

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**RESPUESTA REPRODUCTIVA A LA IATF DE OVEJAS SINCRONIZADAS CON
DOS DOSIS DE UN ANÁLOGO SINTÉTICO DE PGF₂ α ADMINISTRADO A
DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO**

Por

**Carolina Isabel BONINO TECHERA
María Sofía GRELA ALBANES**

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
2014**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa
Dr. Jorge Gil

Segundo miembro (tutor)
Dr. Julio Olivera Muzante

Tercer miembro
Dra. Daniela Crespi

Cuarto miembro
Dr. Sergio Fierro Fernández

Fecha 27 de Noviembre de 2014

Autores
Br. Carolina Bonino Techera

.....
Br. María Sofía Grela Albanés

AGRADECIMIENTOS

- A nuestro tutor Dr. Julio Olivera quien nos guió tanto en la realización del trabajo como en la etapa de escritura, nos enseñó la pasión por el trabajo, por los ovinos y la metodología para hacer las cosas bien. Nos apoyó en todo momento, y sin él hoy no podríamos estar presentando este trabajo.
- A nuestro co-tutor el Dr. Sergio Fierro por sus aportes en la realización del trabajo, la realización de las ecografías para la determinación de la TO y diagnóstico de gestación.
- A la Dra. Carolina Viñoles por la colaboración en las ecografías, y al Dr. Jorge Gil por sus aportes en reproducción.
- A la Escuela Agraria “La Carolina” a la dirección, a los docentes, al personal y a los estudiantes del año 2012 ya sea por las instalaciones, animales y su valioso trabajo y tiempo que nos dedicaron, sin los cuales no podríamos haber realizado el trabajo experimental.
- A la Estación Experimental Mario A Cassinoni “EEMAC” que nos brindó alojamiento y comodidades para la realización de trabajos y diferentes instancias de aprendizaje.
- La colaboración de los técnicos del laboratorio DILAVE Paysandú que tuvieron la gentileza de realizar los análisis coprológicos y brucelosis de las muestras remitidas.
- A Julito, Pancho y Ñato por la ayuda que nos brindaron y con quienes compartimos innumerables momentos.
- A María José Marán por su colaboración en la traducción del resumen y a María José Techera por sus aportes en diseño de imágenes.
- A las funcionarias de Biblioteca de Facultad de Veterinaria por la gran labor de conseguirnos los libros, artículos, revistas, y demás. Además de las valiosas correcciones en el transcurso de la escritura de la tesis.
- A todos los docentes que formaron parte de nuestra formación personal y profesional en el transcurso de nuestra carrera.
- A la Universidad de la República por la financiación de este proyecto (Curso de educación permanente de la Facultad de Veterinaria del Norte).
- A nuestros/as compañeros/as Ramiro Dutra da Silvera y Dolores Soler, y especialmente a Cindy Pechi y Graciana Hourcade por todos los momentos, experiencias y convivencia vividas.
- Y por último pero no menos importante a nuestras familias, amigos y parejas que nos acompañan desde el inicio de nuestra carrera y nos apoyaron y nos alentaron en todo momento.

TABLA DE CONTENIDOS

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
TABLA DE CUADROS Y FIGURAS	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 Fisiología reproductiva ovina	9
2.2 Etapas del ciclo estral y desarrollo folicular	10
2.3 Inseminación artificial	14
2.3.1 Técnicas de inseminación artificial	15
2.4 Sincronización de estros y ovulaciones en ovinos: protocolos	16
2.4.1 Protocolos en base al uso de progestágenos asociados a gonadotropinas	16
2.4.2 Protocolos en base al uso de prostaglandinas	17
2.4.3 Respuesta fisiológica posterior a la administración de una PG	18
2.4.4 Protocolo Synchrovine®	21
3. HIPÓTESIS	26
4. OBJETIVOS	26
4.1 Objetivo general.....	26
4.2 Objetivos específicos.....	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS	27
5.1 Manejo animal	27
5.2 Manejo nutricional y sanitario	27
5.3 Diseño experimental.....	28
5.4 Manejo del semen e IA	29
5.5 Variables evaluadas	29
5.6 Análisis estadístico	29
6. RESULTADOS	30
7. DISCUSIÓN.....	32
8. CONCLUSIONES	34
8.1 Consideraciones finales ó implicancias	34
9. BIBLIOGRAFÍA.....	35

TABLA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS

Cuadro 1. Inicio y finalización de la estación de cría para distintas razas ovinas presentes en Uruguay (Fernández-Abella, 1993).....	10
Cuadro 2. Diferentes análogos sintéticos de PGF2 α y sus respectivas dosis (Fierro y col., 2013).....	18
Cuadro 3. Resultados reproductivos de diversos protocolos de sincronización en base a la administración de dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG).....	21
Cuadro 4. Modificaciones y/o efectos evaluados sobre el protocolo de IATF Synchronvine® y sus resultados reproductivos.....	23
Cuadro 5. Resultados reproductivos de diferentes protocolos de sincronización en base a prostaglandinas (separación de 10, 12, 14 y 16 días entre dosis) e IA a estro detectado, y estro espontáneo pre-sincronizado (Dutra da Silveira y Soler, 2013).	26
Cuadro 6. Respuesta ovárica en ovejas sincronizadas con un análogo sintético de PGF2 α (PG) administrado a diferentes intervalos de tiempo.....	30
Cuadro 7. Respuesta reproductiva en ovejas sincronizadas con un análogo sintético de PGF2 α (PG) administrado a diferentes intervalos de tiempo.....	31

FIGURAS

Figura 1. Esquema del crecimiento folicular en ondas en la oveja (en base a Senger, 2005; Fierro, 2010).	11
Figura 2. Esquema de la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. (Elaborado en base a Senger, 2005).....	12
Figura 3. Izquierda: IA por técnica vaginal profunda o pericervical sobre el tubo Derecha: IA por técnica intrauterina laparoscópica en camillas.	15
Figura 4. Respuesta al protocolo Synchronvine® según la etapa folicular al momento de la primera dosis de PGF2 α (extraído de Menchaca y Rubianes, 2004).	22
Figura 5. Esquema del diseño experimental.....	28

RESUMEN

El objetivo general de este trabajo fue estudiar la respuesta reproductiva a la IA a Tiempo Fijo (IATF) de ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG) administradas a diferentes intervalos de tiempo. El experimento fue realizado en la UTU Escuela Agraria "La Carolina" (Ruta 23, Km 162.5; Ismael Cortinas, Flores, Uruguay; 33°S-57°O), en estación reproductiva (abril a junio). Se utilizaron 494 ovejas raza Corriedale (383 multíparas y 111 nulíparas), conformándose cinco grupos mediante bloqueo por categoría, condición corporal y peso vivo ($n \geq 94$ animales cada uno). Cada grupo fue sincronizado con dos dosis de un análogo sintético de PG separadas 7, 10, 12, 14 ó 16 días (grupos PG7, PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente). Se realizó IATF (Día 0) a las 48 (grupo PG7) ó 56 ± 1.5 horas pos segunda PG (grupos PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente), con semen pool fresco y diluido de 6 carneros adultos. Se evaluó el porcentaje de ovejas que ovularon (ovejas que ovularon/total de ovejas*100), la tasa ovulatoria (cuerpos lúteos/oveja que ovula; TO) y el nivel ovulatorio (cuerpos luteos/total de ovejas sincronizadas) mediante ecografía transrectal al Día 10; la tasa de no retorno al estro entre el Día 12 y 21 (NR_D21; ovejas que no retornan al estro/total de ovejas*100) mediante detección con retarjos pintados (3/100 ovejas); la fertilidad (ovejas gestantes/total de ovejas*100), prolificidad (fetos/ovejas gestantes) y fecundidad (fetos/total de ovejas*100) mediante ecografía transabdominal al Día 60. No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de ovejas que ovularon (92.6, 93.7, 95.8, 97.9 y 98%) ni en la TO (1.33, 1.47, 1.36, 1.46 y 1.43) entre los grupos comparados (PG 7, PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente; $P > 0.05$). Sin embargo, el grupo PG7 (1.23) presentó un menor nivel ovulatorio que los grupos PG14 (1.43) y PG16 (1.40) ($P < 0.05$). Se observó una mayor tasa de NR_D21, fertilidad y fecundidad en los grupos PG12 (50.0, 49.0 y 64.6%), PG14 (61.7, 59.6 y 76.6%) y PG16 (61.2, 59.2 y 74.5%), respecto a los grupos PG7 (35.8, 32.6 y 38.9 %) y PG10 (33.3, 31.3, 40.6%; NR_D21, fertilidad y fecundidad respectivamente) ($P < 0.05$), sin diferencia estadística entre ellos. No se observaron diferencias significativas de prolificidad (1.19, 1.30, 1.32, 1.29 y 1.26) entre grupos comparados (PG 7, PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente; $P > 0.05$). Se concluye que una separación de las dosis de PG mayor o igual a 12 días determina una mejor respuesta reproductiva a la IATF vía cervical con semen fresco.

SUMMARY

The aim of this experiment was to study the reproductive outcome to timed artificial insemination (TAI) of ewes synchronized with two doses of a synthetic analogous PGF2 α (PG) administered at different interval times. The experiment was conducted at the UTU Agricultural School "La Carolina" (Ruta 23, Km 162.5; Ismael Cortinas, Flores, Uruguay; 33°S-57°W), during the breeding season (April to June). 494 Corriedale multiparous and nulliparous (383 multiparous and 111 nulliparous) ewes were allotted to five groups (n \geq 94/group) blocked by parity, body condition score and live weight. Each group was synchronized with two doses of a synthetic analogous PG, separated 7, 10, 12, 14 or 16 days (groups PG7, PG10, PG12, PG14 and PG16 respectively). TAI (day 0) was performed 48 hours (group PG7) or 56 \pm 1.5 hours (groups PG7, PG10, PG12, PG14 and PG16 respectively) after second PG, with diluted fresh pool semen from six adult rams. The percentage of ewes that ovulate (ewes that ovulate/total ewes*100), the ovulatory rate (CLs/ewe that ovulated; TO) and the ovulatory level (CLs/total synchronized ewe) was assessed by transrectal ultrasound at Day 10; the rate of the non-return to estrus between Days 12 and 21 (NR_D21; non-return to estrus ewes/total ewes*100), prolificacy (fetus/pregnant ewe) and fecundity (fetus/total ewes*100) were assessed through transabdominal ultrasound at Day 60. No significant differences were observed in the percentage of sheep that ovulate (92.6, 93.7, 95.8, 97.9 y 98%) or in TO (1.33, 1.47, 1.36, 1.46 and 1.43) among the compared groups PG7, PG10, PG12, PG14 and PG16 respectively; P< 0.05). However, group PG7 (1.23) presented a lower ovulatory level than groups PG14 (1.43) and PG16 (1.40) (P< 0.05). Higher NR_D21, fertility and fecundity was observed in groups PG12 (50.0, 49.0 and 64.6%), PG14 (61.7, 59.6 and 76.6%) and PG16 (61.2, 59.2 and 74.5%) in comparison to groups PG7 (35.8, 32.6, and 38.9%) and PG10 (33.3, 31.3, 40.6%; respectively P< 0.05), with no differences among them. No significant differences in prolificacy (1.19, 1.30, 1.32, 1.29, and 1.26) were observed among compared groups (PG10, PG12, PG14 and PG16 respectively; P>0.05). In conclusion, a separation between PG doses higher of 12 to 16 days promotes better reproductive results to TAI via cervical using fresh semen.

1. INTRODUCCIÓN

En Uruguay la explotación de la especie ovina ha tenido históricamente una gran importancia social y económica para el país y para los productores uruguayos (Bonino, 2004; Montossi, 2011). Las coyunturas comerciales (crisis internacional de los precios de la lana), y presión de otras actividades agropecuarias en la última década (Censo General Agropecuario, 2011), se han reflejado en una importante disminución del stock ovino desde los años 90 (de más de 25 millones a un poco más de 8 millones de cabezas; DI.CO.SE, 2013). En la actualidad, se podría decir que el rubro ovino está posicionado mejor que nunca para maximizar los resultados económicos de los sistemas ganaderos, sobre todo en aquellos que tienen una baja relación ovino-vacuno (Salgado, 2011). El desafío para estos sistemas es producir más y mejor con similar número de ovejas, imprimiendo un valor agregado al rubro lana y carne en el caso de los ovinos (Montossi, 2010). La reciente apertura de mercados de alto poder adquisitivo para nuestra carne ovina sin hueso (Presidencia, 2013), es otra señal positiva para el rubro que seguramente tendrá incidencia en la evolución de la demanda y por ende en su viabilidad productiva futura.

La inseminación artificial (IA) es una de las herramientas tecnológicas disponibles para potenciar esta productividad debido a que permite un mayor y mejor aprovechamiento de los reproductores, maximizando el progreso genético en la introducción o difusión de una raza y/o la realización de cruzamientos (Duran del Campo, 1980; Menchaca y Rubianes, 2004; Viñoles, 2011a). Sin embargo la IA ha sido una herramienta históricamente poco difundida en nuestro país (menos del 10% de las ovejas de cría son servidas de esta forma por año; Fernández-Abella D., comunicación personal). Como causales de esta baja adopción se identifican problemas de manejo y de costos derivados del extenso tiempo que implican los trabajos de IA, implicando una mayor mano de obra, y predisponiendo a los animales a mayores riesgos sanitario por enfermedades transmisibles (Menchaca y Rubianes, 2004; Olivera y Gil, 2005).

