

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**USO DE ESPONJAS INTRAVAGINALES CON MEDROXIPROGESTERONA
Y ATRACTIVIDAD SEXUAL EN LA OVEJA**

por

Cecilia Elena OLIVERA LIUZZI



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

2011

TUTOR:

Dr. Rodolfo Ungerfeld

COTUTOR:

Dr. Marcelo Gatti

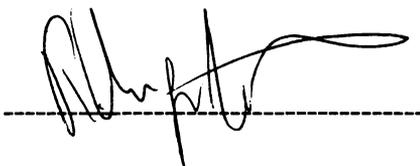
TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de mesa:



Dr. Gonzalo Suárez

Segundo Miembro (Tutor):



Dr. Rodolfo Ungerfeld

Tercer Miembro:



Dr. Alejo Menchaca

Cuarto Miembro (Cotutor):



Dr. Marcelo Gatti

Fecha:

12/12/11

Autor:



Br. Cecilia Elena Olivera Liuzzi

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermanos, abuelas y padrinos, por haberme dado la posibilidad de realizar esta carrera y acompañarme a lo largo de este camino.

A Tito, Leo, Victoria, Sylvia, Irene, Karina y Gustavo, por darme animo constantemente y tenerme mucha paciencia.

A Laura Morena, Matías Villagrán, A. Inés Echegoyen, María Cristech, Lorena Lacuesta y compañeros de fisiología por la ayuda en la redacción y sintaxis.

A mis tutores Rodolfo Ungerfeld y Marcelo Gatti, por guiarme, enseñarme y acompañarme en este trabajo.

A todas las funcionarias de Biblioteca por la colaboración en la búsqueda bibliográfica, la buena disposición de siempre y en especial a Rosina por su paciencia.

Al personal del Campo Experimental de Miguez, por la ayuda en los ensayos.

A Fundaciba y Santa Elena S.A, por la financiación de la tesis.

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
TABLA DE CONTENIDO.....	4
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS.....	6
<u>RESUMEN</u>	7
<u>SUMMARY</u>	8
<u>INTRODUCCIÓN</u>	
1.1. Antecedentes y situación actual.....	9
1.2. Uso de tecnologías de la reproducción.....	9
1.3. Fisiología reproductiva de la oveja.....	10
1.3.1. Ciclo estral.....	10
1.3.2. Estacionalidad reproductiva del ovino.....	10
1.4. Sincronización del estro.....	11
1.4.1. Prostaglandina F2 α	12
1.4.2. Progesterona y su mecanismo de acción.....	14
1.4.2.1. Esponjas.....	15
1.4.2.2. Problemas asociados al uso de esponjas.....	16
1.4.2.3. Combinación de progestágenos con otros tratamientos.....	17
1.4.2.4. Fertilidad siguiente a la sincronización con progestágenos.....	18
1.5. Comportamiento sexual, social y atractividad.....	19
<u>HIPÓTESIS</u>	23
<u>OBJETIVOS</u>	24

<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	25
<u>RESULTADOS</u>	28
<u>DISCUSIÓN</u>	30
<u>CONCLUSIONES</u>	33
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	34

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1: Modo de utilización de esponjas en ovejas.....

Tabla 1: Posiciones por atractividad asignadas por el test de Tilbrook, según la selección de los carneros en cada test, donde se compararon ovejas en estro espontáneo vs ovejas en estro pretratadas con esponjas.....25

Tabla 2: Posiciones por atractividad asignadas por el test de Tilbrook, según la selección de los carneros en cada test, donde se comparó ovejas en estro pretratadas con esponjas vs ovejas en estro pretratadas con esponjas conteniendo antibiótico.....26

De
2

RESUMEN

Se ha reportado que el uso de esponjas intravaginales en ovejas para sincronizar celos, genera una respuesta inflamatoria que aumenta la secreción de la mucosa local, con el concomitante aumento de la flora bacteriana. A su vez la disminución de la flora vaginal por el uso de antibióticos, afectó la atractividad sexual de las hembras en estro. En nuestro experimento el primer objetivo fue determinar si el uso de esponjas intravaginales afecta la atractividad sexual de las ovejas. El segundo objetivo fue determinar si la disminución de la atractividad sexual de las ovejas se revierte con la inclusión de antibiótico en las esponjas intravaginales. Se realizaron 2 experimentos en un total de 144 ovejas multíparas de la raza Corriedale, Milchschaf y sus cruza: con celo espontáneo, sincronizadas con esponjas con MAP, y con esponjas con MAP y 20 mg de oxitetraciclina en cada una. La atractividad se midió mediante el test de Tilbrook. En el primer experimento se comparó la atractividad de ovejas con celo espontáneo vs celo sincronizado con esponja; y en el segundo experimento celo sincronizado con esponja vs celo sincronizado con esponjas conteniendo antibiótico. Se realizaron 12 tests en cada experimento, con 6 hembras cada uno (3 de cada grupo). Previamente a la introducción de las esponjas y luego de su retiro se tomaron muestras por contacto directo del mucus vaginal con hisopo estéril, para luego de ser procesadas realizar la siembra, incubación y posterior recuento bacteriano. Se observó que las ovejas con celo espontáneo fueron significativamente más atractivas que las ovejas tratadas con esponjas (posición en el ranqueo: $2,86 \pm 1,62$ vs $4,13 \pm 1,58$, $P=0,002$). La cantidad de UFC fue significativamente mayor en las ovejas en que se usaron esponjas que en las que no se usaron ($150,6 \pm 211,5 \times 10^3$ vs $9,2 \pm 19,3 \times 10^3$ UFC/ml, $P= 0,03$). Y también fue mayor en ovejas tratadas con esponja que las que usaron esta última más el antibiótico ($150,6 \pm 211,5 \times 10^3$ vs $16,8 \pm 24,3 \times 10^3$ UFC/ml, $P= 0,001$). Se concluyó que las ovejas con celos espontáneos fueron más atractivas que las ovejas con celo sincronizado con esponjas, y que el tratamiento con antibiótico local no revirtió la disminución de la atractividad sexual de las ovejas.

SUMMARY

It was reported that the use of intravaginal sponges in ewes to synchronize estrous, generates an inflammatory response that increases the local mucous secretion, with the concomitant increase in bacterial flora. At the same time, the decrease of the vaginal flora for the use of antibiotic, affects the sexual attractiveness of estrous ewes. Our first aim was to determine if the use of intravaginal sponges affected sexual attractiveness of ewes. Our second aim was to determine if the sexual attractiveness was reverted by intravaginal sponges with antibiotic use. Two experiments were realized: Multiparous ewes (Corriedale, Milchschaf and their crossbreeds; n= 144) were used: with spontaneous estrous, synchronized with sponges with MAP, and with sponges with MAP and 20 mg of oxytetracycline in each one. Attractiveness was tested with Tilbrook test. In the first experiment ewes sexual attractiveness with spontaneous estrous vs synchronized estrous with sponges were compared; in the second one, synchronized estrous with sponges vs synchronized estrous with sponges with antibiotic. 12 tests were carried out in each experiment (6 females each (3 from each group)). Prior to the introduction of the sponges and after their withdrawal, samples were taken by direct contact from vaginal mucus with sterile hyssop, to make the sowing, incubation and subsequent count in order to process data. It was observed that ewes treated with sponges (ranking position: 2.86 ± 1.62 vs 4.13 ± 1.58 , $P=0.002$). The amount of UFC was significantly higher in ewes where the sponges were used than those in which sponges were not used ($150.6 \pm 211.5 \times 10^3$ vs $9.2 \pm 19.3 \times 10^3$ UFC/ml, $P=0.03$). They were also higher in ewes treated with sponges than those in which sponge and antibiotic were used ($150.6 \pm 211.5 \times 10^3$ vs $16.8 \pm 24.3 \times 10^3$ UFC/ml, $P= 0,001$). It was concluded that the ewes with spontaneous estrus were more attractive than ewes with estrus synchronized with sponges, and that the treatment with local antibiotic did not revert the ewes sexual attractiveness decrease.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes y situación actual

