



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

EFFECTOS DE LA ETAPA DEL CICLO ESTRAL AL INICIO DE LA
SINCRONIZACIÓN CON PROGESTÁGENOS Y MOMENTO DE
INTRODUCCIÓN DE LOS CARNEROS, EN LA INDUCCIÓN DEL CELO Y LA
OVULACIÓN EN OVEJAS CORRIEDALE.

por

Valentín Alejandro AZNÁREZ BRUNINNGHAUSEN
Diego José CLARAMUNT VILLAMIL

FACULTAD DE AGRONOMÍA

SECRETARÍA DE ASESORIA Y
BIBLIOTECA

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo
(Orientación Agrícola Ganadera).

MONTEVIDEO
URUGUAY
2001.

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. Daniel Fernández Abella

Ing. Agr. Mario Azzarini

DMV. Fernando Nan

Fecha:

22 de julio de 2002

Autor:

Valentín Aznárez Brunninghausen

Diego José Claramunt Villamil

AGRADECIMIENTOS

Debemos agradecer a la familia Iruleguy Villamil quienes, además de aportar desinteresadamente los animales para el experimento, nos alojaron reiteradas veces en su casa. Al director de tesis profesor Ing. Agr. Daniel Fernández Abella por participar activa e incondicionalmente en todas las etapas de la misma.

Por último a nuestras familias quienes nos alentaron en todo momento, soportando los cambios de humor que provocan las largas jornadas de trabajo.



4.1 REPERCUSSIONES DE LOS TRATAMIENTOS DE "EFECTO MACHO"	41
4.3 REPERCUSSIONES DEL EFECTO DE LA ETAPA DEL CICLO ESTROCAL Y SUS INTERACCIONES CON EL EFECTO MACHO	47
4.4 LAS OVIATORIAS	54
5. CONCLUSIONES	57
6. RESUMEN	59

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACIÓN.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	
<u>1. INTRODUCCIÓN</u>	1
<u>2. REVISIÓN BIBLIGRÁFICA</u>	2
2.1 CICLO ESTRAL.....	2
2.2 CELO	8
2.3 FOLICULOGÉNESIS Y OVULACIÓN	11
2.3.1 <u>Reclutamiento y Selección</u>	15
2.3.2 <u>Tasa ovulatoria</u>	16
2.3.3 <u>Momento de ovulación</u>	18
2.4 SINCRONIZACIÓN DE CELOS	19
2.4.1 <u>Efectos de la Progesterona</u>	21
2.5 EFECTO MACHO	23
2.5.1 <u>Mecanismos de acción y aspectos prácticos</u>	23
2.5.2 <u>Gonadotropinas vs. Efecto Macho</u>	27
2.6 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.....	29
2.7 INFLUENCIA DEL ESTRÉS.....	31
<u>3. MATERIALES Y MÉTODOS</u>	33
3.1 UBICACIÓN	33
3.2 ANIMALES	33
3.3 SINCRONIZACIÓN DE CELO	34
3.4 EFECTO MACHO	35
3.5 DETECCIÓN Y DURACIÓN DE LOS CELOS	36
3.6 MOMENTO DE OVULACIÓN Y TASA OVULATORIA	37
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
<u>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	40
4.1 COMENTARIOS GENERALES.....	40
4.2 REPERCUSSIONES DE LOS TRATAMIENTOS DE “EFECTO MACHO”	41
4.3 REPERCUSSIONES DEL “EFECTO DE LA ETAPA DEL CICLO ESTRAL” Y SUS INTERACCIONES CON EL “EFECTO MACHO”	47
4.4 TASA OVULATORIA.....	54
<u>5. CONCLUSIONES</u>	57
<u>6. RESUMEN</u>	59