Una alternativa tecnológica que podría minimizar estos problemas es la IA a tiempo fijo (IATF) ya que elimina la rutina diaria de detección de estros (Viñoles, 2011a). Esta tecnología permitiría un uso más eficiente de la escasa mano de obra de nuestros predios, realizar alimentación focalizada “precisa” pre-servicio y pre-parto, generar una parición concentrada permitiendo un mejor control de la misma y en consecuencia una mayor supervivencia perinatal, y generar además lotes de corderos más parejos (Olivera y Gil, 2005), aumentando así la eficiencia reproductiva global y el retorno económico del sistema (Martin y col., 2004). Sin embargo, la IATF ha sido empleada principalmente solo a nivel de cabañas (algo más de 90.000 ovejas inseminadas por zafra; Fernández-Abella D., comunicación personal), siendo una biotecnología reproductiva escasamente utilizada por los productores de majadas generales. Para

alcanzar una masificación en la adopción de la IATF en estos productores es importante primero lograr aceptables resultados reproductivos por vía cervical, con protocolos de bajo costo, de fácil implementación, y que consideren aspectos importantes para nuestros mercados acerca del bienestar “humano-animal-ambiental” (residuos en carne y leche, estrés animal por manejo, residuos en el ambiente) (Fierro, 2010; Olivera-Muzante y col., 2011a). Para ello es necesario investigar y validar nuevos protocolos de sincronización de estros y ovulaciones, que equiparen los resultados de los tradicionales métodos con progestágenos y gonadotropinas utilizados hasta el momento. En este sentido, empleando protocolos de IATF utilizando análogos de PGF2 α basados en una disminución del intervalo en días entre las dosis (7 días, protocolo Synchrovine®), no se han alcanzado avances sustanciales (Rubianes y col., 2004; Olivera-Muzante y col., 2011ab; Olivera-Muzante y col., 2013; Fierro y col., 2014). Sin embargo, a partir de trabajos de investigación básica y una profunda revisión del tema (Fierro y col., 2011; Fierro y col., 2013) surgen nuevas hipótesis de trabajo a considerar. Analizando las mismas, Dutra da Silveira y Soler (2013) y Hourcade y Pechi (2014) han obtenidos resultados promisorios que este nuevo trabajo de tesis busca como objetivo principal validar.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fisiología reproductiva ovina

La oveja es una especie poliéstrica estacional de día corto, es decir que a lo largo del año tiene una estación sexual y un período de anestro (superficial o profundo según la latitud), regulado por un mecanismo neurohormonal (Duran del Campo, 1980). El ciclo estral es un conjunto de eventos que se repiten sucesivamente, teniendo una duración promedio de 17 días (rango de 14 a 19; Ungerfeld, 2002). La duración de la estación de apareamiento varía con la nutrición, la duración del día (ya que la actividad estral está regida por el fotoperiodo y comienza en la época en que los días se hacen más cortos), y con la raza (Cuadro 1) (Duran del Campo, 1980; Fernández-Abella, 1993; Hafez y Hafez, 2002). 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, incrementando de esta manera la supervivencia de los corderos recién nacidos (Pineda, 1991). Los acontecimientos más importantes en el ciclo estral durante la estación reproductiva son el estro, ovulación, formación, desarrollo y regresión del cuerpo lúteo (CL); seguido de anestro o período de inactividad sexual, que prosigue hasta el primer estro de la temporada siguiente (Duran del Campo, 1980).

Cuadro 1. Inicio y finalización de la estación de cría para distintas razas ovinas presentes en Uruguay (Fernández-Abella, 1993).

Raza	Comienzo estación reproductiva	Fin estación reproductiva
Merino	Setiembre – Octubre	Junio – Julio
Ideal y Merilín	Octubre – Noviembre	Junio – Julio
Corriedale y Hampshire Down	Diciembre – Enero	Junio – Julio
Ile-De-France y Romney Marsh	Enero – Febrero	Junio – Julio
Lincoln y Texel	Febrero – Marzo	Junio – Julio

2.2 Etapas del ciclo estral y desarrollo folicular

El ciclo estral de la oveja se puede dividir en 4 etapas: proestro (desde el comienzo de la luteólisis hasta el inicio del estro), estro propiamente dicho, metaestro (desde el final del estro hasta la formación del CL) y diestro (presencia de CL activo) (Ungerfeld, 2002). Una forma más simple de dividir el ciclo estral, es denominarlo según la estructura que domine en el ovario durante cada momento, siendo la fase folicular donde se produce el desarrollo final de los folículos, la ovulación y el comienzo de la formación del CL con mayor presencia de estradiol (E2), y la fase luteal destacando la presencia del CL y la progesterona (P4) que éste produce hasta la lisis del mismo (Ungerfeld, 2002; Senger, 2005), el CL tiene una actividad funcional de entre 14 y 15 días en la oveja (Hafez y Hafez, 2002) y durante 12 de estos días tiene niveles altos de P4 (Coy Fuster, 1995). El estro tiene una duración de 24 a 36 horas dependiendo de la raza, edad, estación de año y presencia del macho (Fernández-Abella, 1987; Hafez y Hafez, 2002). La ovulación es espontánea y se presenta al final del estro, unas 24 a 27 horas de iniciado éste (Fernández-Abella, 1987; Hafez y Hafez, 2002).

La ultrasonografía transrectal diaria de los ovarios nos ha permitido el estudio de la foliculogénesis (Hafez y Hafez, 2002; Viñoles y col., 2010). Mediante ésta técnica se ha determinado que tanto en la estación reproductiva, como en la transición al anestro y durante el anestro estacional el desarrollo de los folículos ocurre en forma de ondas (2 a 4 ondas) (Ginther y col., 1995; Souza y col., 1996; Ravindra y Rawlings, 1997; Bartlewski y col., 1998; Adams, 1999; Evans y col., 2000). Lo más común es que ocurran 3 ondas foliculares durante un ciclo estral (Ginther y col., 1995; Bartlewski y col., 1999; Viñoles y col., 1999; Evans y col., 2000), emergiendo las mismas los días 0, 6 y 11 del ciclo aproximadamente, aunque solo se sabe el día de emergencia exacto de

la primera onda (Menchaca y Rubianes, 2012) (Figura 1). Viñoles y col. (2002), sostienen que la condición corporal afecta el número de ondas que se desarrollan durante el ciclo. Ovejas con 4.1 puntos de condición corporal (escala 0 a 5, Russel y col., 1969) desarrollan un patrón constante de 3 ondas, mientras que ovejas con 1.9 puntos de condición corporal desarrollan 2 o 3 ondas. Dado que las ovejas gordas tienen una tasa ovulatoria (TO) más alta que las flacas (peso “estático”), se plantea la asociación positiva entre la condición corporal, el número de ondas foliculares y la TO.

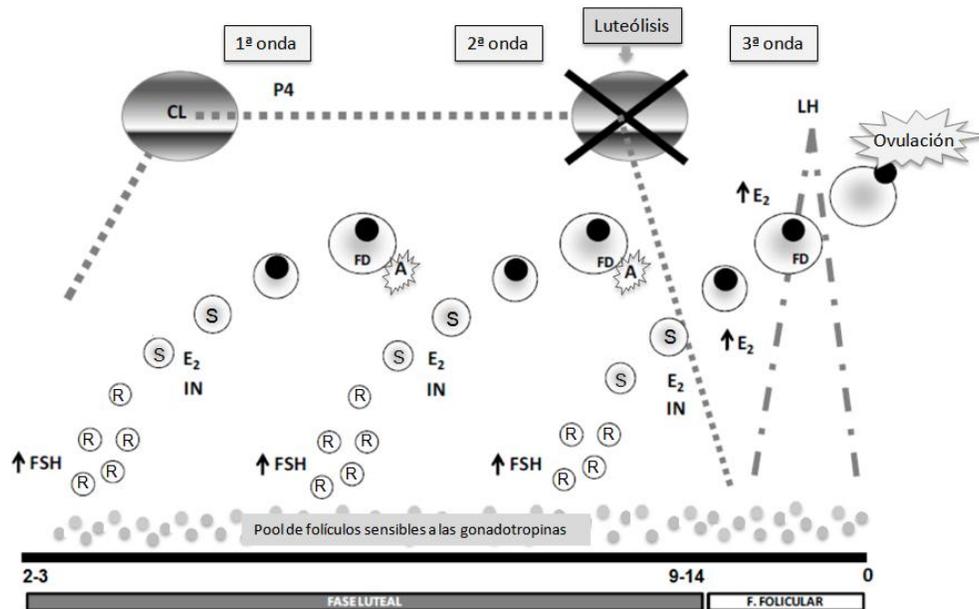


Figura 1. Esquema del crecimiento folicular en ondas en la oveja (en base a Senger, 2005; Fierro, 2010).

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.

Antes de la emergencia de cada onda folicular ocurre un aumento en la concentración de la hormona folículo estimulante (FSH), la cual produce el reclutamiento de los folículos antrales sensibles a esta hormona (Ginther y col., 1995; Souza y col., 1997; Ungerfeld y col., 2002). Los folículos que continúan su crecimiento secretan inhibina y producen una retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH en la hipófisis limitando el fenómeno de reclutamiento (Mc Neilly y col., 1991; González-Bulnes y col., 2004, citado por Fierro, 2010). Por lo tanto los folículos que siguen creciendo van a cambiar su dependencia a la hormona luteinizante (LH) debido a que adquieren receptores para LH en las células de la granulosa (Ireland, 1987, citado por Bo y Caccia, 2002), comenzando la fase de selección folicular y de esta manera uno o

varios de los folículos continuarán su desarrollo (Ginther, 2000) (Figura 1). En este momento comienza la síntesis de E₂, que colabora con la inhibición de los niveles de FSH (Baird, 1983; Ginther y col., 1996), y que a su vez estimula la secreción pulsátil de LH y de GnRH (hipotálamo) (McNatty y col., 1981; Campbell y col., 1999; Driancourt, 2001) (Figura 2). La tasa de crecimiento del folículo dominante es de 1 mm/día, logra su mayor tamaño 3 días después de la emergencia llegando a 5 mm aproximadamente, teniendo mayor diámetro en la primera y la última onda folicular (Viñoles y col., 2001). Se calcula que la duración necesaria para el desarrollo de un folículo antral hasta el momento de la ovulación es de alrededor de 10 días en animales domésticos (Cunningham y Klein, 2009).

La P₄ circulante juega un papel importante en el recambio folicular de los pequeños rumiantes (Rubianes, 2000), debido a su acción sobre la LH (Figura 2). Cuando los niveles de P₄ son altos la LH disminuye su pulsatilidad y el folículo dominante (FD) de la onda deja de producir E₂, concluyendo su actividad funcional, comenzando a aumentar nuevamente la FSH y con ello el recambio folicular originándose una nueva onda folicular (Ginther y col., 1995) (Figura 1). También es necesario niveles altos de P₄ denominado “priming de P₄” para que se pueda producir el estro (Ungerfeld, 2002).

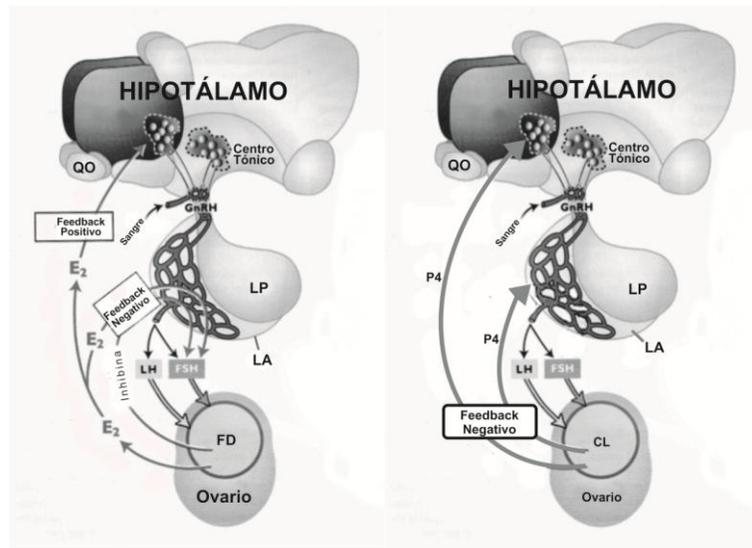


Figura 2. Esquema de la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. (Elaborado en base a Senger, 2005).

LA: lóbulo anterior. LP: lóbulo posterior de la hipófisis. QO: quiasma óptico. CL: cuerpo lúteo; P₄: progesterona; FD: folículo dominante; E₂: 17 β – estradiol; INH: inhibina. El hipotálamo libera GnRH, esta hormona actúa en la hipófisis liberando FSH y LH; este mecanismo es regulado de dos maneras diferentes según la estructura ovárica presente (CL o FD). El CL secreta P₄ que produce una retroalimentación negativa sobre la síntesis de GnRH y LH; el FD secreta E₂ e INH que producen una retroalimentación negativa sobre la síntesis de FSH y retroalimentación positiva sobre la secreción de GnRH y LH.

Ginther y col. (1995) después de muchos estudios pudieron comprobar la existencia del fenómeno de dominancia folicular en la oveja. Luego otros autores observaron diferencias de la dominancia entre la fase luteal y la folicular encontrando en esta última fase mayor dominancia (López-Sebastian y col., 1997; Rubianes y col., 1997; Evans y col., 2000; González-Bulnes y col., 2001; 2004). Dentro de la fase luteal se observa una mayor dominancia en la etapa temprana, con respecto a la media y tardía (Seekallu y col., 2010). Todos estos fenómenos están regidos por la P4 y sus diferentes concentraciones a lo largo del ciclo estral. Pero la oveja tiene la capacidad de reclutar más de un folículo dominante, lo cual se denomina co-dominancia, permitiendo ovulaciones múltiples tanto de la misma onda como de ondas consecutivas (Scaramuzzi y col., 1993). Esto crea una interrogante sobre el fenómeno de dominancia folicular en los ovinos.