Uruguay cuenta con una superficie agropecuaria total de 15,7 millones de hectáreas, y posee 11.749.000 cabezas de ganado bovino y 8.656.000 de ovinos (MGAP, 2010). La superficie agropecuaria ganadera de nuestro país es de 13,2 millones de hectáreas, existiendo 50.576 establecimientos que tienen bovinos y/u ovinos (MGAP, 2009). El stock ovino, con predominio de la raza Corriedale en un 70% de la majada nacional (Pereira, 2003), produce 34 mil toneladas de lana y 123 mil toneladas de carne (Tambler, 2009). El mismo descendió de 26 millones de cabezas en 1991 (Azzarini, 2000) a 8 millones en la actualidad (MGAP, 2010). Frente a un panorama de precios inferiores para la lana, mejores precios para la carne, y altos niveles de faena, las existencias ovinas podrían seguir disminuyendo (Tambler, 2008). Una buena propuesta es la producción del cordero pesado (generada por el Ing. Agr. Mario Azzarini), que apunta a producir grandes volúmenes de carne de cordero (Bonino, 2003). La tendencia a la baja en las poblaciones ovinas condujo a un desequilibrio en la producción, afectando la eficiencia reproductiva, por lo que mejorar la reproducción otorgará beneficios económicos al rubro (Zorrilla y Ferreira, 2005).

El rubro ovino es fuente de empleo para más de 50 mil personas vinculadas directa o indirectamente al mismo (García Pintos, 2009), siendo una excelente opción productiva y económica para pequeños y medianos productores, convirtiéndose en una alternativa real para el desarrollo social (Montossi, 2010).

1.2 Uso de tecnologías de la reproducción

En la actualidad existen herramientas de manejo que contribuyen al mejoramiento de la eficiencia reproductiva y productiva, como la encarnera tardía y la esquila preparto (Bonino, 2003). Además las tecnologías como la sincronización del estro permiten concentrar servicios y partos, con menos días de trabajo reales, menos pérdidas sanitario-productivas por menor manejo en bretes y un más adecuado manejo nutricional (Fierro et al., 2010).

Cabe destacar la incorporación de genotipos de alta prolificidad y de razas especializadas en la producción de carne, lana fina, superfina y doble propósito (Montossi et al., 2005), con el objetivo de desarrollar sistemas especializados e intensivos de producción (Montossi, 2010).

1.3 Fisiología reproductiva de la oveja

1.3.1 Ciclo estral

El ciclo estral es un conjunto de eventos que se repiten sucesivamente con una duración de 17 días promedio, y dividido en una fase luteal, comprendida desde el día 2 (estro=0) hasta el día 13 del ciclo, y una fase folicular, desde el día 14 hasta el día 1 (Rubianes et al., 1999). La duración del estro varía principalmente con la raza, edad, estado nutricional, presencia o no de machos y época del año, oscilando entre 20 y 48 h (Ungerfeld, 2002).

La ovulación es espontánea, y tiene lugar hacia el final del estro. Diversos factores influyen sobre la tasa de ovulación como la raza, edad, estado reproductivo, época del año y estado nutricional de la oveja (Evans y Maxwell, 1990).

La reproducción en el ovino es regulada por un sistema neuroendócrino, integrado por el sistema nervioso central, la hipófisis y las gónadas (Forsberg, 2002). La comunicación entre los distintos componentes del sistema reproductivo es realizada a través de hormonas, dentro de las cuales las principales involucradas son: hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH), hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH), prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}), estradiol, inhibina y progesterona (Ungerfeld, 2002).

1.3.2 Estacionalidad reproductiva del ovino

La estacionalidad que presentan los ovinos está influenciada por las horas luz en las distintas estaciones del año (Forsberg, 2002). Esto determina que presenten a lo largo del año dos períodos diferentes: una estación reproductiva, que comienza durante la época del año en que las horas de luz

disminuyen, donde las hembras manifiestan ciclos estrales; y el período 'que resta del año en que no se producen ciclos estrales conocido como anestro estacional (Chemineau, 2009).

La información lumínica es procesada por la glándula pineal (o epífisis, situada en el techo del diencefalo, en la denominada fosa pineal), que se encarga de transformar la información en una señal endócrina y producir la melatonina, hormona mediadora que regula la actividad hipotálamo-hipófiso-gonadal (Forsberg, 2002).

La estación reproductiva comienza en la mayoría de las razas a fines del verano (Goodman, 1994). Esto determinara que el período de parición de las ovejas se concentre en la primavera (Forsberg, 1992 citado por Ungerfeld, 2001). Esta estación es una de las más propicias del año debido a la disponibilidad de alimento y al gradual aumento de temperatura, lo que favorecería la supervivencia de los corderos (Forsberg, 2002).

En el 80% de los predios criadores de nuestro país la encarnerada se concentra en el trimestre comprendido entre febrero y abril, siendo ésta única en el año y con una duración que oscila entre dos a tres meses aproximadamente (MGAP, 2001-2002).

1.4 Sincronización del estro

La sincronización del estro implica la presentación simultánea del comportamiento estral en un grupo de hembras, las cuales serán tratadas para este fin con métodos naturales o artificiales (Durán, 1993). Una técnica de sincronización del estro será efectiva cuando provoque una respuesta estral fértil y altamente sincronizada en un alto porcentaje de hembras tratadas (Rubianes et al., 1999; Menchaca et al., 2003). La sincronización del estro permite concentrar las estaciones de cría y de parto para aprovechar las variaciones estacionales en disponibilidad del forraje, demanda de corderos o mano de obra (Navarro y Torres, 1984; Godfrey et al., 1997). Esta técnica es aplicable para facilitar trabajos de inseminación artificial o servicio natural,

permitiendo entre otras ventajas, un mejor uso de los carneros, o sincronizar dadoras y receptoras para la transferencia de embriones (Devincenzi, 2005).

La sincronización del estro no va a mejorar ningún índice reproductivo por sí sola, sino que su aplicación será beneficiosa cuando otros puntos importantes, como sanidad, recursos nutricionales, estado corporal y manejo previo de la majada, sean los adecuados (Fierro et al., 2010).

Dentro de los métodos naturales se utiliza el llamado “efecto macho”. En el participan las feromonas (señales químicas) presentes en la orina, lana y suarda de los machos (Knight y Lynch 1980). Estas señales químicas inducen el celo y ovulación en hembras que no están ciclando que previamente hayan permanecido separadas de los machos (Ungerfeld, 2002).

Los métodos artificiales o farmacológicos se llevan a cabo mediante análogos sintéticos de hormonas (Durán, 1993). Las hormonas más utilizadas pueden ser clasificadas de acuerdo a su acción, donde se encuentran la prostaglandina, como promotora de la lisis del cuerpo lúteo, y aquellas hormonas que simulan la acción del cuerpo lúteo, como la progesterona (Durán, 1993). Cabe destacar que, como la efectividad de la prostaglandina depende de la existencia de un cuerpo lúteo, solo puede utilizarse en aquellos animales que estén en plena estación sexual, a diferencia de los métodos con progestágenos que pueden utilizarse en cualquier época del año (Evans y Maxwell, 1990).