7. SUMMARY 60

8. BIBLIGRAFÍA 61

9. ANEXOS 65

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro N°	Página
1. Medias, desvíos estándar y D.M.S. para las variables inicio, final y duración del celo según tratamiento de "efecto macho".	42
2. Resultados de las pruebas F para las varianzas de las variables según "efecto macho".	42
3. Medias, desvíos estándar y D.M.S. para las variables intervalo inicio del celo-momento de ovulación, intervalo final del celo-momento de ovulación y momento de ovulación según tratamiento de "efecto macho".	45
4. Medias, desvíos estándar y D.M.S. para inicio y duración del celo según combinación de tratamientos.	49
5. Medias, desvíos estándar y D.M.S. para el momento de ovulación, intervalo inicio del celo-momento de ovulación e intervalo final de celo-momento de ovulación según combinación de tratamientos.	50
6. Resultados de prueba F para la comparación de varianza de la combinación de tratamientos.	53
7. Tasa ovulatoria y resultados de la prueba de Chi ² según tratamiento de "efecto macho".	54
8. Datos de celo y momento de ovulación para animales con doble ovulación.	55

Figura N°

1. Desarrollo del folículo preovulatorio en ovinos. En ovinos el desarrollo folicular continúa durante la fase luteal, debido a los altos niveles de F.S.H. (Baird, 1983).	5
2. Número total de folículos y número de folículos de las diferentes clases de tamaño según días del ciclo estral (Schrick et al., 1993). ...	14
3. Número de folículos grandes en ovejas control y tratadas con eCG en diferentes momentos luego de retiradas las esponjas	

sincronizadoras (Husein et al., 1998).	27
4. Momento de inserción y remoción de las esponjas sincronizadoras (60 mg MPA).	35
5. Grupos experimentales.	36
6. Gráfica de distribución general de la hora de inicio del celo.	40
7. Gráfica de distribución general de la duración del celo.	41
8. Gráfica de distribución general de la hora de ovulación.	41
9. Gráfica de distribución de la hora de inicio del celo según tratamiento de "efecto macho".	43
10. Gráfica de distribución de la duración del celo según tratamiento de "efecto macho".	44
11. Esquema de las horas de celo y el momento de la ovulación para los tres tratamientos de "efecto macho". El momento recomendado para realizar la I.A. intrauterina (Fernández Abella, 1995).	45
12. Gráfica de distribución de la hora de ovulación según tratamiento de "efecto macho".	46
13. Gráfica de intervalo entre el inicio del celo y la ovulación según tratamientos de "efecto macho" (igualando el inicio del celo).	46
14. Esquema de las horas de celo y el momento de ovulación según tratamiento de "efecto de etapa del ciclo estral" y "efecto macho".	49
15. Intervalo inicio del celo-momento de ovulación por tratamiento de efecto de la etapa de ciclo estral según tratamiento de "efecto macho".	52
16. Intervalo final del celo-momento de ovulación por tratamiento de efecto de etapa del ciclo estral según tratamiento de "efecto macho".	54

1.INTRODUCCIÓN

Históricamente la producción ovina en el Uruguay ha tenido un valor preponderante como generador de divisas. La explotación ovina nacional, se ha basado en la producción de lana de finuras medias (27 micras: 80 % de la majada nacional es de la raza Corriedale) en condiciones extensivas. En la última década, el stock de animales se ha reducido de 25 millones a 12 millones de cabezas, como consecuencia de la caída en el precio de la lana. Esto ha llevado a la búsqueda de cambios en las orientaciones productivas, que mejoren la rentabilidad del rubro. Por consiguiente se ha diversificado la producción a través de nuevos productos: cordero pesado y lanas superfinas principalmente.

Para la obtención de estos productos es necesario contar con alta eficiencia reproductiva. La misma es necesaria en la producción de cordero pesado, para maximizar el número de animales logrados; manteniendo un porcentaje adecuado de hembras para reemplazo de la raza materna (lanera). En la producción de lanas superfinas, una mayor eficiencia reproductiva permite aumentar el diferencial de selección, alcanzándose mejores micronajes en menor tiempo.

Dentro de los sistemas de fecundación, la inseminación artificial (I.A.) es una herramienta fundamental:

- En la selección por producción de lana, permite mayores progresos genéticos.
- En la producción de cordero pesado, posibilita mayores progresos genéticos en los plantales de razas carniceras, de escaso número en el país. Permite además, el uso de los carneros que éstos producen, sobre un mayor número de ovejas (0,05-0,01%).