Los niveles de P4 influyen en el crecimiento folicular. Con la implementación de diferentes tratamientos con P4 exógena en ovejas se determinó que niveles supraluteales de esta hormona (niveles superiores a los de una fase luteal normal), afectan el crecimiento del folículo mayor de la primera onda promoviendo el recambio folicular y el desarrollo de un mayor número de ondas (Rubianes y col., 1996; Viñoles, 2011ab). Por el contrario, algunos autores generaron en los días 6 a 9 del ciclo estral niveles de P4 subluteales, determinando que la vida media del folículo mayor de la primera onda se prolongara, extendiéndose el efecto de dominancia sobre los folículos subordinados (Stock y Fortune, 1993; Viñoles y col., 1999). Si este folículo finalmente ovula la fertilidad potencial se verá disminuida (Revah y Butler, 1996).

La luteólisis (regresión fisiológica del CL) marca el final de la fase luteal, siendo mediada ésta por la PGF2 α endometrial. En ese momento comienzan a decaer los niveles de P4 y de ésta manera comienza a prepararse la ovulación, observándose una mayor pulsatilidad de la LH (Figura 1), debido a que se corta la retroalimentación negativa sobre la secreción de GnRH (Figura 2), elevándose la concentración de E2 proveniente del folículo pre ovulatorio (FPO).

2.3 Inseminación artificial

La IA es una técnica de reproducción en la cual se introduce el semen colectado artificialmente de los machos en el tracto genital femenino a través de medios artificiales sin producirse la monta o el coito, para dar origen a un nuevo feto (Duran del Campo, 1980; Hopkings y Evans, 1991; Fernández-Abella, 1995).

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).

Sin embargo, la utilización de la IA en ovinos no se ha expandido de la misma forma que en bovinos (Rubianes y Ungerfeld, 2002), ya que además de las ventajas expuestas posee desventajas asociadas a su aplicación (Evans y Maxwell, 1987; Durán del Campo, 1993). Por un lado la producción ovina en nuestro país es principalmente extensiva, y eso sumado a la natural dificultad en la detección de estros en esta especie, determina un punto crítico en la eficiencia de esta biotecnología. Por otra parte, la oveja posee una compleja anatomía reproductiva (Gil y Olivera, 2005), ya que el cérvix a pesar de tener un aspecto exterior tubular, en su interior está casi totalmente obstruido por tres a siete repliegues de mucosa, conformando anillos que se suceden unos detrás de otros. En el centro del cérvix se abre un pequeño orificio que sirve para el pasaje de los espermatozoides hacia el útero, teniendo en su apertura exterior una papila (también denominada flor radiada) que hace más complejo su pasaje. Ésta compleja anatomía que actúa como barrera, y la imposibilidad de fijar manualmente el cérvix ovino en forma práctica y no cruenta, dificulta la inseminación a través del mismo tal cual se hace en la vaca (Durán del Campo, 1980; Hafez y Hafez, 2002).

2.3.1 Técnicas de inseminación artificial

Las diferentes técnicas de IA existentes varían dependiendo el sitio de deposición del semen. Pudiendo ser: vaginal profunda o “a ciegas”, cervical o pericervical, intrauterina quirúrgica, o intrauterina laparoscópica (Gil, 2002) (Figura 3). A continuación describiremos brevemente en qué consiste cada una de ellas.



Figura 3. Izquierda: IA por técnica vaginal profunda o pericervical sobre el tubo. Derecha: IA por técnica intrauterina laparoscópica en camillas.

La IA vaginal profunda consiste en la deposición de semen cranealmente en la vagina sin ubicar el cérvix. Presenta la ventaja de ser la técnica más sencilla, rápida y con menores requerimientos de instrumental (Gil, 2002). La inseminación por vía cervical tiene las ventajas de ser un método muy sencillo y por lo tanto puede ser aplicado en diversas condiciones de campo, y además de ser económico requiere poco tiempo por oveja (Gil, 2002). Se ha demostrado que a mayor profundidad de la deposición del semen en el cérvix mejores serán los resultados reproductivos (Evans y Maxwell, 1987; Eppleston y Maxwell, 1993). La inseminación intrauterina quirúrgica es mayormente utilizada con semen congelado o con menor dosis de espermatozoides (10 a 20 millones). La ventaja es que se pueden inseminar más ovejas por eyaculado ya que puede reducirse la dosis, aunque debe de tenerse a las hembras con los estros sincronizados, privarles de agua y alimento 12 horas antes de la IA, y es una técnica más compleja, costosa y lenta. La inseminación intrauterina laparoscópica es una intervención menor a la anterior (Gil, 2002), es utilizada con semen congelado y ha sido una técnica exitosa en superar la barrera que representa el cérvix ovino (Vilariño y Menchaca, 2007), al igual que la anterior es una técnica compleja en la que se requieren cepos o camillas especiales y alta especialización, entrenamiento y conocimientos más profundos sobre el tema, además de ser costosa y lenta, por lo que no se aplica para inseminaciones masivas, y es cuestionada en algunos países por no considerar normas del bienestar animal (Gil, 2002; Martin y col., 2004).

2.4 Sincronización de estros y ovulaciones en ovinos: protocolos

La IA tradicional a estro visto espontáneo genera un inevitable y prolongado manejo diario de los ovinos en los corrales con el consecuente deterioro sanitario y nutricional de la majada (Olivera y Gil, 2005). La forma de evitar esto es sincronizar los estros y ovulaciones y realizar IATF (sin detección de estros). En los programas de IATF se pueden utilizar diferentes protocolos hormonales de sincronización, ya sea en base a progestágenos asociados a gonadotropinas (P4-eCG), o con el uso de análogos sintéticos de prostaglandina F_{2α} (PG).

2.4.1 Protocolos en base al uso de progestágenos asociados a gonadotropinas

Los protocolos con P4 (dispositivos vaginales impregnados en medroxiprogesterona o acetato de fluorogestona) se utilizan tanto en anestro como en la estación reproductiva (Menchaca y Rubianes, 2004). Los mismos simulan la fase luteal de un ciclo estral normal, por lo que la duración del tratamiento es de 12 a 14 días (Gordon, 1999). Sin embargo su duración puede ser reducida con éxito a 5-7 días (protocolos “cortos”), ya que se ha demostrado que es suficiente ese “priming” de P4 previo, además de evitar el posible “envejecimiento” folicular (por niveles sub luteales de P4 sanguínea) que puede ocurrir con los protocolos “largos” (Viñoles, 2011a), asociado en algunos reportes a menores tasas de preñez (Fierro, 2010). Similares resultados se han observado con los protocolos cortos tanto en anestro como en estación reproductiva (Ungerfeld y Rubianes, 1999; Viñoles y col., 2001).

Con la inclusión de la P4 exógena (dispositivo) se produce el llamado feed back negativo sobre la secreción de GnRH y consecuentemente LH, al retirar el dispositivo concluye el mecanismo inhibitor y comienza la liberación de LH desencadenándose el estro y la ovulación (Ungerfeld y col., 2002). Para poder realizar IATF (sin detección de estros) es necesario sincronizar las ovulaciones. Para ello al retiro de los dispositivos de P4, se realiza la inclusión de una dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG). La eCG es utilizada en dosis de 350 a 600 UI dependiendo de la raza, peso y época del año. La ovulación ocurre entre las 60 y 65 horas aproximadamente luego de retirados los dispositivos (Maxwell, 1986), variando la hora de inseminación entre 48 y 60 horas según la vía de elección y el método de preservación seminal utilizado (Cognie y col., 1970; Colas y col., 1973; 1974). La TO y la prolificidad pueden verse incrementadas con estos protocolos debido a la capacidad de la eCG de ser folículo estimulante.

El uso de estos protocolos tradicionales (P4-eCG) ha obtenido hasta el momento mejores resultados reproductivos que protocolos de sincronización e IATF en base a PG (Olivera-Muzante y col., 2011a; Viñoles y col., 2011). Sin embargo estos protocolos presentan algunos inconvenientes respecto a las PG, como el ser bastantes más costosos (Olivera y Gil, 2005), poco prácticos de aplicación (requieren de mano de obra calificada), dejan residuos en carne y leche en los animales (tiempo de espera mayor a

30 días; Biogen Plus® Biogenesis Bagó, Esponjas Vaginales® Universal Lab), generan desechos contaminantes para el medio ambiente (Martin y col., 2004; Menchaca y Rubianes, 2004; Olivera y Gil, 2005), ocurren pérdidas de esponjas (2-3%), y generan adherencias y/o vaginitis sino se asocian a antibióticos (Durán del Campo, 1980, Contreras Solis y col., 2009). Por otra parte, el uso reiterado de eCG puede generar además anticuerpos anti-eCG que alterarían el pico pre ovulatorio de LH, con la consecuente potencial disminución en la fertilidad (Roy y col., 1999; Drion y col., 2001a, b; Maurel y col., 2003).

2.4.2 Protocolos en base al uso de prostaglandinas

El uso de estos protocolos está restringido a la estación reproductiva debido a que la PGF2 α actúa como agente luteolítico (McCracken y col., 1970). Sin embargo, esta hormona presenta la ventaja de que no se acumula en los tejidos, ya que se metaboliza en un 99% en el pulmón (Light y col., 1994), no teniendo tiempo de espera ni residuos que puedan contaminar el ambiente (Davis y col., 1980; Moller-Holtkamp, 1980), requisito cada vez más demandado por los consumidores (Martin y col., 2004). Además se trata de protocolos muy económicos y de fácil aplicación en comparación con los protocolos en base a P4-eCG (Olivera y Gil, 2005).

Para contrarrestar la rápida degradación de la PGF2 α se han creado varios análogos sintéticos (Fierro y col., 2013). Se destaca el Clorprostenol por ser mayormente utilizado, con una potencia cien veces mayor a la PGF2 α (Binder y col., 1974), debido a sus propiedades más selectivas sobre el CL (Dukes y col., 1974), y su mayor vida media (Baird y Scaramuzzi, 1975). Pocos artículos han reportado el uso de INO 1052 (Delprostenate) (Bonifacino y Aragunde, 1981) a pesar de sus buenos resultados (Fierro y col., 2013) (Cuadro 2). Por otra parte en la etapa luteal temprana el CL parece requerir mayores dosis de PG para producir su lisis, debido a la mayor actividad de la enzima 15-hidroxi prostaglandina deshidrogenasa (Fierro y col., 2013).

Cuadro 2. Diferentes análogos sintéticos de PGF2 α y sus respectivas dosis (Fierro y col., 2013).

Análogo sintético	Dosis	Referencia
15-[RS]-metil-13,14-dihidro-PGF2 α (ONO 453)	2 mg*	Hughes y col., 1976
ICI 79939	31.2 mg*	Hearnshaw y col., 1974
16-aryloxy prostaglandina (Clorprostenol; ICI 80996)	50 mg*	Baird y Scaramuzzi, 1975
16-aryloxy prostaglandina (Clorprostenol; ICI 80996)	100 mg	Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977
Delprostenate (ONO 152)	40* mg si se aplica una sola inyección 35* mg si se aplican dos inyecciones	Bonifacino y Aragunde, 1981
Dinoprost	10* mg si se aplica dos inyecciones separadas 11 días	Loubser y van Niekerk, 1981

*Dosis mínimas necesarias para producir luteólisis

2.4.3 Respuesta fisiológica posterior a la administración de una PG

La administración de una dosis de PG produce una disminución de los niveles de P4 de una manera más pronunciada respecto a lo que normalmente sucede en un ciclo normal (Stacy y col., 1976). Por esta razón los ciclos inducidos por las PG pueden ser algo más cortos y el estro puede adelantarse (Cardenas y col., 2004; Fierro y col., 2011), observándose la regresión completa del CL en forma fisiológica a las 72 h, mientras que cuando se administra una PG la regresión se produce entre las 6 y 24 h (Haresing y Acritopoulou, 1978). Las características del pico de LH parecen ser similares a lo que normalmente sucede (Acritopoulou y col., 1977; Haresign y Acritopoulou, 1978; Thimonier, 1979), o bifásica (Carlson y col., 1973; Bindon y col., 1979), debido a que el primer pico de LH produce una estimulación sobre la secreción de E2 y éste por retroalimentación positiva puede producir una segunda descarga de LH.