1.4.1 Prostaglandina F2 α

Uno de los métodos hormonales más utilizados para sincronizar estro en ovejas es la administración de prostaglandina F2 α o sus análogos sintéticos (Raso, 2004). Se administran por vía intramuscular, pero también se los ha utilizado por otras vías (intradermo vulvar, en dosis más bajas con resultados variables) (Menchaca et al., 2003). La acción de dicha hormona será efectiva desde el día 3 al 14 del ciclo estral (Acritopoulou y Haresign, 1980; Rubianes et

al., 1999), ya que en los primeros días del ciclo la prostaglandina es inefectiva debido a que el cuerpo lúteo está en proceso de formación.

Como resultado de la lisis del cuerpo lúteo se produce una disminución de la secreción natural de progesterona y se anula así el efecto inhibitor de ésta sobre la hipófisis. Ésto lleva a que se produzca la liberación de gonadotropina que estimula el crecimiento folicular de forma sincronizada, con lo cual la mayoría de las ovejas entran en estro en un mismo tiempo (Evans y Maxwell, 1990; Raso, 2004). Aproximadamente el 60-70% de las hembras tratadas responden con estro dentro de los siguientes 3 ó 4 días de su administración (Rubianes et al., 1999; Godfrey, 1999; Menchaca et al., 2003). El intervalo de tiempo entre la administración de prostaglandina y el estro es muy variable, todo depende del día del ciclo en que el animal es inyectado (Houghton et al., 1995). Cuanto mayor sea el tamaño del CL, más demora la luteólisis y por lo tanto también el estro (Menchaca et al., 2003).

A efectos de mejorar la sincronización, algunos autores han considerado necesario utilizar dos inyecciones de prostaglandina separadas por 10 a 14 días (Acritopoulou y Haresign, 1980). Menchaca et al. (2004) utilizaron dos inyecciones de prostaglandina con intervalo de 7 días, y obtuvieron una sincronización muy alta del estro dentro de 25 a 48 horas de administrada la segunda dosis del tratamiento (80%).

En cuanto a la fertilidad siguiente a la sincronización con prostaglandina, hay discrepancias. Godfrey et al. (1997) sostienen que la fertilidad no se ve afectada, pero otros autores comprobaron que ésta disminuye (Scaramuzzi et al., 1988; Evans y Maxwell, 1990). Cuando fue comparada la sincronización con prostaglandina vs la sincronización con progesterona, se concluyó que el tiempo al inicio del estro y ovulación era mayor y menos exacto cuando se utilizó prostaglandina. Esto llevaría a explicar, en parte, por qué el promedio de concepción después de la inseminación en dicho experimento fue menor (Godfrey et al., 1999).

Dentro de las ventajas en el uso de prostaglandina hay que destacar que es una técnica sencilla de realizar y económica (Durán, 1993). No obstante las ventajas de orden sanitario, manejo y genéticas hacen de la sincronización con PGF₂ α una valiosa herramienta a difundir (Olivera et al., 2003).

1.4.2 Progesterona y su mecanismo de acción

La progesterona es una hormona secretada por el cuerpo lúteo. El mecanismo de acción de ésta consiste en provocar una inhibición de la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, y en consecuencia la inhibición de la producción de FSH y LH responsables de desencadenar el ciclo estral (Durán, 1993; Rubianes et al., 1999).

Tomando como base la acción de la progesterona, es posible suprimir la actividad sexual administrando dicha hormona de una fuente exógena. Se puede aportar progesterona natural mediante dispositivos intravaginales como el CIDR (controlled internal drug release device), o mediante análogos sintéticos de progesterona como el acetato de medroxiprogesterona (MAP) y de fluorogestona (FGA) en esponjas intravaginales o implantes subcutáneos (Durán, 1993). El progestágeno también puede ser administrado de forma oral, lo que beneficia al productor debido a un menor costo económico en comparación al tratamiento con esponjas intravaginales con MAP. Sin embargo, las hembras tratadas con estas últimas obtuvieron un mayor índice de preñez, demostrando que son más adecuadas desde el punto de vista reproductivo (Keefe y Wichtel, 2000). Dentro de los análogos sintéticos de progesterona el MAP y la FGA son los más utilizados (Menchaca et al., 2003).

La duración de los tratamientos de progesterona utilizados tradicionalmente es de 11 a 14 días (Durán, 1993; Menchaca et al., 2003).

El retiro de forma simultánea de las esponjas o CIDR permite el cese del mecanismo inhibitor en todas las hembras a la misma vez (Menchaca et al., 2003). De esta manera al suprimir el tratamiento se produce una disminución

brusca de la progesterona en sangre, y se desencadena el reinicio de un nuevo ciclo sexual, con manifestación del estro dentro de las 48 horas siguientes (Durán 1993). Se sincroniza así el comienzo de la fase folicular, lo que concluirá en estro y ovulación (Menchaca et al., 2003).

1.4.2.1 Esponjas

En el mercado existen varias marcas de esponjas con diferentes progestágenos. En su mayoría contienen 60 mg de MAP ó 30-40 mg de FGA (Rubianes et al., 1999). En un ensayo realizado con esponjas intravaginales que contienen diferentes cantidades de MAP, no se encontraron diferencias en la cantidad de hembras en estro, duración del estro, ni en el tiempo desde el retiro de la esponja al estro (Greyling et al., 1994).

Las esponjas intravaginales se introducen dentro de la vagina con ayuda de un aplicador (Figura 1), procurando que al retirar el aplicador el hilo de las esponjas quede colgando hacia afuera unos 15-20 cm para facilitar su retiro (Evans y Maxwell, 1990).



Figura N° 1: Modo de utilización de esponjas en ovejas. Autor: Dr. Marcelo Gatti, 2006.

Antes de introducir el aplicador de esponjas, éste debe de ser desinfectado correctamente para evitar introducir microorganismos a la vagina que puedan ocasionar infección (Scudamore, 1988).

Las esponjas intravaginales disponibles en el mercado tienen como ventaja su bajo costo unitario (Devincenzi et al., 2005), y como desventajas las pérdidas de las mismas (2-3%), adherencias o vaginitis (Rubianes et al., 1999).

1.4.2.2 Problemas asociados al uso de esponjas

Scudamore (1988) demostró que algunas ovejas presentaban una descarga vaginal anormal, hemorrágica, y con olor desagradable al retirar las esponjas. La presencia de la esponja en la cavidad vaginal, genera una respuesta inflamatoria que aumenta la secreción de la mucosa local, con el concomitante aumento de la flora bacteriana (Suárez et al., 2006). Las esponjas intravaginales absorben las secreciones e impiden su drenaje, y esto provoca el olor desagradable que se manifiesta al retiro de las mismas (Motlomelo et al., 2002). Estas secreciones predisponen a una mayor incidencia de adherencias y dificultad para retirarlas de la cavidad vaginal (Martins et al., 2010).