La I.A. está muy asociada a los métodos de sincronización del celo y/o ovulación. Realizar la inseminación trabajando con celo natural tiene altos costos en mano de obra calificada, los que se reducen sincronizando los celos e inseminando a tiempo fijo. Para esto es fundamental conocer como varían de acuerdo a diferentes técnicas de manejo los tiempos de celo y ovulación, así como la tasa ovulatoria.

Los principales objetivos del presente trabajo son: a) corroborar el efecto de la introducción de machos sobre la sincronización del celo; b) analizar su asociación con el momento de la introducción de los machos y con la etapa fisiológica en que se encuentra la oveja (fase del ciclo estral) al insertar el pesario.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 CICLO ESTRAL.

La especie ovina es poliéstrica estacional, tiene una estación sexual determinada por la cantidad diaria de horas luz, extendiéndose desde primavera hasta inicios del invierno variando según la raza. La estación sexual o de cría es el periodo durante el cual la oveja está apta para la reproducción, se integra por una serie continua de ciclos estrales u ováricos (Bonino Morlán y Hughes, 1996; Duran de Campo, 1980).

Esta actividad cíclica del ovario se pone de manifiesto a través de un comportamiento sexual: el estro o celo (Fernández Abella, 1993): El término ciclo ovárico es definido como el intervalo que hay entre dos ovulaciones sucesivas y está constituido por una sucesión de eventos: estro; ovulación; formación, desarrollo y regresión del cuerpo lúteo (Cunningham, 1992). La duración promedio es de 17 +/- 2 días (Schrick et al., 1993; Ravindra, 1994).

La regulación del ciclo sexual y todo lo relacionado con el funcionamiento de los órganos sexuales, corresponden a relaciones hormonales. Estas relaciones son mecanismos de retroalimentación (feedback) hormonales negativos o positivos dentro del eje hipotálamo-hipófisis-gametos, el cual juega un rol muy importante en el control de la reproducción de machos y hembras (Scaramuzzi et al., 1993; van Lier, 1998).

Las principales hormonas que regulan el ciclo ovárico en las ovejas son liberadas por el hipotálamo (GnRH), la glándula pituitaria (L.H. y F.S.H.), los folículos (estradiol e inhibina), los cuerpos lúteos (progesterona y oxitocina) y el útero (prostaglandina $F_{2\alpha}$) (Scaramuzzi et al., 1993).

El cerebro de los ovinos recibe estímulos externos e internos, información que es procesada, amplificada y transmitida mediante impulsos hormonales del hipotálamo (van Lier, 1998). Cuando ésta glándula es estimulada, secreta la neurohormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), también conocida como gonadoliberina. Su secreción es controlada por el "pulsar" o unidad generatriz de pulsos y es vertida en forma pulsátil a la circulación sanguínea, a través del sistema porta hipofisario. Su acción se desarrolla sobre las gonadotropinas en el lóbulo anterior de la hipófisis (adenohipófisis) (Fernández Abella, 1993; Scaramuzzi et al., 1993).

La liberación de GnRH por lo tanto, induce a la liberación de hormona folículo estimulante (F.S.H.) y hormona luteinizante (L.H.) al torrente sanguíneo (Cunningham, 1992). Estas hormonas proteicas estimulan la gametogénesis e inducen la producción de esteroides sexuales (Gibbson, 2000). Los esteroides tienen profundos efectos en diferentes tejidos del cuerpo y estimulan características sexuales secundarias. Además participan en la regulación de la reproducción, principalmente a través de la acción

inhibitoria en el hipotálamo y la hipófisis (Hafez, 1984). Sin embargo en el caso de las hembras, el estrógeno también tiene un efecto estimulante justo antes de la ovulación, cuando induce el pico preovulatorio de gonadotropinas (van Lier, 1998).

La F.S.H. estimula el crecimiento y maduración del folículo ovárico. Por si misma no causa la secreción de estrógenos a partir del ovario, pero en presencia de L.H. si lo hace. Las oleadas de L.H. y F.S.H. también inducen la fases finales de la maduración del ovocito (Dailey et al., 1982; Hafez, 1984).