Las alteraciones que se producen por la administración de PG sobre la funcionalidad del FPO, la TO, la fertilidad y la prolificidad son controvertidas (Gordon, 1999; Fierro y col., 2011; 2013). Algunos autores no encuentran diferencias en la funcionalidad del FPO respecto a su capacidad de producir esteroides. Luego de la luteolisis inducida por PG la producción de P4 y la vida media del CL generado no

tendría diferencias comparándola con lo que sucede con un estro espontáneo (Fierro y col., 2011). Sin embargo, Letelier y col. (2011) sostienen que el FPO posee menor número de células de la granulosa con una consecuente menor producción de esteroides, afectándose la producción consiguiente de P4. Esto coincide con un CL que tiene una menor vida media (White y col., 1987). Con respecto a la TO y prolificidad Bindon y col. (1979) y Houghton y col. (1995), concuerdan que la administración de PG en fase luteal media no influye en estos parámetros. Sin embargo, otros autores observaron una TO y/o prolificidad inferior cuando se administró PG en fase luteal temprana en comparación con un estro espontáneo (Forichi y col., 2004; Olivera-Muzante y col., 2011b; Fierro y col., 2011). Para la explicación de este fenómeno Barrett y col. (2002) proponen que al administrar PG en esta fase ocurriría una alteración en el reclutamiento folicular, producto de un aumento en los niveles de E2, que provocaría un patrón de FSH alterado, y por ende una aceleración de la ovulación (Liu y col., 2006). Por otra parte, se han reportado aumentos en los valores de TO cuando la administración de la PG es en la fase luteal media, por la posibilidad de la ocurrencia de la ovulación de folículos provenientes de la segunda y tercer onda (Bartlewski y col., 1999; Gibbons y col., 1999), o por el desarrollo de un FPO con menor capacidad de producir esteroides, disminuyendo así la retroalimentación sobre la FSH y permitiendo así la selección de más de un folículo en la misma onda folicular (Letelier y col., 2011).

Cuando se inducen los estros con PG se reporta una menor fertilidad por disminución del número de contracciones miométriales hacia el oviducto (Davies y col., 2006), por lo que habría una alteración en el transporte de los espermatozoides, llegando menos espermatozoides al sitio de fertilización (Hawk y Conley, 1975; Hawk y Cooper, 1977; Bartlewski y col., 2003), sumado a que podría ocurrir una alteración de la mucosa vaginal alterando el transporte de los espermatozoides desde el cuello uterino hacia el útero (Rubianes y col., 1997). Por otra parte se reporta, asociado al uso de PG, una alteración en el transporte de los gametos debida a alteraciones de la capacidad esteroidogénica del FPO (White y col., 1987), ya que los esteroides preparan el oviducto y el útero para la fecundación y el transporte del embrión, incluyendo la inducción de las contracciones miométriales necesarias para dicho proceso (Meikle y col., 2001; Sosa y col., 2008). El tratamiento de ovejas con PG conlleva a una menor recuperación de embriones, comparado con estros naturales (Schiewe y col., 1990; Fierro y col., 2011), pero la calidad de los mismos no fue diferente (Fierro y col., 2011).

Al administrar una dosis de PG a un grupo de ovejas no sincronizadas, estas se encuentran en diferentes días del ciclo estral (Acritopoulou y Haresing, 1980; Houghton y col., 1995), y por lo tanto en diferentes etapas de desarrollo luteal y/o folicular, observándose una respuesta estral en el 60-70% de las ovejas tratadas (Fierro y col., 2013). A mayor edad del CL la respuesta en horas desde la inyección de la PG al comienzo del estro será más tardía (Houghton y col., 1995). Además, si al momento de

la inyección de PG el folículo dominante se encuentra en la fase de crecimiento o en fase estática se producirá la ovulación en un corto período de tiempo, mientras que si se encuentra en regresión, tendrá que emerger una nueva onda folicular que originará el FPO, ocurriendo la ovulación en forma más tardía (Viñoles y Rubianes, 1998).

Los protocolos tradicionales con dos dosis de PG separadas entre 9 a 14 días inducen estros en la mayoría de los animales independientemente del momento en que se administra la primera PG (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977; 1978). Sin embargo, estos protocolos presentarían a priori dos grandes inconvenientes: 1) una gran dispersión en la manifestación de estros y ovulaciones, lo cual limitaría su uso para un solo momento de IATF y, 2) una aparente menor fertilidad de los mismos en comparación con los protocolos en base a P4-eCG (Boland y col., 1978; Hackett y col., 1981; Loubser y van Niekerk, 1981; Acritopoulou-Fourcroy y col., 1982). Las diferentes condiciones de producción comparadas (biotipos raciales, latitudes), el bajo número de animales empleados en alguno de estos ensayos, y la variabilidad de resultados alcanzados, conllevan a no poder sacar conclusiones claras al respecto, y a limitar hasta el momento su recomendación de uso como protocolos de IATF en ovinos (Menchaca y Rubianes, 2004, 2012; Fierro y col., 2013) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados reproductivos de diversos protocolos de sincronización en base a la administración de dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG).

Protocolos	n	Tipo de servicio	Fertilidad (%)	Prolificidad	Referencias
2 PG 9 d	26	M.N.	65.0	-	Boland y col., 1978
2 PG 9 d + eCG	24	M.N.	53.8	-	
2 PG 14 d	26	M.N.	42.1	-	
2 PG 14 d + eCG	27	M.N.	71.4	-	
MAP 14 d	23	M.N.	72.7	-	
MAP 14 d + eCG	23	M.N.	85.7	-	
2 PG 11 d (5 mg/dosis)	28	IATF 20 y 32 h	59.1 ^x	-	Loubser y van Niekerk, 1981
2 PG 11 d (10 mg/dosis)	28	IATF 20 y 32 h	75.3 ^y	-	
2 PG 11 d	31	IATF 60 h	35	2.5 ^x	Hackett y col., 1981
2 PG 11 d	31	IATF 72 h	52	1.7 ^x	
2 PG 11 d	29	IATF 60 Y 72 h	52	2.1 ^x	
2 PG 12 d	42	IATF 56 h	54.8 ^x	1.30	Acritopoulou-Fourcroy y col., 1982
2 PG 12 d	32	IATF 60 h	37.5 ^y	1.25	
2 PG 12 d	39	IATF 66 h	30.8 ^y	1.41	
2 PG 12 d	42	IATF 56 y 66 h	61.9 ^x	1.42	
MAP + eCG	45	IATF 55 h	37.8 ^y	1.88	

^{x, y} dentro de igual referencia difieren (P<0.05). Dentro de igual referencia datos presentados sin una letra superíndice en común difieren (P <0.05).

Fertilidad: ovejas preñadas/ovejas sincronizadas o encarneradas, Prolificidad: fetos/ovejas gestantes; 2 PG 9 d: dos dosis de PG separadas 9 días y así sucesivamente; MAP + eCG: esponjas vaginales impregnadas en medroxiprogesterona y gonadotropina corionica equina a su retiro; M.N: monta natural, IATF: inseminación artificial a tiempo fijo.

2.4.4 Protocolo Synchrovine®

Contrariamente a lo que se sostenía por algunos autores (Acritopolou y Haresign, 1980) se ha demostrado que el CL es refractario a la PG solo en los primeros dos días pos ovulación (Rubianes y col., 2003; Contreras-Solis y col., 2009). Basandose en ello, Rubianes y col. (2004) proponen acortar el intervalo entre dosis de PG para ser utilizado en IATF.

Este protocolo denominado Synchrovine® (Rubianes y col., 2004), consiste en la administración de dos dosis de PG separadas 7 días (rango de 6 a 8 días; Menchaca y Rubianes, 2004; Figura 4). 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 col., 2004), y una ovulación muy sincronizada (60 ± 1 hora; Rubianes y col., 2003; Contreras-Solis 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 col., 2004).

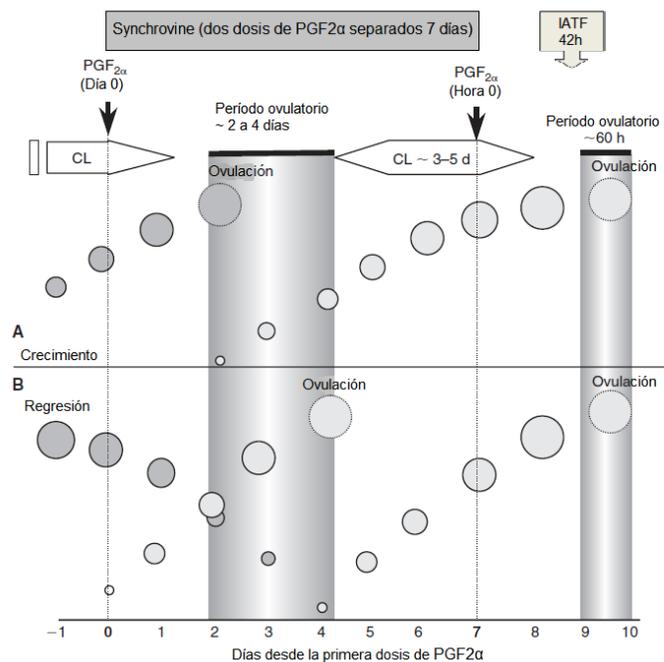


Figura 4. Respuesta al protocolo Synchronine® según la etapa folicular al momento de la primera dosis de PGF_{2α} (extraído de Menchaca y Rubianes, 2004).

La figura representa dos situaciones distintas de las ovejas con el folículo mayor en crecimiento (A) o regresión (B). Después de la primera dosis de PGF_{2α}, la ovulación ocurre entre los dos y cuatro días posteriores (según se esté en situación A o B). El nuevo folículo de la próxima onda folicular emerge alrededor del día de la ovulación (es decir, entre los dos a cuatro días). Cuando la segunda dosis de PGF_{2α} se administra siete días más tarde, el folículo más grande tiene de tres a cinco días de edad y el cuerpo lúteo (CL) es sensible al tratamiento. Por lo tanto, los folículos ovularan en un periodo sincrónico entre las 48 y 72 h (~60 h). La inseminación a tiempo fijo (IATF) se lleva a cabo 42 horas después de la segunda dosis de PGF_{2α}.

Sin embargo, y a pesar de esta alta sincronización de estros y ovulaciones (el requisito más importante para una IATF exitosa), los resultados alcanzados en términos

de fertilidad han sido muy variables, no superando en promedio el 35-40% de preñez inseminando con semen fresco por la vía cervical (Menchaca y col., 2004; Fierro y col., 2007; Fossati y col., 2008; Bottaro, 2009; Contrera-Solis y col., 2009; Olivera-Muzante y col., 2011ab; Olivera-Muzante y col., 2013; Fierro y col., 2014).

En la búsqueda de mejores resultados con el protocolo Synchronvine® se han evaluado diferentes alternativas y efectos sobre éste protocolo (Cuadro 4), como ser: la categoría animal (Olivera y col., 2006; Gil y col., 2006), la asociación con el efecto macho (Contreras-Solís y col., 2009), el momento y la vía de IA empleada (Menchaca y col., 2004; Gil y col., 2006; Fosatti y col., 2008; Bottaro, 2009; Olivera-Muzante y col., 2011a), la dosis y la separación entre dosis de PG (Olivera-Muzante y col., 2011b), el tipo de preservación seminal (Gil y col., 2006; Bottaro, 2009), la inclusión de un análogo sintético de GnRH (8 µg Buserelina) a las 24 ó 36 horas luego de la segunda PG ó 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). Sin embargo las alternativas y/o efectos evaluados no lograron mejorar en forma considerable los resultados del protocolo Synchronvine®.

Cuadro 4. Modificaciones y/o efectos evaluados sobre el protocolo de IATF Synchronvine® y sus resultados reproductivos.

Protocolo	n	Fertilidad (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)	Referencia
Synchronvine® IATF 42 h	152	36.8 ^a	-	-	Menchaca y col., 2004
Synchronvine® IATF 48 h	120	28.8 ^{ab}	-	-	
Synchronvine® IATF 54 h	164	22.6 ^{ab}	-	-	
Synchronvine® Primíparas	79	37 ^a	1.03 ^a	38 ^a	Olivera y col., 2006
Synchronvine® Multíparas	90	40 ^a	1.19 ^b	48 ^a	
Synchronvine® IU Primíparas SC	93	13 ^a	1.08 ^a	14 ^b	Gil y col., 2006
Synchronvine® IU Multíparas SC	86	13 ^a	1.00 ^a	13 ^b	
Synchronvine® IATF 42 h	82	27 ^a	1.09 ^a	29 ^a	Fossati y col., 2008
Synchronvine® IATF 48 h	96	31 ^a	1.03 ^a	32 ^a	
Synchronvine® IATF 54 h	90	26 ^a	1.04 ^a	27 ^a	
Synchronvine® IATF 48 h	96	31 ^a	1.03 ^a	32 ^a	Bottaro, 2009
Synchronvine® IATF 42 h SR	89	6 ^b	1.00 ^a	6 ^b	
Synchronvine® IATF 48 h SR	89	24 ^a	1.00 ^a	24 ^a	
Synchronvine® IATF 54 h SR	91	22 ^a	1.05 ^a	23 ^a	

Synchrovine® IATF 48 h + EM	24	62.5 ^a	-	-	Contreras-Solís y col., 2009
Synchrovine® IATF 55 h + EM	25	44 ^b	-	-	
Synchrovine® IATF 51 h SR	107	12 ^a	1.04 ^a	12 ^a	Olivera-Muzante y col., 2011a
Synchrovine® IATF 57 h SR	109	14 ^a	1.07 ^a	15 ^a	
Synchrovine® IATF 51 h IU SR	109	43 ^b	1.04 ^a	45 ^b	
Synchrovine® IATF 57 h IU SR	113	51 ^b	1.09 ^a	56 ^b	
Synchrovine® IATF 42 h	145	45 ^a	1.09 ^a	49 ^a	Olivera-Muzante y col., 2011b
Synchrovine® IATF 48 h	145	51 ^a	1.04 ^a	53 ^a	
Synchrovine® 8 d IATF 42 h	147	33 ^b	1.02 ^a	33 ^b	
Synchrovine® 8 d IATF 48 h	146	29 ^b	1.19 ^b	34 ^b	
Synchrovine®	111	50 ^{ab}	1.13 ^a	56 ^a	Olivera-Muzante y col., 2011b
Synchrovine® DE IA 12 h	102	47 ^{ab}	1.18 ^a	55 ^a	
Synchrovine® + GnRH 42 h	104	38 ^a	1.28 ^{ab}	49 ^a	
Estro Espontáneo	86	59 ^b	1.39 ^b	83 ^b	
Synchrovine® HD PGF2 α	64	42 ^a	1.11 ^a	47 ^a	Olivera-Muzante y col., 2011b
Synchrovine® LD PGF2 α	63	24 ^b	1.13 ^a	27 ^b	
Synchrovine® IATF IU SF	135	62 ^a	1.25 ^a	80 ^a	Fierro y col., 2011
Estro Espontáneo IU SF	73	85 ^b	1.50 ^b	130 ^b	
Synchrovine®	101	42.6 ^a	1.09 ^a	46.5 ^a	Olivera-Muzante y col., 2013
Synchrovine® + GnRH 24 h	98	10.2 ^b	1.00 ^a	10.2 ^b	
Synchrovine® + GnRH 36 h	95	33.7 ^a	1.13 ^a	37.9 ^a	
Synchrovine®	100	46 ^a	1.09 ^a	49 ^a	Fierro y col., 2014
Synchrovine® + SupPr	93	56 ^a	1.06 ^a	59 ^a	

Dentro de igual referencia datos presentados sin una letra superíndice en común difieren ($P < 0.05$).