Se reportó que al día 5 después de la inserción de las esponjas intravaginales, el volumen de flujo vaginal y la carga bacteriana, alcanzaron un pico que se mantenía constante hasta el retiro de la esponja en tratamientos de 5, 9 y 13 días (Suárez et al., 2006). Por su parte Martins et al. (2009) luego de sincronizar ovejas con esponjas conteniendo MAP, comprobaron al retiro de las mismas (6 días más adelante) todas las ovejas presentaban signos clínicos de vaginitis. Roychoudhury et al. (1971) observó un marcado aumento en el número de bacterias. No obstante, también se observó que existía una caída drástica de los conteos bacterianos a partir del momento de retirar las esponjas, llegando a valores normales al día del estro (Suárez et al., 2006).

Quinlivan (1970) sostuvo que la presencia de la esponja en la vagina con una extensión (hilo de la esponja) que se prolonga hacia el exterior de la vulva y se contamina continuamente con heces y orina, predispone a una reacción inflamatoria local favorable para la existencia de una población bacteriana activa.

En algunas especies fue comprobado que la progesterona promueve condiciones convenientes para el crecimiento bacteriano dentro de la vagina o el útero, ya que posee un efecto inmunodepresor que podría favorecer la susceptibilidad a las infecciones (Rowson et al., 1953, citado por Quinlivan; Lewis, 2003).

Uno de los antibióticos de uso intravaginal efectivo contra los microorganismos que predominan en la flora vaginal (*Escherichia coli* y *Actinomyces pyogenes*) es la oxitetraciclina, perteneciente a la familia de las Tetraciclinas (Joyce y Gillespie, 1972, citado por Ahern, 1976). En el año 2006, Suárez et al. utilizaron muestras vaginales de ovejas tratadas con esponjas para probar la efectividad in vitro de distintos antibióticos. Concluyeron que la cefalosporina y la gentamicina serían los antibióticos más eficaces para prevenir el crecimiento bacteriano de la flora vaginal. En este estudio también se observó que la oxitetraciclina era eficaz en la prevención del crecimiento de muchas colonias bacterianas, aunque algunas pocas muestras hayan presentado resistencia a la misma (Suárez et al., 2006). Debido a que la oxitetraciclina es uno de los antibióticos más accesibles del mercado, de fácil administración y eficaz frente a muchos grupos de bacterias, fué el antibiótico de elección para incorporar en las esponjas durante nuestro experimento.

1.4.2.3 *Combinación de progestágenos con otros tratamientos*

Cuando los dispositivos intravaginales son utilizados en hembras en anestro estacional, inducen una pobre respuesta, por lo que se deben asociar con tratamientos gonadotrópicos (eCG o PMSG) al momento o poco antes de retirarlos, para inducir la ovulación en estas hembras (Scaramuzzi, 1988;

Menchaca et al., 2003). En experimentos realizados por Ungerfeld y Rubianes (1999) se concluyó que, la preparación con progestágeno por 6 días combinado con eCG puede ser utilizada con éxito para inducir estro fértil en ovejas en anestro estacional.

La combinación de progestágenos con eCG también es utilizada durante la estación reproductiva, buscando aumentar la tasa ovulatoria y mejorar la sincronización del estro (Scaramuzzi, 1980; Rubianes et al., 1999). Ésta combinación permite realizar tratamientos de sincronización de hembras jóvenes y adultas, para realizar inseminación artificial (Simonetti et al., 1999).

1.4.2.4 Fertilidad siguiente a la sincronización con progestágenos

La fertilidad disminuye en el estro sincronizado con progestágenos. Una de las posibles causas serían las condiciones desfavorables para la supervivencia y el transporte de los espermatozoides, creadas por el tratamiento hormonal (Quinlivan y Robinson, 1969; Allison y Robinson, 1970). En 1976, Ahern observó que la vagina de ovejas tratadas con esponja contiene una gran cantidad de leucocitos polimorfonucleares, y estas células son capaces de fagocitar espermatozoides, alterando la fertilidad. El número de espermatozoides que se emplea en la fertilización de ovejas ciclando normalmente, probablemente no sea suficiente para efectuar la fertilización de ovejas tratadas con progestágeno. Éste inconveniente, se acentúa más cuando se utiliza la inseminación artificial (IA), ya que el número de espermatozoides adecuado para fertilizar ovejas tratadas (con progesterona), deberá ser superior al utilizado en la fertilización de ovejas cíclicas normales (Jennings y Crowley, 1972).

1.5 Comportamiento sexual, social y atraktividad

En los mamíferos existen señales olfatorias que son liberadas al ambiente y percibidas por los demás individuos. En ellos el sistema olfatorio principal percibe olores (Ungerfeld, 2002), permitiéndole al carnero discriminar hembras en estro (Blissitt, 1990; Ladewing et al., 1980). Por su parte, el sistema olfatorio accesorio percibe las feromonas a través del órgano vomero-nasal (OVN) (Bland y Jubilan, 1987). Las feromonas son señales químicas producidas en las glándulas sebáceas y sudoríparas de la piel, o secretadas en la orina, secreciones vaginales y heces, que al ser liberadas al ambiente estimulan cambios en la fisiología de otros individuos de la misma especie (Ungerfeld, 2002).

En ensayos realizados con machos, se comprobó que el estro es detectado por el sistema olfatorio principal, y que el estímulo de éste por la investigación olfativa, es el responsable de provocar el comportamiento de flehmen (enrollamiento del labio exhibido por la mayoría de los machos cuando investigan la región genital de hembras o la orina). Se asume que el OVN es utilizado para confirmar o refinar la información recibida por el sistema olfatorio principal, y mantener así el interés sexual (Ladewing et al., 1980).

La coordinación entre los mecanismos comportamentales y endócrinos es esencial para que la reproducción sea exitosa (Ungerfeld, 2002). En el carnero, el desarrollo y el mantenimiento del comportamiento sexual están bajo influencia de la testosterona, pero las experiencias sociales y sexuales son de alta relevancia (Tilbrook y Cameron, 1990).

La primera manifestación del macho en la interacción sexual con la hembra, es la exploración de la zona perineal de ésta mediante el olfato y el gusto, con el objetivo de obtener información (Banks, 1964). Luego el macho exhibe el comportamiento llamado flehmen, para confirmar el estado reproductivo de la oveja (Bland y Jubilan, 1987). Una vez que éste localiza a la hembra en celo, comienza la búsqueda de la misma mediante el cortejo. En el mismo, el carnero empuja su rostro contra el periné de la oveja, con acercamientos en los que el macho se ubica detrás de la hembra apuntando su

cuerpo en la misma dirección y acompañado de movimientos de coceos y codazos. Si la hembra se encuentra en estro aceptará la monta; de lo contrario aquellas indiferentes al comportamiento del macho se consideran en anestro (Banks, 1964).

Para que la hembra manifieste el celo tiene que producirse una disminución de los niveles de progesterona (al final de la fase luteal) seguido de un aumento de los niveles de estrógenos. Si los estrógenos aumentan sin el impacto previo de la progesterona el celo no se manifiesta (Ungerfeld, 2002).

El desenlace del “comportamiento sexual femenino” está determinado por tres componentes:

- la receptividad, que es la aceptación de la monta;
- la proceptividad, definida como el comportamiento sexual activo de la hembra; y
- la atractividad, que son las diferencias entre las hembras que hacen más atractivas a unas frente a otras cuando están frente a los machos, y que influyen su comportamiento sexual (Ungerfeld, 2002).

El macho prefiere a aquella hembra que sea receptiva sexualmente, siendo ésta la que permite ser montada (Banks, 1964). La edad y el temperamento de la hembra influye en esta receptividad, debido a que aquellas de mayor edad y más tranquilas serán más receptivas que las hembras inexperientes y nerviosas (Gelez, 2003). Se ha visto que situaciones de stress vividas por la hembra no interfieren sobre la receptividad; pero en cambio sí reducen la proceptividad y atractividad de las ovejas en estro debido a una disminución en la pulsatilidad de LH (Pierce et al., 2008).

