino: comparación de protocolos. INIA Serie de Actividades de Difusión N° 475, p. 10-15.
67. Olivera-Muzante J., Fierro S., López V., Gil J. (2011a) Comparison of prostaglandin- and progesterone- based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*. 75:1232-1238.
68. Olivera-Muzante J., Gil J., Fierro S., Menchaca A., Rubianes E. (2011b) Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*. 76:1501-1507.
69. Olivera-Muzante J., Fierro S., Gil J., Bentancor E., Donadio D., Ferrari J., González V., Vizcaíno J.M. (2013) Resultados reproductivos de diferentes protocolos de IATF vía cervical en ovinos en base a prostaglandina o progestágenos y ecG. Resúmenes XXIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. 18 al 22 de noviembre del 2013. Palacio de las Convenciones. La Habana, Cuba, p. 142.
70. Pineda MH. (1991) Patrones reproductivos de ovejas y cabras. En: McDonald LE. *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. 4ª ed. México. Ed Interamericana. p. 416-435.

71. Ponzoni R. (2014) Manejo ovino de precisión con especial referencia a desarrollos en Australia. XLII Jornadas Uruguayas de Buiatría, 5 al 7 de junio. Paysandú, Uruguay, p. 16-17.
72. Rattray P.V., Jagusch K.T., Smith J.F., Winn G.W., MacLean K.S. (1980) Flushing responses from heavy and light ewes. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 40:209-214.
73. Rhind S. M., McNeilly A. S. (1986) Follicle populations, ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH and prolactin in Scottish Blackface ewes in high and low levels of body condition. *Animal Reproduction Science*, 10:105-115.
74. Roy F., Combes B., Vaiman D., Cribiu E.P., Pobel T., Deletang F., Combarous Y., Guillou F., Maurel M.C. (1999) Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. *Biology of Reproduction*, 61:209-218.
75. Rubianes E., Castro T., Viñoles C., Ungerfeld R., Carabajal B., Kmaid S. (1995) Superovulación y transferencia embrionaria en ovinos. Montevideo, Departamento de Fisiología Facultad de Veterinaria. 43 p.
76. Rubianes E., Castro T., Carbajal B. (1996) Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Journal of Animal Science*, 76(3):473-475.
77. Rubianes E., Beard A., Dierschke D.J., Bartlewski P., Adams G.P., Rawlings N.C. (1997) Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF₂ α and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology*, 48:1093-1104.
78. Rubianes E., Menchaca A., Carballal B. (2003) Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to prostaglandin F₂ α . *Animal Reproduction Science*, 78:47-55.
79. Russel A.J.F., Doney J.M., Gunn R.G. (1969) Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 72:451-454.
80. 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. (1993) A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction Fertility and Development*, 5:459-478.
81. Scaramuzzi R.J., Campbell B.K., Downing J.A., Kendall N.R., Khalid M., Muñoz-Gutierrez M., Somchit A. (2006) A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition and Development*, 46:339-354.
82. Scaramuzzi R.J., Brown H.M., Dupont J. (2010) Nutritional and metabolic mechanisms in the ovary and their role in mediating the effect of diet on folliculogenesis: a perspective. *Reproduction in Domestic Animals*, 45:32-41.
83. Seekallu S.V., Tossi B.M., Duggavathi R., Barrett D.M.W., Davies K.L., Waldner C., Rawlings N.C. (2010) Ovarian antral follicular

- dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology*, 73:670-680.
84. Senger P.L (1999) Esquema: endocrinología del ciclo estral. Disponible en: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/fisiologia-animal/Material%20de%20clase/bloque-2-cap-9-tema-3.-ciclos-reproductores-de-las-hembras-domesticas.pdf>. Fecha de consulta: 09/06/15.
 85. Senger P.L. (2005) Pathways to pregnancy and parturition. 2a ed. Washington. Current conceptions. 373 p.
 86. Smith J.F. (1985) Protein, energy and ovulation rate. En: Land RB, Robinson, DW Genetics of Reproduction in Sheep. London, Butterworths. P. 349-359.
 87. Smith J.F. (1988) Influence of nutrition on ovulation rate in the ewe. *Australian Journal of Biological Sciences*, 41:27-36.
 88. Smith A.J., Stewart R.D. (1990) Effects of nutrition on the ovulation rate of ewes. En: Oldham CM, Martin GB, Purvis IW (Eds.). Reproductive Physiology of Merino sheep. Crawley, University of Western Australia, p. 85-101.
 89. Souza C.J., Campbell B.K., Baird D.T. (1997) Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 56:483-488.
 90. Stewart R., Oldham C.M. (1986) Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 16:367-370.
 91. SUL. (2015) Boletín de Exportaciones del Rubro Ovino. Uruguay: Exportaciones del Rubro Ovino. Período: febrero 2014 a enero 2015. Disponible en: http://www.sul.org.uy/mercados_boletin_exportaciones.asp. Fecha de consulta: 21/02/2015.
 92. Teleni E., King W.R., Rowe J.B., McDowell G.H. (1989a) Lupins and energy- yielding nutrients in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40:913-924.
 93. Teleni E., Rowe J.B., Croker K.P., Murray P.J., King W.R. (1989b) Lupins and energy- yielding nutrients in ewes. II. Responses in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetate and amino acids. *Reproduction Fertility Development*, 1:117-125.
 94. Thompson L.H., Goode L., Harvey R.W., Myers R.M., Linneerud A.C. (1973) Effects of dietary urea on reproduction in ruminants. *Journal of Animal Science*, 37:399-405.
 95. Ungerfeld R. (2002) Reproducción en Animales Domésticos. Montevideo, Ed. Melibea. V. I.
 96. Uribe-Velásquez L.F., Correa-Orozco A., Osorio J.H. (2009a) Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo Estral en ovejas. *Biosalud*, 8:117-131.
 97. Vilariño M., Menchaca A. (2007) Inseminación artificial en pequeños rumiantes. Fisiología y manejo reproductivo en pequeños rumiantes. Instituto de Reproducción Animal de Uruguay-2007, Curso de

- posgrado. Reproducción en Rumiantes. Montevideo. Uruguay, p. 41-51.
98. Viñoles C., Meikle A., Forsberg M., Rubianes E. (1999) The effect of sub luteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51:1351-1361.
 99. Viñoles C., Forsberg M., Banchero G., Rubianes E. (2001) Effect of long term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55:993-1004.
 100. Viñoles C., Forsberg M., Banchero G., Rubianes E. (2002) Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Animal Science*, 74:539-545.
 101. Viñoles C.G. (2003) Effect of Nutrition on Follicle Development and Ovulation Rate in the Ewe. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 56 p.
 102. Viñoles C., Meikle A., Repetto J., Cajarville C., Martin G.B., Forsberg M. (2003) Siete días de suplementación con concentrados permite aumentar la tasa ovulatoria en ovejas Corriedale. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, p. 144-146.
 103. Viñoles C., Forsberg M., Martin G.B., Cajarville C., Repetto J., Meikle A. (2005) Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction*, 129:299-309.
 104. Viñoles C., Meikle A., Martin G.B. (2009) Short-term nutritional treatment grazing legumes or feeding concentrates increased prolificacy in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*, 113:82-92.
 105. Viñoles C., Paganoni B., Glover K.M.M., Milton J.T.B., Blache D., Blackberry M.A., Martin G.B. (2010) The use of a "first-wave model" to study the effect of nutrition on ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. *Reproduction*, 140:865-874.
 106. Viñoles C., Glover K.M.M., Paganoni B.L., Milton J.T.B., Martin G.B. (2012) Embryo losses in sheep during short-term nutritional supplementation. *Reproduction Fertility and Development*, 24:1040-1047.
 107. Wilkins J.F. (1997) Method of stimulating ovulation rate in Merino ewes may affect conception but not embryo survival. *Animal Reproduction Science*, 47: 31-42.