Synchrovine®: dos dosis de PGF2 α separadas 7 días e IA vía cervical con semen fresco; IATF: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; IU: IA intrauterina; SC: semen congelado; SR: semen refrigerado por 24 h; SF: semen fresco; EM: efecto macho; DE: detección de estros; GnRH: 8 μ g de Acetato de Buserelina; HD: dosis de 160 μ g de Delprostenate; LD: dosis de 80 μ g de Delprostenate. SupPr: suplementación proteica por 6 días entre dosis de PGF2 α . Fertilidad: ovejas gestantes/total de ovejas*100; Prolificidad: embriones/oveja gestante; Fecundidad: embriones/total de ovejas*100.

En un trabajo de carácter básico, e intentando determinar el momento de fallas y/o pérdidas reproductivas con este protocolo, Fierro y col. (2011; Cuadro 4) sugirieron que los bajos resultados reproductivos del protocolo Synchrovine®, en comparación con un estro espontáneo, se podrían asociar a un ambiente uterino con crecientes pero bajas concentraciones de P4 durante el desarrollo del FPO (Onda 1), debido a la presencia de un CL de tan solo 3-5 días de edad. Esto estimularía un rápido crecimiento y un mayor tamaño del FPO (Fierro y col., 2011), conllevando a una baja capacidad de producir esteroides de ese folículo, por lo tanto se podría formar un CL que secretaría menor cantidad de P4 (White y col., 1987). En consecuencia, ocurriría

una ovulación con menor calidad ovocitaria y por ende una menor sobrevivencia de los embriones (Ashworth y col., 1989; Parr, 1992). Por otra parte, Barrett y col. (2002) describieron que en un protocolo de doble dosis de PG, un 30% de las ovulaciones no fueron seguidas por la formación de un nuevo CL cuando la segunda dosis de PG fue administrada en la fase luteal temprana. Todo lo anteriormente expresado explicaría la menor TO, fertilidad, prolificidad y fecundidad observada con el protocolo Synchrovine® cuando se lo comparó con un estro espontáneo (Fierro y col., 2011).

Ha sido reportado que la disminución de 14 a 8 días en el intervalo entre las dosis de PG determinan una menor tasa de fertilización al día 3 (25% vs. 90%, Fairnie y col., 1977), y que un incremento en el porcentaje de ovejas en estro (93.4% vs. 82.0%) y de tasa de preñez (84.9% vs. 75.3%) ocurrió cuando se adicionó una fuente de P4 externa 8 días antes de la inyección de PG (proporcionada por dispositivos intravaginales; Loubser y van Niekerk, 1981). En base a la información previamente presentada, surge la hipótesis de que incrementando la separación entre las dosis de PG el desarrollo folicular se producirá en un ambiente con mejores niveles de P4, permitiendo un adecuado desarrollo folicular, no afectando la TO, determinando mejores calidades ovocitarias y/o embrionarias, y por ende mejorando los resultados reproductivos con estos protocolos (Fierro y col., 2013). Trabajos previos al respecto (Cuadro 3), donde se analizan simultáneamente dos o un solo intervalo de separación entre dosis de PG por ensayo, el efecto de la dosis de PG utilizada, la hora de IATF, o la inclusión de gonadotropinas; bajo diferentes condiciones de producción (raza, latitud), un bajo número de animales empleados, y una gran variabilidad de resultados, no permiten sacar conclusiones claras al respecto.

En la búsqueda de validar esta hipótesis, y de poder emplear estos protocolos en IATF, Dutra da Silveira y Soler (2013) y Hourcade y Pechi (2014) estudiaron en la misma raza y momento del año el desarrollo folicular previo, la respuesta y dispersión de los estros, el momento de ovulación y la respuesta reproductiva obtenida con dos dosis de PG separadas 10, 12, 14 ó 16 días (fase luteal media y/o tardía del ciclo estral). Estos autores observaron por un lado que los grupos con 10, 12 y 14 días de separación entre las dosis de PG presentaron una mejor respuesta estral acumulada ($P < 0.05$) que el grupo con 16 días. También observaron que el porcentaje de ovejas que demostró estro entre las 24 y las 60 horas (intervalo de 36 horas) pos segunda PG fue mayor ($P < 0.05$) en el grupo con 10 y 12 días respecto a los grupos con 14 y 16 días de separación entre las dosis. Sin embargo, realizando IA con semen fresco por vía cervical sobre estro detectado, la concepción del grupo con 14 y 16 días de separación fue superior ($P < 0.05$) a la de los grupos con 10 y 12 días, pero similar ($P > 0.05$) a la de un grupo control con estro espontáneo (Dutra da Silveira y Soler, 2013) (Cuadro 5). Por otra parte, no se apreciaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en el intervalo segunda PG-inicio del estro, en el diámetro folicular máximo y final, tasa de crecimiento folicular

y/o momento de ovulación en la comparación de estos intervalos de separación de dosis de PG (Hourcade y Pechi, 2014).

Cuadro 5. Resultados reproductivos de diferentes protocolos de sincronización en base a prostaglandinas (separación de 10, 12, 14 y 16 días entre dosis) e IA a estro detectado, y estro espontáneo pre-sincronizado (Dutra da Silveira y Soler, 2013).

GRUPO	Ovejas que ovularon (%)	TO	Concepción (%)	Fertilidad (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
PG10 (n: 33)	97 ^a	1.45 ^a	22.6 ^a	21.9 ^a	1.17 ^{ab *}	25.0 ^a
PG12 (n: 33)	97 ^a	1.44 ^a	21.2 ^a	21.2 ^a	1.57 ^{a *}	33.3 ^a
PG14 (n: 33)	94 ^a	1.39 ^a	54.8 ^{bc}	51.5 ^{bc *}	1.40 ^{ac}	69.7 ^{bc *}
PG16 (n: 33)	70 ^b	1.35 ^a	41.7 ^{ab}	30.3 ^{ab *}	1.30 ^{ab}	39.4 ^{ab *}
EE (n: 32)	100 ^a	1.33 ^a	51.5 ^{bc}	51.5 ^{bc *}	1.12 ^{cb}	57.6 ^{bc}

Valores con igual letra y * en igual columna difieren, 0.05 >P< 0.08.

PG10, 12, 14 ó 16: ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina (160 µg de Delprostenate/dosis) a intervalos de 10, 12, 14 ó 16 días respectivamente e IA a estro visto. EE: ovejas en estro espontáneo presincronizado. Ovejas que ovularon: ovejas con CL/ovejas sincronizadas; TO: cuerpos lúteos/oveja ovulada; Concepción: ovejas gestantes/ovejas inseminadas*100; Fertilidad: ovejas gestantes/total de ovejas*100; Prolificidad: embriones/oveja gestante; Fecundidad: embriones/total de ovejas*100.

En base a lo anteriormente planteado, surge la necesidad de profundizar en cuanto a la respuesta ovárica y la tasa reproductiva (fertilidad, prolificidad y fecundidad) de estos protocolos cuando son utilizados en un programa de IATF.

3. HIPÓTESIS

La administración de dos dosis de PG inyectadas a intervalos de tiempo mayores genera mejoras en la respuesta ovárica y/o reproductiva a la IATF en comparación con el protocolo Synchrovine®.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

El objetivo general del trabajo fue estudiar la respuesta reproductiva a la IATF de ovejas sincronizadas con dos dosis de PG administradas a diferentes intervalos de tiempo (7, 10, 12, 14 ó 16 días respectivamente).

4.2 Objetivos específicos

Estudiar la respuesta ovárica (porcentaje de ovejas ovuladas, TO y nivel ovulatorio), y la respuesta reproductiva de estos protocolos (tasa de no retorno al estro a 21 días, fertilidad, prolificidad y fecundidad a los 60 días pos IATF).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en la UTU Escuela Agraria “La Carolina” (Ruta 23 Km 162,5, Ismael Cortinas, Flores, Uruguay 33°S 57°O), en estación reproductiva (meses de abril a junio de 2012). Todos los procedimientos fueron avalados previamente por el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República (Exp: 111400-000079-12).

5.1 Manejo animal

Se utilizaron un total de 494 ovejas raza Corriedale (383 multíparas y 111 nulíparas), reproductiva y sanitariamente aptas al momento del servicio, con una condición corporal (CC) de $3,2 \pm 0,3$ y $3,5 \pm 0,2$ (escala 1-5; Russel y col. 1969), y un peso vivo (PV) de $54,5 \pm 6,3$ y $50,3 \pm 4,3$ Kg (media \pm desvío estándar; multíparas y nulíparas respectivamente). Las mismas fueron identificadas individualmente con caravanas numeradas. Se utilizaron 6 carneros Corriedale reproductivamente aptos, clínica y serológicamente libres de *Brucella ovis* (IDGA-DILAVE-MGAP, Montevideo, Uruguay), manejados en similares condiciones, a los cuales se les realizó una valoración seminal previa para ser aprobar su utilización (criterios: $>0.5\text{cc}$; $>2.5 \cdot 10^9$ espermatozoides/cc; motilidad masal >3 ; motilidad individual $>70\%$; morfoanomalías totales $<20\%$).

5.2 Manejo nutricional y sanitario

En cuanto al manejo nutricional de los animales durante el ensayo la alimentación fue en base a pastoreo de campo nativo (suelos de Cristalino), con una disponibilidad mayor a 600 Kg MS/ha, y con acceso de agua “ad libitum”. Respecto al manejo sanitario se realizó un mes previo al comienzo del ensayo, un recuento de hpg (huevos por gramo) en materias fecales y una dosificación de los animales contra parásitos gastrointestinales en función de resultados (Closantel al 15%, 10 mg/Kg subcutáneo; Sinsaguay®, Laboratorio Rosembusch, Montevideo, Uruguay). A los 10 días de la dosificación antihelmíntica se realizó un test de reducción en el contaje de hpg, comprobándose así su eficacia. Los animales fueron vacunados contra clostridios (Ultravac®, Laboratorio Merial; Montevideo, Uruguay), recibieron además un baño podal preventivo (sulfato de zinc al 10% durante 15 minutos), y un baño de aspersion precausional contra “piojo ovino” (Pirimifos metil 30%, Elimix®, Laboratorio Nutritec; Montevideo, Uruguay).

5.3 Diseño experimental

Se conformaron cinco grupos ($n \geq 94$ ovejas/grupo) los cuales fueron sincronizados con dos dosis de PG separadas 7, 10, 12, 14, ó 16 días (grupos PG7, PG10, PG12, PG14 y PG 16 respectivamente; 160 μg Delprostenate/oveja/dosis, Glandinex®, Universal Lab, Uruguay), y clasificados mediante bloqueo por categoría (nulípara ó multípara), CC y PV. Cada grupo contó con 22, 20, 22, 22 ó 23, y 73, 76, 74, 72 ó 75 (ovejas nulíparas y multíparas, grupos PG7, PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente). Se determinó como Día "0" el día que se realizó la IATF, desarrollándose a las 48 (grupo PG7) y a las $56 \pm 1,5$ h (grupos PG10, PG12, PG14 y PG16) pos segunda PG (Figura 5).