El comportamiento sexual activo de la hembra (proceptividad) consiste en la tendencia de ésta a acercarse y permanecer con los machos, respondiendo a su búsqueda con interés (Tilbrook et al., 1990). Fue observado que ovejas dominantes en estro intentaron interferir cuando el carnero buscaba a otra oveja y no a ellas, e incluso pueden llegar a interrumpir totalmente interacciones sexuales en curso (Banks, 1964). En pruebas de apareamiento, la proceptividad de ovejas se observó con mayor frecuencia durante el estro,

que antes o después de éste, y sin variaciones a través del mismo (Tilbrook et al., 1990). El comportamiento solicitante de una oveja en estro, no parece ser uno de los componentes que contribuyan de forma importante a su atractividad, pero es razonable asumir que sí tiene cierta influencia en la respuesta de los carneros (Tilbrook, 1984).

En cuanto a la atractividad, Tilbrook y Lindsay (1987) comprobaron que distintos carneros fueron atraídos por las mismas ovejas en estro, en un orden similar, revelando así la incidencia de ciertas características que permiten a las ovejas diferenciarse en su atracción sexual a los carneros. Las cualidades que hacen a una oveja sexualmente más atractiva a los carneros, serán determinantes en la distribución desigual de las montas, afectando el número de ovejas servidas con éxito durante un ciclo estral (Tilbrook y Cameron, 1990). Se ha visto que la lana, puede ser un componente importante de la atractividad sexual de la oveja, debido a que la mayoría de los carneros eligen preferentemente las ovejas en estro que tengan más lana, frente a aquellas esquiladas recientemente (Tilbrook y Cameron, 1989). Esto se explicaría por el alto nivel de acumulación de feromonas presente en los vellones largos (Tilbrook, 1984). Las feromonas participan en las interacciones sociales aportando información sobre sexo, dominancia, estatus social y sexual de quien las secreta (Ungerfeld, 2002). Se desprende de otro ensayo, que las feromonas secretadas en la lana, cera (Knight y Lynch, 1980) y orina (Stevens et al., 1982), no son suficientes para sustituir el efecto de otra fuente de feromonas como la presente en la secreción vaginal (Ungerfeld y Silva, 2005). Los estrógenos inducen a la mucosa vaginal a secretar feromonas (Ungerfeld, 2002). Probablemente, la flora vaginal influya en las características de la secreción de las feromonas o en la concentración de las mismas (Ungerfeld y Silva, 2005). Se observó que el uso de dispositivos intravaginales por algunas horas provoca una disminución en el interés de los carneros por las ovejas (Stevens et al., 1982).

Una disminución de la flora vaginal por el uso de antibióticos intravaginales, también afectó la atractividad sexual de las hembras en estro (Ungerfeld y Silva, 2005). Este resultado concuerda con observaciones de

Merkx et al. (1988) en ratas, donde los machos prefirieron hembras con flora vaginal normal, que aquellas sin flora vaginal como consecuencia de un tratamiento diario con antibiótico.

Es sabido que la sincronización del estro con esponjas intravaginales es uno de los métodos más utilizados en la actualidad. Se carece de información de, si el uso de esponjas, influyen o no la atraktividad que la hembra ejerce sobre el macho. Debido a lo expresado anteriormente es que se propone el siguiente ensayo experimental.

HIPÓTESIS

- Las ovejas tratadas con esponjas intravaginales para sincronizar el estro tienen menor atractividad que las que presentan estro espontáneo.
- La inclusión de antibiótico en las esponjas intravaginales revierte la disminución de la atractividad sexual de las ovejas tratadas.

OBJETIVOS

- Determinar si el uso de esponjas intravaginales afecta la atractividad sexual de las ovejas.
- Determinar si la disminución de la atractividad sexual de las ovejas se revierte con la inclusión de antibiótico en las esponjas intravaginales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y su manejo:

Se realizaron 2 experimentos en el Campo Experimental N° 1 de la Facultad de Veterinaria (Migues, Departamento de Canelones). Se utilizaron 144 ovejas multíparas de la raza Corriedale, Milchschaf y sus cruzas ($36 \pm 0,5$ kg) (media \pm DS), y 24 carneros de la raza Corriedale; durante la estación reproductiva (febrero).

Se tomaron muestras vaginales de ovejas con estro espontáneo, tratadas con esponja y con esponja con antibiótico, previo a la introducción de las esponjas y en el día del estro. En la extracción de las muestras se destinó una persona para abrir los labios vulvares de las ovejas y otra para tomar las muestras (ambas con guantes estériles que se cambiaron entre cada extracción). Las muestras se tomaron por contacto directo del mucus vaginal con hisopo estéril a 2 cm de los labios vulvares, y fueron mantenidas refrigeradas hasta el momento de su procesado que se realizó el mismo día en el Departamento de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Los hisopos fueron vortexeados enérgicamente durante un minuto, en 1 ml de solución buffer fosfatada estéril a pH 7,4, con el objetivo de suspender las bacterias adheridas. A la suspensión resultante se le realizaron varias diluciones (5 diluciones en 10), y las bacterias obtenidas fueron sembradas en placas de agar sangre e incubadas por 48 h a 37°C, para posteriormente realizar el recuento bacteriano.

Experimento 1

Se utilizaron dos grupos de 36 ovejas durante la estación reproductiva (febrero). Uno de éstos compuesto por ovejas con estro espontáneo, las que fueron pre-sincronizadas con una dosis de Prostaglandina F₂ α (1 ml de análogo sintético de prostaglandina F₂ α , Glandinex, Universal Lab. Ltda., Montevideo, Uruguay) el ciclo anterior. El otro grupo, compuesto por ovejas en estro que fueron previamente sincronizadas mediante el uso de esponjas

intravaginales (conteniendo 50 mg de acetato de medroxiprogesterona) (Sincrovin, Santa Elena, Montevideo, Uruguay), durante 14 días. Se identificaron las ovejas en estro (utilizando un carnero al que no se le permitió la monta), las que fueron posteriormente separadas del grupo general.

Se formaron grupos compuestos por 3 ovejas con estro espontáneo y 3 ovejas con estro inducido, las que fueron colocadas con un carnero dentro de un corral (4 x 4m). Se utilizó el test de atractividad descrito por Tilbrook (1987) para ordenar las ovejas según su atractividad sexual. Se midió el tiempo desde que el carnero comenzó activamente a dirigir un comportamiento sexual hacia una oveja en particular (cortejo y/o copula). La hembra con la cual el carnero pasaba un mayor tiempo durante 5 min fue considerada la sexualmente más atractiva, y fue retirada del corral. Las observaciones fueron realizadas hasta que las 6 ovejas fueron ordenadas según la posición de la atractividad sexual. La primera oveja retirada fue la más atractiva sexualmente (1) y la última oveja sacada del corral fue considerada la menos atractiva sexualmente (6). Si en 5 minutos no se estableció la hembra de mayor atractividad, se continuó hasta 15 minutos. Si dos o más ovejas recibieron el mismo tiempo de cortejo por parte del carnero, eran consideradas como de igual orden de atracción sexual y fueron retiradas juntas del corral. El test se realizó 12 veces cambiando las hembras y los machos en cada test.

Experimento 2

Este experimento se realizó durante la estación reproductiva (febrero), y el estro de las ovejas fue detectado de la misma manera que en el experimento anterior. A diferencia del experimento 1, se utilizaron grupos constituidos por 3 ovejas con estro sincronizado con esponja y 3 ovejas con estro sincronizado con esponja con antibiótico local (20 mg de oxitetraciclina inyectado en cada esponja). Las ovejas fueron colocadas dentro del corral con el carnero, en 12 grupos que fueron ordenados por atractividad sexual de la misma forma que en el experimento 1.

Análisis estadístico

11.
D.S.

Para comparar la atractividad entre grupos se utilizó la prueba de Friedman para diseños aleatorios.

La cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) fue normalizada (transformación logarítmica) y comparada por ANOVA. Los datos son presentados como media \pm DS.

RESULTADOS

EXPERIMENTO 1

Atractividad

Las hembras con estros espontáneos fueron más atractivas que las hembras tratadas con esponjas intravaginales (Tabla 1), con una media para estas posiciones de $(2,9 \pm 1,6$ vs $4,1 \pm 1,6)$ respectivamente ($P=0,002$).

Tabla 1: Posiciones por atractividad asignadas por el test de Tilbrook, según la selección de los carneros en cada test, donde se compararon ovejas en estro espontáneo vs ovejas en estro pretratadas con esponjas.

Posición	Celo espontáneo	Tratamiento c/esponjas
1	9	3
2	8	4
3	8	4
4	5	7
5	2	10
6	4	8

Recuento de UFC

La cantidad de UFC al inicio del estro fue significativamente mayor en aquellas muestras de hembras que fueron sincronizadas con esponja que en aquellas que no usaron esponja: $[150,6 \pm 211,5 \times 10^3$ vs $9,2 \pm 19,3 \times 10^3$ UFC/ml respectivamente ($P<0,03$).

EXPERIMENTO 2

Atractividad

Cuando fue comparada la atractividad de las hembras tratadas con esponja sin antibiótico vs las tratadas con esponja con antibiótico, no se

observó una diferencia en la atractividad (Tabla 2). Se obtuvo una posición promedio de ($3,5 \pm 1,8$ vs $3,5 \pm 1,6$) respectivamente.

Tabla 2: Posiciones por atractividad asignadas por el test de Tilbrook, según la selección de los carneros en cada test, donde se comparó ovejas en estro pretratadas con esponjas vs ovejas en estro pretratadas con esponjas conteniendo antibiótico.

Posición	Tratamiento c/esponjas	Tratamiento c/esponjas c/ATB
1	7	5
2	7	5
3	3	9
4	5	7
5	8	4
6	6	6

Recuento de UFC

La cantidad UFC al inicio del estro en hembras tratadas con esponja fue mayor que en aquellas hembras tratadas con esponja conteniendo antibiótico: [$150,6 \pm 211,5 \times 10^3$ y $16,8 \pm 24,3 \times 10^3$ UFC/ml respectivamente ($P < 0,001$)].

DISCUSIÓN

Las ovejas tratadas con esponjas intravaginales para sincronizar el estro, tuvieron menor atractividad que las ovejas con estro espontáneo. Estos resultados concuerdan con lo observado por Stevens et al. (1982), quienes determinaron que el uso de dispositivos intravaginales por algunas horas, provoca una disminución en el interés de los carneros por las ovejas. Probablemente, la flora vaginal influya en las características de la secreción de las señales químicas o en la concentración de las mismas (Ungerfeld y Silva, 2005). En nuestro ensayo, no se estableció que fue lo que alteró las señales químicas liberadas al ambiente, pero sí podemos mencionar que las señales fueron alteradas ya que hubo una disminución de la atractividad sexual de las hembras tratadas con esponjas. Ungerfeld y Silva (2005) observaron que las señales químicas secretadas en la lana, cera y orina no son suficientes para sustituir el efecto de las señales químicas presentes en la secreción vaginal. Por lo que podríamos especular que, tanto las señales químicas provenientes de otras fuentes (lana, cera y orina), como también los demás componentes del comportamiento sexual femenino, no son relevantes con respecto a las señales químicas presentes en la secreción vaginal, ya que estas últimas son fundamentales para la atractividad sexual de la oveja en estro.

Por otra parte se ha comprobado que, la concentración de estrógenos (después del retiro de las esponjas) fue similar en hembras tratadas y sin tratar (Letelier, 2008). De esta manera podemos descartar que la concentración de esta hormona haya intervenido en la menor atractividad de las hembras tratadas.

El aumento de UFC/ml observado en las ovejas tratadas con esponjas podría asociarse con la disminución de la atractividad que fue observada en éstas ovejas. Las características cuantitativas o cualitativas (*Escherichia coli*, *Actinomyces pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*) de las UFC en el momento del celo, pueden haber afectado o modificado las señales químicas y con ello la atractividad de las hembras tratadas.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Roychoudhury et al. (1971), quienes al retiro de las esponjas intravaginales obtuvieron un incremento numérico importante en el total de bacterias de todas las ovejas tratadas. Esto podría deberse a que la progesterona impregnada en las esponjas intravaginales promueve condiciones favorables para el crecimiento bacteriano dentro de la vagina (Rowson et al., 1953, citado por Quinlivan, 1970; Lewis, 2003).

En nuestro ensayo no se obtuvieron datos respecto a la variación cualitativa de la flora vaginal. Según Ahern (1976), los tipos de microorganismos encontrados en muestras vaginales de ovejas tratadas con esponjas, eran iguales a los de las muestras vaginales de ovejas no tratadas. Sin embargo no disponemos de información en lo que respecta a la evolución en la cantidad en proporción de cada una de las bacterias.

Es posible, que las bacterias den lugar a un ambiente anormal en la vagina en el momento en el que está presente la esponja y durante algún tiempo después de su retiro (Ahern, 1976). Probablemente en el momento del celo, la flora vaginal no se encuentra aún en condiciones normales ni fisiológicas, debido a los cambios ocasionados por el cuerpo extraño (esponja), y esto modifique la atractividad de la oveja tratada.

Por otra parte, en nuestro experimento, no se observó diferencia en cuanto a la atractividad entre las hembras tratadas con esponjas intravaginales vs las tratadas con esponjas intravaginales con antibiótico. La oxitetraciclina fue eficaz en la reducción de la UFC/ml de la vagina. Existió una disminución en los conteos de UFC en las hembras tratadas con esponjas con antibiótico, comparado con aquellas hembras que se trataron con esponja sin antibiótico. Esto concuerda en parte con lo concluído por Joyce y Gillespie (1972, 1973 citado por Ahern, 1976), quienes también comprobaron la eficacia de la oxitetraciclina. Sin embargo, en ensayos de Suárez et al. (2006), los antibiogramas demostraron que frente a la oxitetraciclina, algunas muestras de flora vaginal presentaron colonias bacterianas con una sensibilidad variable (Suárez et al., 2006). Por lo que en nuestro ensayo podría haber sucedido que

aquellas bacterias menos sensibles a la oxitetraciclina puedan haber afectado la atractividad.

Por otra parte también podríamos especular que si bien el antibiótico disminuye la flora bacteriana presente en la vagina, también afecta las características fisiológicas de la vagina y esto también podría afectar la atractividad. Éstos resultados coinciden con los obtenidos en los ensayos de Ungerfeld y Silva (2005) y Merckx et al. (1988), quienes comprobaron que la atractividad sexual de las hembras en estro fue afectada por el uso de antibiótico intravaginal. Tanto el antibiótico, como la esponja y la secreción muco-purulenta que ésta desencadena, podría a su vez generar cambios en la flora vaginal normal y con ello interferir en las características de las señales químicas. Esto demuestra la importancia de la flora vaginal en la atractividad sexual de hembras en estro (Ungerfeld y Silva, 2005).