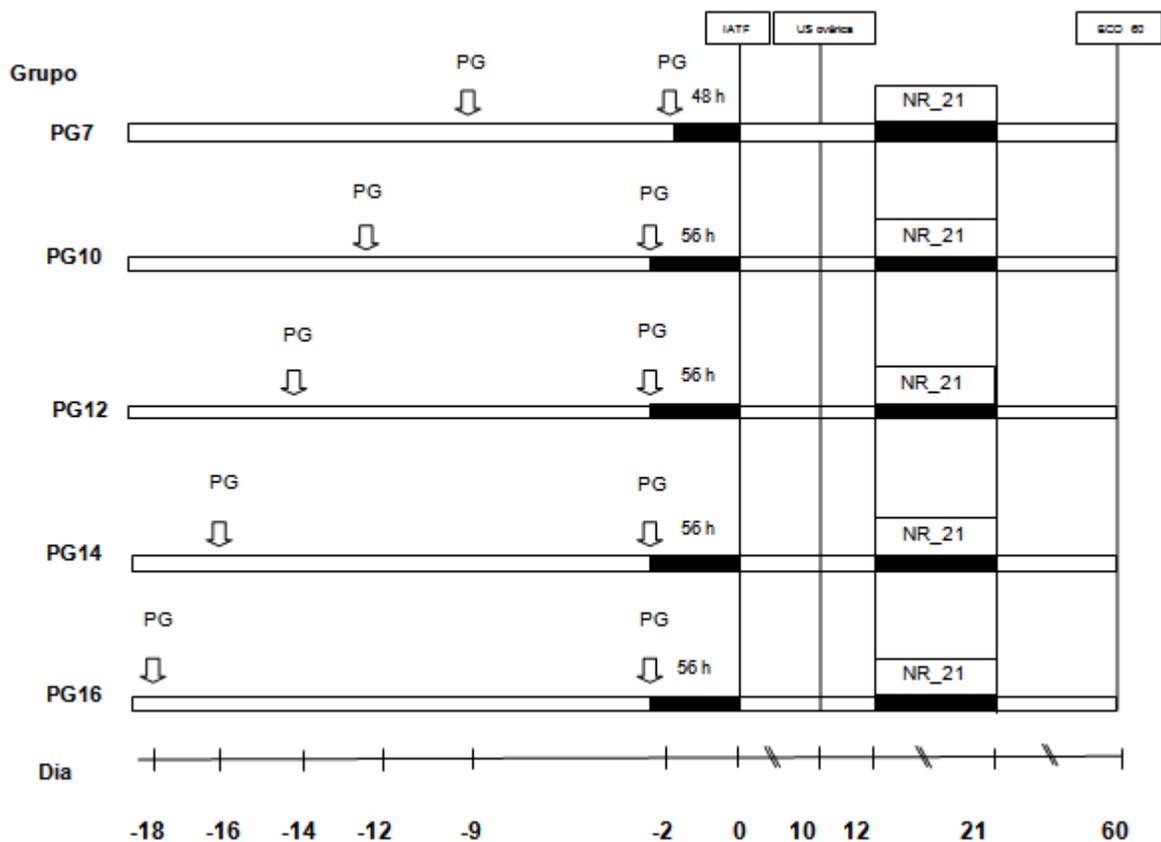


Figura 5. Esquema del diseño experimental.

Grupos PG7, PG10, PG12, PG14 y PG16: ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α (160 μg im de Delprostenate/oveja/dosis, PG) a intervalos de 7, 10, 12, 14 ó 16 días, respectivamente. IATF: Inseminación a tiempo fijo (Día 0); US ovárica: ecografía transrectal al Día 10; NR_D21: No retorno al servicio desde el Día 12 al Día 21; ECO 60: Ecografía transabdominal al Día 60.

5.4 Manejo del semen e IA

Se utilizó para la IA semen pool fresco de los 6 carneros Corriedale, extraído mediante vagina artificial (Durán del Campo, 1993). El semen fue diluido en leche descremada UHT con antibióticos (Penicilina G 100,000 UI y Estreptomicina 0,1 g/ 100 ml, Laboratorio Ion), y yema de huevo al 5%. La dosis inseminante fue de 160 millones de espermatozoides/oveja contenidos en 0,15 ml (dilución 1+4: semen+diluyente), depositado por la vía cervical a través de vaginoscopio con pistola de IA multidosis Walmur®. La misma fue realizada por dos técnicos inseminadores (según Duran del Campo, 1980), en un tubo de ovinos con la correspondiente sujeción de la oveja (Figura 3, Izquierda).

5.5 Variables evaluadas

Se evaluó ecográficamente en cada grupo el porcentaje de ovejas que ovularon (ovejas que ovularon/total de ovejas*100), la TO (CLs/oveja que ovula) y el nivel ovulatorio (CLs/total de ovejas) al Día 10 por vía transrectal; la fertilidad (ovejas gestantes/total de ovejas*100), prolificidad (fetos/ovejas gestantes) y fecundidad (fetos/total de ovejas*100) al Día 60 por vía transabdominal (ecógrafo Aloka 500 y transductor 7,5 y 3,5 MHz respectivamente), utilizando la metodología descrita por Viñoles y col. (2010). Se evaluó la tasa de no retorno al estro (NR_D21; ovejas que no retornan al estro/total de ovejas) mediante detección con retarjos pintados con tierra de color durante la noche, y aparte y extracción en la mañana, desde el Día 12 al Día 21, a razón de 3 retarjos/100 ovejas (Figura 3).

5.6 Análisis estadístico

Se consideró el efecto de la categoría y su interacción con los diferentes protocolos en las variables cuantificadas. Las ovejas que ovularon, 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, considerando como nivel de significación $P < 0,05$.

6. RESULTADOS

Los resultados de este trabajo se resumen en los Cuadros 6 y 7. No se observó un efecto significativo de la categoría, ni una interacción categoría*grupo en la respuesta ovárica y/o reproductiva ($P>0.05$), por lo cual los datos son presentados en forma conjunta para cada grupo experimental.

Cuadro 6. Respuesta ovárica en ovejas sincronizadas con un análogo sintético de PGF2 α (PG) administrado a diferentes intervalos de tiempo.

Grupo (n)	Ovejas que ovularon (%)	TO	Nivel Ovulatorio
PG7 (95)	92.6 ^a	1.33 \pm 0.50 ^a	1.23 \pm 0.60 ^a
PG10 (96)	93.7 ^a	1.47 \pm 0.52 ^a	138 \pm 0.62 ^{ab}
PG12 (96)	95.8 ^a	1.36 \pm 0.50 ^a	1.30 \pm 0.56 ^{ab}
PG14 (94)	97.9 ^a	1.46 \pm 0.52 ^a	1.43 \pm 0.56 ^{bc}
PG16 (98)	98.0 ^a	1.43 \pm 0.52 ^a	1.40 \pm 0.55 ^{bc}

^{a, b} igual columna: $P<0.05$

PG7, PG10, PG12, PG14, PG16: dos dosis PG separadas 7, 10, 12, 14 ó 16 días respectivamente. Ovejas que ovularon (Nº de ovejas que ovulan/total de ovejas; %). TO (tasa ovulatoria: Nº de ovulaciones/oveja que ovuló). Nivel Ovulatorio (Nº de ovulaciones/total de ovejas al Día 10). Día 0: día de la IATF.

No se observan diferencias significativas en el porcentaje de ovejas que ovularon, ni en la TO entre los grupos comparados ($P>0.05$; Cuadro 6). Sin embargo el grupo PG7 presentó un menor nivel ovulatorio que los grupos PG14 y PG16 ($P<0.05$).

Cuadro 7. Respuesta reproductiva en ovejas sincronizadas con un análogo sintético de PGF2 α (PG) administrado a diferentes intervalos de tiempo.

Grupo (n)	NR_D21 (%)	Fertilidad (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
PG7 (95)	35.8 ^a	32.6 ^a	1.19 \pm 0.40 ^a	38.9 ^a
PG10 (96)	33.3 ^a	31.3 ^a	1.30 \pm 0.47 ^a	40.6 ^a
PG12 (96)	50.0 ^b	49.0 ^b	1.32 \pm 0.47 ^a	64.6 ^b
PG14 (94)	61.7 ^b	59.6 ^b	1.29 \pm 0.49 ^a	76.6 ^b
PG16 (98)	61.2 ^b	59.2 ^b	1.26 \pm 0.44 ^a	74.5 ^b

^{a, b} igual columna: P<0.05

PG7, PG10, PG12, PG14, PG16: dos dosis de un análogo sintético de PG separadas 7, 10, 12, 14 ó 16 días respectivamente. Día 0: día de la IATF. NR_D21 (tasa de no retorno al estro desde el Día 12 al 21 pos IATF; ovejas que no retornan al estro/total de ovejas*100). Fertilidad (%): ovejas gestantes/total de ovejas*100. Prolificidad: fetos/oveja gestante. Fecundidad (%): fetos/total de ovejas*100 al Día 60.

Se observó una mayor tasa de NR_D21, fertilidad y fecundidad en los grupos PG12, PG14 y PG16, respecto a los grupos PG7 y PG10 (P<0.05), sin diferencia entre ellos. No se observaron diferencias significativas de prolificidad entre grupos comparados (P>0.05).

7. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo confirman la hipótesis planteada. Una mayor separación entre las dosis de PG generó un incremento en la respuesta ovárica y reproductiva a la IATF, en comparación con el protocolo Synchrovine®.

En primera instancia, si bien no se observaron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de ovejas que ovularon (bajas en todos los grupos) y/o a la TO en sí misma, el nivel ovulatorio final fue significativamente mayor en los grupos PG14 y PG16 respecto al grupo PG7 (Synchrovine®). Los resultados obtenidos en este ensayo se asemejan a los reportados por Dutra da Silveira y Soler (2013) bajo condiciones experimentales similares (raza, época, manejo; ver Cuadro 5), no evidenciando diferencias significativas en TO para los intervalos 10, 12, 14 y 16 días de separación entre dosis de PG, ni en comparación con ovejas en estro natural. Otros autores (Bindon y col., 1979; Houghton y col., 1995), concuerdan con que la administración de PG en fase luteal media no influiría en estos parámetros. Sin embargo, trabajos previos de nuestro grupo reportan una disminución de la TO (Fierro y col., 2011) y/o de la prolificidad resultante (Forichi y col., 2004; Olivera-Muzante y col., 2011b; Fierro y col., 2011) administrando la segunda dosis de PG en fase luteal temprana (protocolo Synchrovine®), cuando se lo compara con ovejas en estro natural. Para la explicación de este fenómeno algunos autores proponen que la luteólisis inducida en fase luteal temprana, con bajos niveles hormonales de P4 durante el crecimiento del FPO, estimularía un rápido crecimiento y un mayor tamaño de este (Fierro y col., 2011), en consecuencia un aumento de los niveles sanguíneos de E2 (Sirois y Fortune, 1990; Stock y Fortune, 1993; Viñoles y col., 2001; Inskeep, 2004), promoviendo un patrón de FSH alterado, una mayor supresión de los folículos subordinados (Viñoles y col., 1999, 2001), afectando en consecuencia el reclutamiento folicular múltiple, acelerando y/o generando fallas en la ovulación y/o en la formación de los CLs (Barret y col. 2002; Liu y col., 2006; Baby y Bartlewski, 2011). En contrapartida, algunos autores reportan un incremento en la TO cuando la PG es administrada en fase luteal media a tardía (respecto a fase luteal temprana), lo cual podría estar explicado por la posibilidad de que los FPOs pueden obtenerse de dos ondas foliculares consecutivas (penúltima y última del ciclo, Bartlewski y col., 1999; Gibbons y col., 1999), ó por el desarrollo de un FPO con menor dominancia, con menor vida media y fase de regresión, con menor capacidad de sintetizar esteroides, manteniéndose las concentraciones de FSH por encima del umbral para estimular la selección de múltiples folículos ovulatorios en una sola onda folicular (Viñoles y col., 1999; Seekallu y col., 2010; Letelier y col., 2011). Sin embargo, este fenómeno de diferente dominancia según onda folicular involucrada no pudo ser confirmado con nuestro diseño experimental. En definitiva y en acuerdo con Fierro y col. (2013), los efectos del uso de PG para inducir estros sobre la TO siguen siendo controvertidos. Finalmente, las diferencias observadas en la variable nivel

ovulatorio (CLs/total de ovejas) entre los grupos PG7, y los grupos PG14 y PG16, podrían estar asociadas a la sumatoria de un mayor porcentaje de ovejas que ovulan (NS) y/o de una mayor TO (NS) observada en la comparación de estos grupos.

En segundo lugar, la tasa de NR-D21, la fertilidad y fecundidad final fueron significativamente superiores en los grupos PG12, PG14 y PG16 respecto a los grupos PG7 y PG10. Es decir, que intervalos mayores entre las dosis de PG (semejantes a una fase luteal de duración más fisiológica), determinaron mejores resultados a la IATF vía cervical con semen fresco. Las diferencias en fertilidad entre grupos se evidenciaron ya al NR_D21, por tanto se produjeron previo ó al momento del reconocimiento materno de la gestación. A priori, y ante la ausencia de diferencias en el porcentaje de ovejas que no ovulan observado en este experimento, o en la dinámica folicular periovulatoria como la observada en el trabajo de Hourcade y Pechi (2014), aquellos intervalos que más ovejas acumulan y más concentran los estros pos segunda PG (PG10 y PG12 según Dutra da Silveira y Soler, 2013), parecerían ser los que mejor fertilidad obtendrían a la IATF vía cervical. Sin embargo, y a similitud de los resultados de IA sobre estro detectado observados por Dutra da Silveira y Soler (2013) (Cuadro 5), una mayor separación entre dosis de PG, mejoró significativamente la concepción de ese estro. La menor tasa reproductiva observada con los protocolos con un menor intervalo entre dosis de PG (PG7 y PG10 respectivamente), donde la segunda PG se da en fase luteal temprana plantea la hipótesis anterior en rumiantes: un ambiente uterino con crecientes pero aun bajas concentraciones previas de P4 durante el desarrollo del FPO conllevaría finalmente a una menor calidad ovocitaria, y en consecuencia a una menor sobrevivencia embrionaria y fertilidad final (Folman y col., 1973; Ashworth y col., 1989; Fierro y col., 2011; 2013), y viceversa. Esto es coincidente con la comparación realizada previamente entre 7 y 8 días de separación entre dosis de PG (Olivera-Muzante y col., 2011b), donde incluso un probable mayor intervalo entre el tratamiento y la ovulación (por ovulaciones provenientes de la primera y/o segunda onda folicular), podría disminuir aun más los resultados de IATF con el protocolo de 8 días. La mejora en la tasa de fertilización observada cuando el intervalo entre inyecciones de PG se incremento de 8 a 14 días (Fairnie y col., 1977), o de tasa de preñez cuando se adicionó una fuente de P4 externa 8 días antes de la inyección de PG (Loubser y van Niekerk, 1981), reafirman este planteo. Sin embargo, para confirmar esta hipótesis habría que medir los niveles plasmáticos de P4 en todos los grupos, cosa que nuestro diseño experimental no incluyó.