CONCLUSIONES

- Las ovejas con celos espontáneos fueron más atractivas que las ovejas a las que se les sincronizó el celo con esponjas intravaginales.
- El tratamiento con antibiótico local, si bien disminuyó el aumento de las UFC/ml, no revirtió la disminución de la atractividad sexual de las ovejas tratadas con esponjas intravaginales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Acritopoulou, S., Haresign, W. (1980). Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 α given at different stages of the oestrus cycle. *J Reprod Fert*; 58:219-223.
- 2) Ahern, C.P. (1976). The bacteriology of vaginal mucus and intravaginal sponges from sheep and the effect of coating sponges with antibacterial agents. *Irish Vet J*; 30:111-117.
- 3) Allison, A.J., Robinson, T.J. (1970). The effect of dose level of intravaginal progestagen on sperm transport, fertilization and lambing in the cyclic merino ewe. *J Reprod Fert*; 22:515-531.
- 4) Azzarini, M. (2000). El cordero pesado tipo SUL. Un ejemplo de desarrollo integrado en la producción de carne ovina del Uruguay. *Prod Ovina* 13:47-68.
- 5) Banks, E.M. (1964). Some aspects of sexual behavior in domestic sheep, *ovis aries*. *Behaviour*; 23:249-278.
- 6) Bland, K.P., Jubilan, B.M. (1987). Correlation of flehmen by male sheep with female behaviour and oestrus. *Anim Behav*; 35:735-738.
- 7) Blissitt, M.J., Bland, K.P., Cottrell, D.F. (1990). Olfactory and vomeronasal chemoreception and the discrimination of estrous and non estrous ewe urine odours by the ram. *Appl Anim Behav Sci*; 27:325–335.
- 8) Bonino, J. (2003). Cordero pesado carne ovina de calidad. Disponible en: http://www.vet-uy.com/articulos/artic_ov/002/ov002bas.htm Fecha de consulta: 29/09/10.
- 9) Chemineau, P. (2009). Medio ambiente y reproducción animal. Efectos de las variaciones del fotoperíodo sobre la reproducción. Disponible en: <http://ovinos->

caprinos.com.ar/FACTORES/Influencia%20luz%20y%20clima%20en%20cria%20ovinos.pdf Fecha de consulta: 25/11/10.

- 10) Devincenzi, J.C.B., Algorta, M., García Pintos, H., Caorsi, C.A., Gatica, R., Correa, J.E. (2005). Utilización de un dispositivo intravaginal con progesterona: efectos sobre la sincronización de celo y respuesta superovulatoria en ovejas Corriedale en Uruguay. Disponible en: <http://www.vet-uy.com/articulos/ovinos/050/020/ov020bas.htm> Fecha de consulta: 5/2/11.
- 11) Durán Hontou, G. (1993). Sincronización de celos. En: Durán del Campo, A. Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos. Montevideo, Hemisferio Sur, p. 165-174.
- 12) Evans, G., Maxwell, W.M.C. (1990). Inseminación artificial de ovejas y cabras. Zaragoza, Acribia, 192 p.
- 13) Fierro, S., Gil, J., Olivera, J. (2010). Sincronización de celos en nuestras condiciones de producción: una opinión. Disponible en: http://produccionovina.com.ar/produccion_ovina/inseminacion_ovinos/30-Sincronizacion.pdf Fecha de consulta: 13/04/11.
- 14) Forsberg, M. (2002). Estacionalidad reproductiva: El significado de la luz. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Facultad de Veterinaria, tomo 1, p. 121-138.
- 15) García Pintos, G. (2009). Plan estratégico nacional para el rubro ovino 2009-2015. Lananoticias 37 (151):2-5.
- 16) Gatti Assandri, M. (2006). Reproducción en los lanares y la manipulación del ciclo estral. Lechuza Roja. Nº11:8- 9.
- 17) Gelez, H., Lindsay, D.R., Blache, D., Martin, G.B., Fabre-Nys, C. (2003). Temperament and sexual experience affect female sexual behaviour in sheep. Appl. Anim. Behav. Sci; 84:81-87.

- 18) Godfrey, R.W., Gray, M.L., Collins, J.R. (1997). A comparison of two methods of oestrous synchronisation of hair sheep in the tropics. *Anim Reprod Sci* 47:99-106.
- 19) Godfrey, R.W., Collins, J.R., Hensley, E.L., Wheaton, J.E. (1999). Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology*; 51:985-997.
- 20) Goodman, R.L. (1994). Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. En: *The Physiology of Reproduction*. Ed: Knobil, E y Neill, J.D. New York, Raven, p. 659-724.
- 21) Greyling, J.P.C., Kotzé, W.F., Taylor, G.J., Hagendijk, W.J. (1994). Synchronization of oestrus in sheep: Use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. *S Afr J Anim Sci*; 24:33-37.
- 22) Houghton, J.A.S., Liberati, N., Schrick, F.N., Townsend, E.C., Dailey, R.A., Inskeep, E.K. (1995). Day of estrous cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *J Anim Sci*; 73:2094-2101.
- 23) Jennings, J.J., Crowley, J.P. (1972). The influence of mating management on fertility in ewes following progesterone PMS treatment. *Vet Rec*; 90:495-498.
- 24) Keefe, G.P., Wichtel, J.J. (2000). Evaluation of melengestrol acetate and equine chorionic gonadotropin for out of season breeding in sheep on Prince Edward Island. *Can Vet J*; 41:211-214.
- 25) Knight, T.W., Lynch, P.R. (1980). Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Anim Reprod Sci*; 3:133-136.
- 26) Ladewig, J., Price, E., Hart, B. (1980). Flehmen in male goats: role in sexual behavior. *Behav Neur Biol*; 30:312-322.

- 27) Letelier, C.A. (2008). Caracterización de la funcionalidad ovárica e hipofisiaria producida por el tratamiento progestativo para la sincronización de celos en ovinos. Tesis doctoral, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, 130 p.
- 28) Lewis, G.S. (2003). Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reprod Biol Endocrinol*; 1:117. (abstract).
- 29) Martins, G., Figueira, L., Penna, B., Brandao, F., Vargas, R., Vasconcelos, C., Lilenbaum, W. (2009). Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progestin-impregnated intravaginal sponges. *Small Rum Res*; 81:182-184.
- 30) Martins, L., Dos Santos Neto, P., Neto, S., Pereira, L., Bertolini, M., Vieira, A., Mezzalira, A. (2010). Microbiological and functional evaluation of an alternative device (OB) for estrous synchronizations in ewes. *Ciencia Rural (Santa Maria)* 40:389-395.
- 31) Menchaca, A., Ungerfeld, R., De Castro, T., Rubianes, E. (2003). Tratamientos hormonales para la inducción y sincronización de celos en ovejas y cabras. En: Ungerfeld, R. *Reproducción en los animales domésticos*. Montevideo, Facultad de Veterinaria, tomo 2, p. 483-493.
- 32) Menchaca, A., Miller, V., Gil, J., Pinczak, A., Laca, M., Rubianes, E. (2004). Prostaglandin F_{2α} treatment associated with timed artificial insemination in ewes. *Reprod Dom Anim*; 39:352–355.
- 33) Merx, J., Slob, A.K., Van Der Werff Ten Bosch, J.J. (1988). Vaginal bacterial flora partially determines sexual attractivity of female rats. *Physiol Behav*; 44:147. (abstract).
- 34) MGAP. Estadísticas Agropecuarias. Publicaciones. Ganadería. Encuesta Ganadera - Año 2001 - Diciembre 2002 - (Nº 211). Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,99,O,S,0,MNU;E;39;7;MNU;> Fecha de consulta: 29/09/10.

- 35) MGAP. Estadísticas Agropecuarias. Uruguay rural en cifras. (2009). Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,86,O,S,0,MNU;E;2;16;10;12;MNU;>, Fecha de consulta: 16/08/11.
- 36) MGAP, Anuario Estadístico Agropecuario. (2010). Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,352,O,S,0,MNU;E;27;6;MNU;>, Fecha de consulta: 08/07/11.
- 37) Montossi, F., Ganzabal, A., Barbieri, I., Nolla, M., Luzardo, S. (2005). Seminario de actualización técnica; Reproducción ovina: La mejora de la eficiencia reproductiva de la majada nacional: un desafío posible, necesario e impostergable. Disponible en: <http://www.scribd.com/doc/38422000/Reproduccion-Ovina-Avances-Del-INIA> Fecha de consulta: 5/11/10.
- 38) Montossi, F. (2010). Una visión estratégica de la ovinocultura nacional en un horizonte de 10 años: Desafíos necesarios e impostergables. Disponible en: <http://www.slideshare.net/Marceloherve/montossi-fabio-oportunidades-y-desafos-para-la-produccion-ovina-del-uruguay> Fecha de consulta: 4/11/10.
- 39) Motlomelo, K.C., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J. (2002). Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Rum Res*; 45:45-49.
- 40) Navarro, L., Torres, A. (1984). Duración, frecuencia e incidencia natural del estro en ovejas West African en la mesa de Guanipa. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt0212/texto/duracion.htm Fecha de consulta: 15/02/11.
- 41) Olivera, J., Dighiero, M., Oliveira, G. (2003). Sincronización de estros en ovinos con un análogo de prostaglandina F2A: viabilidad productiva y económica. XXXI Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, p. 160-162.

- 42) Pereira, G. (2003). La ganadería en Uruguay. Contribución a su conocimiento. Montevideo MGAP- DIEA, 87 p.
- 43) Pierce, B.N., Hemsworth, P.H., Rivalland, E.T.A., Wagenmaker, E.R., Morrissey, A.D., Papargiris, M.M., Clarke, I.J., Karsch, F.J., Turner, A.I., Tilbrook, A.J. (2008). Psychosocial stress suppresses attractiveness, proceptivity and pulsatile LH secretion in the ewe. *Horm Behav*; 54:424–434.
- 44) Quinlivan, T.D., Robinson, T.J. (1969). Numbers of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen-treated ewes. *J Reprod Fert*; 19:73-86.
- 45) Quinlivan, T.D. (1970). The bacteriology of cervical mucus of ewes at oestrus following treatment with fluoro-progestagen impregnated intravaginal sponges. *Aust Vet J*; 46: 11-16.
- 46) Raso, M., Buratovich, O., Villa, M. (2004). Comparación de 4 tratamientos de sincronización de celos en ovinos. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/esquel/info/documentos/animal/ovinos09.htm>
Fecha de consulta: 28/11/10.
- 47) Roychoudhury, P.N., Nelli, A., Podesta, A. (1971). Sull esame batteriologico di pessari vaginali al Cronolone (Syncro-Mate) precedentemente posti in vagina di pecore. *Vet Italiana*; 22(1-2):447-455.
- 48) Rubianes, E., Ungerfeld, R., De Castro, T. (1999). Inducción y sincronización de celo en ovejas y cabras. Tercer Simposio Internacional de Reproducción animal, 19-21 de Junio, Carlos Paz, Córdoba, Argentina, p. 109-131.
- 49) Scaramuzzi, R.J., Downing, J.A., Campbell, B.K., Cognie, Y. (1988). Control of fertility and fecundity of sheep by means of hormonal manipulation. *Aust J Biol Sci*, 41:37-45.

- 50) Scudamore, C.L. (1988). Intravaginal sponge insertion technique. *Vet Rec*, 123:554.
- 51) Simonetti, L., Ramos, G., Gardón, J.C. (1999). Estrus presentation and distribution in ewes treated with intravaginal sponges impregnated with medroxyprogesterone acetate (MAP) in combination with pregnant mare serum gonadotropin (PMSG). *Braz J Vet Res Anim Sci*; 36(5): 102-117. Sao Paulo.
- 52) Stevens, K., Perry, G.C., Long, S.E. (1982). Effect of ewe urine and vaginal secretions on ram investigative behavior. *J Chem Ecol*; 8:23-29.
- 53) Suárez, G., Zunino, P., Carol, H., Ungerfeld, R. (2006). Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrus ewes. *Small Rum Res*; 63:39–43.
- 54) Tamber, A. (2008). Producción ovina: análisis y perspectivas. Disponible en:
<http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario08/material/pdf/03.pdf>
Fecha de consulta: 06/12/10.
- 55) Tamber, A. (2009). Baja la producción ovina. Disponible en:
<http://www.larepublica.com.uy/economia/374718-baja-la-produccion-ovina>
Fecha de consulta: 08/07/11.
- 56) Tilbrook, A.J. (1984). Contribution of ram mating behaviour to the fertility of sheep flocks. PhD Thesis, The University of Western Australia, 264 p.
- 57) Tilbrook, A.J., Lindsay, D.R. (1987). Differences in the sexual “attractiveness” of oestrous ewes to rams. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 17:129-138.

- 58) Tilbrook, A.J., Cameron, A.W.N. (1989). Ram mating preferences for woolly rather than recently shorn ewes. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 24:301-312.
- 59) Tilbrook, A. J., Cameron, A.W.N. (1990). The contribution of the sexual behaviour of rams to successful mating of ewes under field conditions. En: Oldham, C.M., Martin, G.B., Purvis, I.W (Eds). *Reproductive physiology of Merino sheep. Concepts and consequences*. Perth, School of Agriculture (Animal Science). The University of Western Australia; p 143-160.
- 60) Tilbrook, A.J., Hemsworth, P.H., Topp, J.S., Cameron, A.W.N. (1990). Parallel changes in the proceptive and receptive behavior of the ewe. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 27:73-92.
- 61) Ungerfeld, R., Rubianes, E. (1999). Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim Sci* 68:349-353.
- 62) Ungerfeld, R. (2001). Efecto de la dosis de progestina y del tipo de administración sobre la fertilidad del celo inducido en ovejas durante el anestro estacional. Tesis de Maestría. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, 63 p.
- 63) Ungerfeld, R. (2002). Comportamiento sexual. En: Ungerfeld, R. *Reproducción en los animales domésticos*. Montevideo, Facultad de Veterinaria, tomo 1, p. 177-189.
- 64) Ungerfeld, R., Silva, L. (2005). The presence of normal vaginal flora is necessary for normal sexual attractiveness of estrous ewes. *Appl Anim Behav Sci* 93:245–250.
- 65) Zorrilla, G., Ferreira, G. (2005). Seminario de Actualización Técnica; Reproducción ovina: recientes avances realizados por el INIA. Disponible

en: <http://www.scribd.com/doc/38422000/Reproduccion-Ovina-Avances-Del-INIA>. Fecha de consulta: 5/11/10.