Finalmente, dado el menor porcentaje acumulado de ovejas en estro inducido pos segunda PG observado en el grupo PG16 (Dutra da Silveira y Soler, 2013), y la alta fertilidad a la IATF registrada en este grupo, es probable también que un porcentaje variable de ellas no responda a esta segunda PG y manifieste estro espontáneo (y no inducido) al momento de la IATF, con la consiguiente mejor concepción natural y

supervivencia embrionaria reportada para este tipo de estro (Fairnie, 1977; Durán del Campo y Cash Stirling, 1982; Fierro y col., 2011).

8. CONCLUSIONES

Se concluye que una mayor separación de las dosis de PG no generó una mejora en la TO, pero sí una mayor fertilidad y fecundidad final a la IATF (PG12, PG14 y PG16 vs. PG7 y PG10).

8.1 Consideraciones finales ó implicancias

Los protocolos con separaciones entre dosis de PG mayores o iguales a 12 días permitirían realizar IATF vía cervical con semen fresco con mejores resultados que opciones previas.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Acritopoulou-Fourcroy S, Haresign W, Foster JP, Lamming GE. (1977). Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injection of an analogue of prostaglandin F-2 α . *J Reprod Fertil* 49: 337-340.
2. Acritopoulou-Fourcroy S, Haresign W, Lamming GE. (1978). Time of ovulation in ewes after treatment with a prostaglandin F-2 α analogue. *J Reprod Fertil* 54: 189-191.
3. Acritopoulou S, Haresign W. (1980). Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF2 α given at different stages of oestrus cycle. *J Reprod Fertil* 58: 219-223.
4. Acritopoulou-Fourcroy S, Papas V, Peclaris G, Zervas N. (1982). Synchronization of oestrus in ewes with Provera sponges/PMSG, prostaglandin F2 α or the prostaglandin analogue, ICI80996, and fertility following natural mating or artificial insemination. *Reprod Nutr Dev* 22: 345-354.
5. Adams GP. (1999). Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil Suppl* 54: 17-32.
6. Ashworth CJ, Sales DI, Wilmut I. (1989). Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *J Reprod Fertil* 87(1): 23-32.
7. Baby TE, Bartlewski PM. (2011). Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reprod Fertil Dev* 23: 303-310.
8. Baird DT, Scaramuzzi RJ. (1975). Prostaglandin F2 α and luteal regression in the ewe: comparison with 16 aryloxyprostaglandin (I.C.I. 80, 996). *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 15: 161-174.
9. Baird DT. (1983). Factors regulating the growth of preovulatory follicle in the sheep and human. *J Reprod Fertil* 69: 343-352.
10. Barrett DMW, Bartlewski PM, Cook SJ, Rawlings NC. (2002). Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to PGF2a given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology* 58: 1409-1424.
11. Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC. (1998). Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J Reprod Fertil* 113(2): 275-285.

12. Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. (1999). An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52: 115-130.
13. Bartlewski PM, Duggavathi R, Aravindakshan J, Barrett DMW, Cook SJ, Rawlings NC. (2003). Effects of a 6-day treatment with medroxi-progesterone acetate after prostaglandin F₂α induced luteolysis at midcycle on antral follicular development and ovulation rate in no prolific Western White-Faced ewes. *Biol Reprod* 68(4): 1403-1412.
14. Binder D, Bowler J, Brown ED, Crossley NS, Hutton J, Senior M. (1974). 16-aryloxyprostaglandins: a new class of potent luteolytic agent. *Prostaglandins* 6: 87-90.
15. Bindon BM, Blanc MR, Pelletier J, Terqui M, Thimonier J. (1979). Perioovulatory gonadotropin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *J Reprod Fertil* 55: 15-25.
16. Bo G, Caccia M. (2002). Dinámica Folicular Ovárica en el ganado bovino. En: Ungerfeld R. *Reproducción en los Animales Domésticos*. Montevideo, Ed. Melibea v.1. p 57-67.
17. Bonifacino LA, Aragunde M. (1981). The synchronization of oestrus in sheep in artificial insemination programs: effect of dose, single or double injection regime, of three prostaglandin analogues on oestrus response and conception rate. Disponible en: <http://www.laboratoriouniversal.com/biblioteca/glandinex/THE%20SYNCHRONIZATI%20ON%20OF%20OESTRUS%20IN%20SHEEP.pdf>. Fecha de consulta: 13 de Noviembre de 2013.
18. Bonino J. (2004). Incremento de los procreos ovinos. XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Del 10 al 12 de junio. Paysandú. Uruguay. p 38-45.
19. Boland MP, Lemainque F, Gordon IR. (1978). Comparison of lambing outcome in ewes after synchronization of oestrus by progestagens or prostaglandin treatment. *J Agric Sci (Cambridge)* 91: 765-756.
20. Bottaro M. (2009). IATF en ovinos con semen refrigerado por 24 hs: comparación biológica y económica de protocolos de sincronización estral. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Paysandú, Uruguay. 45 p.
21. Campbell BK, Dobson H, Baird DT, Scaramuzzi RJ. (1999). Examination of the relative role of FSH and LH in the mechanism of ovulatory follicle selection in sheep. *J Reprod Fertil* 117: 355-367.

22. Cárdenas H, Wiley TM, Pope WP. (2004). Prostaglandin F2 α -induced estrus in ewes exhibiting estrous cycles of different duration. *Theriogenology* 62: 123-129.
23. Carlson JC, Barcikowski B, McCracken JA. (1973). Prostaglandin F2 α and the release of LH in sheep. *J Reprod Fertil* 34: 357-361.
24. MGAP. (2011) Censo General Agropecuario. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,149,O,S,0,MNU;E;41;1;MNU;ww>. Fecha de consulta: 26/09/13.
25. Cognié Y, Mariana JC, Thimonier J. (1970). Etude Du moment d'ovulation chez La brebis normale ou traitée par um progestagène associe ou non á une injection de PMSG. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 10: 15-24.
26. Colas G, Thimonier J, Courot M, Ortatavant R. (1973). Fertilité, prolifilité et fécondité pendant La saison sexuelle dès brebis inséminées artificiellement après traitement a l'acétate de fluorogestone. *Ann Zootech* 22: 441-451.
27. Colas G, BriceG, Guerin Y. (1974). Acquisitions récentes em matière d'insémination artificielle ovine. *Bull Tech Inf Minist Agric* 294: 795-800.
28. Contreras-Solis I, Vasquez B, Diaz T, Letelier C, Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A. (2009). Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and "male effect". *Theriogenology* 71: 1018-1025.
29. Coy Fuster P. (1995). Reproducción en ovejas y cabras. En: Garcia Sacristan A, Castejón Montijano F, de la Cruz Palomino LF, González Gallego J, Murillo López de Silanes MD, Salido Ruiz G. *Fisiología Veterinaria*. Madrid. Mc Graw. p. 937-950.
30. Cunningham JG, Klein BG. (2009). *Fisiología veterinaria*. 4a ed. Barcelona Elsevier. 700 p.
31. Davis AJ, Fleet IR, Harrison FA, Walker FMM. (1980). Pulmonary Metabolism of prostaglandin F2 α in the conscious non pregnant ewe and sow. *J Physiol (London)* 301: 86.
32. Davies KL, Barlewski PM, Epp T, Duggavathi R, Barrett DMW, Bagu ET, Cook SJ, Rawlings NC. (2006). Does injection of prostaglandin F2 α (PGF2 α) cause ovulation in anestrous Western White Face ewes? *Theriogenology* 66: 251-259.
33. 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.

34. DICOSE-MGAP (2013). Datos de la declaración jurada de DICOSE 2013 - datos generales. Disponible en: www.mgap.gub.uy/DGSG/DICOSE/dicose.htm. Fecha de consulta: 21 de mayo de 2014.
35. Driancourt MA. (2001). Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55: 1211-1239.
36. Drion PV, De Roover R, Houtain JY, McNamara EM, Remy B, Sulon J, Beckers JF. (2001a). Increase of plasma eCG binding rate after administration of repeated high dose of eCG to cows. *Reprod Nutr Dev* 41(3): 207-215.
37. Drion PV, Furtoss V, Baril G, Manfredi E, Bouvier F, Pougard JL, Bernelas D, Caugnon P, McNamara EM, Remy B, Sulon J, Beckers JF, Bodin L, Lebceuf B. (2001b). Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of the eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reprod Nutr Dev* 41: 401-412.
38. Dukes M, Russell W, Walpole AL. (1974). Potent luteolytic agents related to prostaglandin F₂α. *Nature* 250: 330-331.
39. Durán del Campo A. (1980). Anatomía, Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial en Ovinos. Montevideo. Ed. Hemisferio Sur. 264 p.
40. Durán del Campo A, Cash Stirling RC. (1982). Sincronización de celos en ovinos mediante uso de prostaglandina. Resúmenes del III Congreso Nacional de Veterinaria. Montevideo Noviembre. p. 345-53.
41. Durán del Campo A. (1993). Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos. Montevideo. Ed. Hemisferio sur. 199 p.
42. Dutra da Silveira R, Soler D. (2013). Respuesta estral y reproductiva en ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina F₂α administrada a diferentes intervalos de tiempo. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Paysandú, Uruguay. 35 p.
43. Eppleston J, Maxwell WMC. (1993). Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into de cervix. *Wool Technol Sheep Breed* 41: 291-302.
44. Evans G, Maxwell WMC. (1987). Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Sydney, Ed. Butterworths. 194 p.
45. Evans ACO, Duffi P, Hynes N, Boland MP. (2000). Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 53: 699-715.

46. Fairnie IJ, Wales RG, Gherardi PB. (1977). Time of ovulation, fertilization rate, and blastocyst formation in ewes following treatment with a prostaglandin analogue (ICI 80996) *Theriogenology* 8: 183. (Abstract)
47. Fernández Abella DH. (1987). Temas de reproducción ovina. Montevideo. División de Publicaciones y Ediciones de la Universidad de la República. 258 p.
48. Fernández Abella D. (1993). Principios de Fisiología Reproductiva Ovina. Montevideo. Hemisferio Sur-Universidad de la República. División publicaciones y Ediciones. 247 p.
49. Fernández Abella DH. (1995). Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Montevideo. División de publicaciones y ediciones de la Universidad de la República. 206 p.
50. Fierro S, Olivera J, Gil J. (2007). Inseminación artificial a tiempo fijo con semen fresco y refrigerado en ovinos con el protocolo Synchronine®. XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. 7 al 9 de junio, P 334-335.
51. Fierro S. (2010). Perdidas reproductivas en ovejas sincronizadas con prostaglandina. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria, UDELAR. 45 p.
52. Fierro S, Olivera J, Gil J, Viñoles C. (2011). Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology* 76: 630–639.
53. Fierro S, Gil J, Viñoles C, Olivera-Muzante J. (2013). The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: a review. *Theriogenology* 79: 399-408.
54. Fierro S, Gil J, Viñoles C, Soca F, Bancharo G, Olivera-Muzante J. (2014). Protein supplementation during a short-interval prostaglandin-based protocol for timed AI in sheep. *Anim Reprod Sci*. En prensa.
55. Folman Y, Rosenber M, Herz Z, Davidson M. (1973). The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *J Reprod Fertil* 34: 267–278.
56. Forichi S, Olivera J, Correa M, Gil J, Menchaca A, Rubianes E. (2004). Reproductive response to two different oestrus synchronization protocols using PGF2 α in sheep. *Reprod Fertil Dev* 16: 506.
57. Fossati F, Martincorena M, Regusci R. (2008). IATF en ovinos con semen fresco: comparación biológica y económica de protocolos de sincronización estral. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Paysandú, Uruguay. 55 p.

58. Gibbons JR, Kot K, Thomas DL, Wiltbank MC, Ginther OJ. (1999). Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology* 52: 1005-1020.
59. Gil J. (2002). Inseminación artificial en ovinos. En: Ungerfeld R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea. V. 2, 319-338.
60. Gil J, Olivera J. (2005). Preservación (refrigeración y congelación) de semen ovino y su uso en inseminación artificial cervical. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. p. 65-67.
61. Gil J, Olivera J, Fierro S, Duran G, Gamarra J, Teixeira V, Araujo A, Stoletniy G. (2006). II inseminación intrauterina con semen congelado en majadas merino fino: comparación de protocolos de sincronización estral. Proyecto merino fino del Uruguay- fase I. Séptima entrega de carneros del núcleo fundacional U.E. "Glencoe" 2006. Disponible en: www.inia.org.uy/estaciones/tacuarembu/MerinoWeb/Publicaciones%20pdf/Remate%20entrega%20diadel/SAD475.pdf. Fecha de consulta: 19 de Mayo de 2013.
62. Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC. (1995). Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43(3): 689-703.
63. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod* 55(6): 1187-1194.
64. Ginther OJ. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci* 60: 61-79.
65. Gonzalez-Bulnes A, Santiago-Moreno J, García-García RM, Del Campo A, Gómez-Brunet A, López-Sebastian A. (2001). Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrus cycle. *Anim Reprod Sci* 65: 265-272.
66. Gonzalez-Bulnes A, Souza CJH, Campbell BK, Baird DT. (2004). Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Anim Reprod Sci* 84: 107-119.
67. Gordon I. (1999). Fixed-time sheep artificial insemination. En: Gordon I. (Ed) *Control Reproduction in sheeps and goats*. Wallingford, CAB Press. p 86-109.
68. Hackett AJ, Langford GA, Robertson HA. (1981). Fertility of ewes after synchronization of estrus with a prostaglandin F2a and artificial insemination. *Theriogenology* 15(6): 599-603.

69. Hafez ESE; Hafez B. (2002). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª ed. South Carolina. Mc Graw-Hill Interamericana. 519 p.
70. Haresign W, Acritopoulou SA. (1978). Controlled breeding in sheep using the prostaglandin analogue, ICI 80996. *Livest Prod Sci* 5: 313-319.
71. Hawk HW, Conley HH. (1975). Involvement of the cervix in sperm transport failures in the reproductive tract of the ewe. *Biol Reprod* 13: 322-328.
72. Hawk HW, Cooper BS. (1977). Sperm transport into the cervix of the ewe after regulation of estrus with prostaglandin or progestogen. *J Anim Sci* 44: 638-644.
73. Hearnshaw H, Restall BJ, Nancarrow CD, Mattner PE. (1974). Synchronization of oestrus in cattle, sheep and goats using a prostaglandin analogue. *Aust Soc Anim Prod* 10: 242-245.
74. Houghton JAS, Liberati N, Schrick FN, Townsend EC, Dailey RA, Inskeep EK. (1995). Day of oestrus cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *J Anim Sci* 73: 2094-2101.
75. Hourcade G, Pechi C. (2014). Desarrollo folicular y momento de ovulación en ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina administrado a diferentes intervalos. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria Paysandú, Uruguay. 54 p.
76. Hopkins SM, Evans LE. (1991). Inseminación Artificial. En: McDonald LE. *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. 4ª ed. México. Ed Interamericana. p. 354-378.
77. Hughes F, Lucas JMS, Notman AB. (1976). The synchronization of oestrus and subsequent fertility in ewes following treatment with a synthetic prostaglandin analogue (ONO 453). *Prostaglandins* 11: 1033-1039.
78. Inskeep EK. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *J. Anim. Sci.* 82 (13 suppl): E24-39.
79. Letelier CA, Contreras-Solis I, García-Fernández RA, Sánchez MA, García-Palencia P, Sánchez B. (2011). Effects of oestrus induction with progestagens or prostaglandin analogues on ovarian and pituitary function in sheep. *Anim Reprod Sci* 126: 61-69.
80. Light JE, Silvia WJ, Reid RC. (1994). Luteolytic effect of prostaglandin F2 alpha and two metabolites in ewes. *J Anim Sci* 72(10): 2718-21.

81. Liu X, Dal Q, Hart EJ, Duggavathi R, Barrett DM, Rawlings NC, Bartlewski PM. (2006). Ovarian and endocrine responses to prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) given at the expected time of the endogenous FSH peak at mid-cycle in ewes. *Theriogenology* 66(4): 811-821.
82. Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A, Santiago-Moreno J, Gomez-Brunet A, Townsend EC, Inskeep EK. (1997). Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes. *Anim Reprod Sci* 48: 279-291.
83. Loubser PG, van Nieker CH. (1981). Oestrus synchronization in sheep with progesterone-impregnated (MAP) intravaginal sponges and a prostaglandin analogue. *Theriogenology* 15(6): 547-552.
84. Martin GB, Milton J, Davidson R, Banchemo G, Hunzicker G, Lindsay D, Blache D. (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Anim Reprod Sci* 82-83: 231-246.
85. Maurel MC, Roy F, Hervé V, Bertin J, Vaiman D, Cribiu E, Manfredi E, Bouvier F, Lantier I, Bouep P, Guillou F. (2003). Immune response to equine Chorionic Gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes. *Gynecol Obstet Fertil* 31(9): 766-769.
86. Maxwell WMC. (1986). Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Anim Reprod Sci* 10(4): 301-308.
87. McCracken J, Glew ME, Scaramuzzi RJ. (1970). Corpus luteum regression induced by prostaglandin F₂ α . *J Clin Endocrinol Metab* 30(4): 544-546.
88. McNatty KP, Gibb M, Dobson C, Thurley DC. (1981). Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. *J Endocrinol* 90: 375-389.
89. McNeilly A.S, Picton HM, Campbell BK, Baird DT. (1991). Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J Reprod Fertil Suppl* 43: 177-186.
90. Meikle A, Sahlin L, Ferraris A, Masironi B, Blanc JE, Rodríguez-Irazoqui, M, Rodríguez-Piñon M, Kindahl H, Forsberg M. (2001). Endometrial mRNA expression of oestrogen receptor α , progesterone receptor and insulin-like growth factor-I (IGF-I) throughout the bovine oestrous cycle. *Anim Reprod Sci* 68(1): 45-56.
91. Menchaca A, Miller V, Gil J, Pinczak A, Laca M, Rubianes E. (2004). Prostaglandin F₂ α treatments associated with Timed Artificial Insemination in ewes. *Reprod Dom Anim* 39(5): 352-355.

92. Menchaca A, Rubianes E. (2004). New treatment associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fert Dev* 16 (4): 403-413.
93. Menchaca A, Rubianes E. (2012). Avances en el control ovárico en la oveja. Reunión Bianual sobre Reproducción Animal. Temascaltepec de Gonzáles, México, del 4 al 5 de octubre. p. 76-83.
94. Moller-Holtkamp P. (1980). Conceptual e lliren dos nuevas hormonas para combatir los trastornos de la reproducción en los animales. IV Jornadas Latinoamericanas y VIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. Sección Comunicaciones cortas: p. 5-16.
95. Montossi F. (2010). Entrevista Ing. Agr. Fabio Montossi. Disponible en: www.fucrea.org/información/index.php?Typeld=19&ClassId=101&Id=772. Fecha de consulta: 29 de setiembre de 2013.
96. Montossi F, De Barbieri I, Ciappesoni G, Soares de Lima J, Luzardo S, Brito G, Viñoles C, San Julián R, Silveira C, y Mederos A. (2011). Merino superfino y Merino Dohne: innovaciones tecnológicas para mejorar la competitividad del rubro ovino en sistemas ganaderos extensivos mixtos del Uruguay. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría: p. 164-175.
97. Olivera J, Gil J. (2005). Estudio de diferentes alternativas para la sincronización de celos en ovinos: descripción y valorización económica. XXXIII Jornadas de Buiatría, 9 al 11 de junio, Paysandú, Uruguay. p. 195-196.
98. Olivera J, Gil J, Fierro S, Gamarra J, Texeira V. Araujo A, Stoletniy G. (2006). Sincronización de celos para la IA a tiempo fijo vía cervical en majadas del Proyecto Merino Fino: comparación de protocolos. Proyecto Merino fino del Uruguay- fase I. 7a entrega de carneros del núcleo fundacional U.E "Glencoe" 2006. Disponible en: www.inia.org.uy/estaciones/tacuarembó/MerinoWeb/Publicaciones%20pdf/Remate%20entrega%20diadel/SAD475.pdf. Fecha de consulta: 10 de abril de 2014.
99. 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.
100. 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.
101. Olivera-Muzante J, Gil J, Viñoles C, Fierro S. (2013). Reproductive outcome with GnRH inclusion at 24 or 36 h following a prostaglandin F2a-based protocol for times AI in ewes. *Anim Reprod Sci* 138: 175-179.

102. Parr RA. (1992). Nutrition-progesterone interaction during early pregnancy in sheep. *Reprod Fertil Dev* 4(3): 297-300.
103. Pineda MH. (1991). Patrones reproductivos de ovejas y cabras. En: McDonald LE. *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. 4ª ed. México. Ed Interamericana. p. 416-435.
104. Presidencia de la República. Uruguay accedió al mercado de carne ovina sin hueso de Estados Unidos. (2013). Disponible en <http://www.presidencia.gub.uy/comunicacion/comunicacionnoticias/carne-ovina-estados-unidos> . Fecha de consulta: 20 de enero de 2014.
105. Ravindra JP, Rawlings NC. (1997). Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anestrous to the breeding season. *J Reprod Fertil* 110: 279-289.
106. Revah I, Butler WR. (1996). Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J Reprod Fertil* 106(1): 39-47.
107. Roy F, Combes B, Vaiman D, Cribiu EP, Pobel T, Delétang F, Combarous Y, Guillou F, Maurel MC. (1999). Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. *Biol Reprod* 61: 209-218.
108. 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. *Can J Anim Sci* 76(3): 473-475.
109. Rubianes E, Ungerfeld R, Viñoles C, Rivero A, Adams GP. (1997). Ovarian response to gonadotropin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. *Theriogenology* 47: 1479-1488.
110. Rubianes E. (2000). Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Actas de Fisiología* 6: 93-103.
111. Rubianes E, Ungerfeld R. (2002). Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina en América Latina en el marco de las actuales tendencias productivas. *Arch Latinoam Prod Anim* 10(2): 117-125.
112. Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. (2003). Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 α . *Anim Reprod Sci* 78: 47-55.
113. Rubianes E, Menchaca A, Gil J, Olivera J. (2004). Reproductive performance of a New Timed Artificial Insemination protocol (Synchrovine™) in sheep. *Reprod Fertil Dev* 16(4): 508.

114. Rubianes E, Beard A, Dierschke DJ, Bartlewski P, Adams GP, Rawlings NC. (1997). Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF2a and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology* 48: 1093–1104.
115. Russel AJF, Doney JM, Gunn RG. (1969). Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci (Cambridge)* 72: 451-454.
116. Salgado C. (2011). La competitividad de la producción ovina. Secretariado Uruguayo de la Lana. Disponible en: http://www.sul.org.uy/Plan_estrategico/Presentación%20Artigas%2020-7-2011%20Carlos%20Salgado.pdf. Fecha de consulta: 20/09/13.
117. Scaramuzzi RJ, Adams NR, Baird DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GB, McNatty KP, McNeilly AS, Tsonis CG. (1993). A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod Fertil Dev* 5: 459-478.
118. Schiewe MC, Howard JG, Goodrowe KL, Stuart LD, Wildt DE. (1990). Human Menopausal Gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo recovery after prostaglandin F2a synchronization is compromised by premature luteal regression. *Theriogenology* 34: 469-486.
119. Seekallu SV, Tossi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, Rawlings NC. (2010). Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology* 73: 670-680.
120. Senger PL. (2005). Pathways to pregnancy and parturition. 2^a ed. Washington. Current conceptions 373 p.
121. Sirois J, Fortune JE. (1990). Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 127: 916-925.
122. Sosa C, Abecia JA, Forcada F, Meikle A. (2008). Undernutrition reduces the oviductal mRNA expression of progesterone and oestrogen receptors in sheep. *Vet J* 175: 413-415.
123. Souza CJ, Campbell BK, Baird DT. (1996). Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. *J Reprod Fertil* 108(1): 101-106.
124. Souza CJ, Campbell BK, Baird DT. (1997). Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biol Reprod* 56: 483-488.

125. Stacy BD, Gemmel RRT, Thorburn GD. (1976). Morphology of the corpus luteum in the sheep during regression induced by prostaglandinF2a. *Biol Reprod* 14: 280-291.
126. Stock AE, Fortune JE. (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 132(3): 1108-1114.
127. Thimonier J. (1979). Hormonal control of oestrous cycle in the ewe (a review). *Livest Prod Sci* 6: 39-50.
128. Ungerfeld R, Rubianes E. (1999). Effectiveness of short-term progestagen primings of the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anestrus. *Anim Sci* 68: 349-353.
129. Ungerfeld R. (2002). *Reproducción en Animales Domésticos*. Montevideo, Ed. Melibea, Vol I, 291 p.
130. Ungerfeld R, Menchaca A, de Castro T, Rubianes E. (2002). Tratamientos hormonales para la inducción y sincronización de celos en ovejas y cabras. En: Ungerfeld (2002). *Reproducción en los animales domésticos*. Montevideo, Ed. Melibea, V 2, p. 483-493.
131. 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.
132. Viñoles C, Rubianes E. (1998). Origin of the preovulatory follicle after induced luteolysis during the early luteal phase in ewes. *Canadian J Anim Sci* 78: 429-431.
133. Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. (1999). The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351-1361.
134. Viñoles C, Forsberg M, Banchemo G, Rubianes E. (2001). Effects of long-term and short-term progestagen treatments on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55(4): 993-1004.
135. Viñoles C, Forsberg M, Banchemo G, Rubianes E. (2002). Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Anim Sci* 74: 539-545.

136. Viñoles C, González de Bulnes A, Martin GB, Sales F, Sale S. (2010). Sheep and Goats. En: Colloton J; Gnemi G. Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography. Iowa. Ed. Luc DesCoteaux. p. 181-210.
137. Viñoles C, Paganoni B, Milton JTB, Driacourt MA, Martin GB. (2011). Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronisation with prostaglandin, sponges or sponges whit bactericide. Anim Prod Sci 51(6): 565-569.
138. Viñoles C. (2011a). Avances en la sincronización de celo y ovulación en la oveja. Spermova 1(1): 95-97.
139. Viñoles C. (2011b). Regulación de la foliculogénesis y de la tasa ovulatoria en la oveja. Spermova 1(1): 92-94.
140. White LM, Keisler DH, Dailey RA, Inskip EK. (1987). Characterization of ovine follicles destined to form subfunctional corpora lutea. J Anim Sci 65: 1595-1601.