La liberación de estrógenos se da principalmente por la acción de las gonadotropinas en los ovarios más precisamente en aquellos folículos cuyo antro ya esté formado. El estrógeno de mayor secreción por parte de los folículos es el estradiol 17β (Fernández Abella, 1993).

La inhibina produce inhibición en la liberación de F.S.H. por la hipófisis sin alterar la liberación de L.H. y participa en la liberación diferencial de la L.H. y F.S.H. por la hipófisis (Hafez, 1984). A su vez la estatina produce inhibición en la liberación de L.H. (Blanc et al., 1993).

La secreción de progesterona es estimulada por la L.H.. Las altas concentraciones de progesterona inhiben el estro y la oleada ovulatoria de la hormona luteinizante (Dailey et al., 1982; Hafez, 1984). A su vez la progesterona actúa sinérgicamente con los estrógenos en la preparación del aparato reproductor para la implantación embrionaria (Hafez, 1984).

Hay diferencias básicas en las vías por las que el feedback ovárico actúa en el control de la F.S.H. y la L.H. en la oveja. La secreción de F.S.H. es controlada primariamente por la acción sinérgica del estradiol y la inhibina en la pituitaria anterior, mientras que la secreción de L.H. es estimulada durante la fase folicular por un efecto del estrógeno a nivel de la pituitaria y durante la fase luteal inhibida por la acción sinérgica del estradiol y progesterona a nivel hipotalámico. La Inhibina, u otros factores del fluido folicular no esteroide podrían también jugar un rol menor en el control de la secreción de L.H. (Martin et al., 1988; Joseph et al., 1995).

A través del hipotálamo, los estrógenos ejercen control por retroalimentación, tanto positiva como negativa sobre la liberación de L.H. y F.S.H.. El efecto negativo se ejerce sobre el centro de secreción tónica en el hipotálamo, mientras que el positivo actúa en el centro de secreción preovulatoria (Hafez, 1984).

Desde el punto de vista histológico y como consecuencia de los distintos niveles de estrógeno alcanzados, son notorios los cambios producidos en los epitelios de los genitales, lo cual ha permitido diferenciar dentro del ciclo, cuatro estados distintos: proestro, estro, metaestro y diestro (Duran de Campo, 1980).

Hay diferentes concepciones entre autores y teorías sobre estas etapas en cuanto a los procesos que abarcan y su duración. Sin embargo hay cierto acuerdo en

que el ciclo estral se compone por dos fases una folicular (proestro y estro) gobernada por las gonadotropinas y los estrógenos (E_2) y otra luteal (metaestro y diestro) gobernada por la progesterona (P_4) principalmente.

En general, el sistema generador del pulso para la secreción de gonadotropinas se ve aumentado en la fase folicular y disminuido en la fase luteal del ciclo estral. Esto se debe a que durante la fase folicular aumenta la frecuencia del pulso debido a la ausencia de progesterona y la amplitud del pulso disminuye debido a la presencia de estrógenos. Esta combinación es importante para nutrir la fase de crecimiento final del folículo antral en desarrollo (Cunningham, 1992; Fernández Abella, 1993).

La primer fase comienza en el día 14-15 del ciclo. Comprende el proestro, cuya duración es de 3 días, caracterizado por la lisis del cuerpo lúteo así como por el tiempo final del crecimiento y maduración folicular; y el estro que comienza con la manifestación del celo y termina generalmente con la ovulación (Fernández Abella, 1993; Gibbson, 2000).

En proestro los receptores uterinos de oxitocina son inducidos por el estradiol en el endometrio y son activados por la secreción pulsátil de oxitocina hipofisaria u ovárica. Esto determina que cada pulso de oxitocina se corresponde con uno de prostaglandinas $F_{2\alpha}$ de origen uterino, que actúa por distintos mecanismos con acción luteolítica (Gibbson, 2000).

La $PGF_{2\alpha}$ es el agente luteolítico natural que termina la fase del cuerpo amarillo y permite el inicio de un nuevo ciclo estral, siempre y cuando no se de la fecundación (Hafez, 1984; Campbell y Scaramuzzi, 1995).

El día 13 se alcanza suficiente concentración de prostaglandina, por lo que la concentración de progesterona cae y llega a los menores niveles del ciclo. La secreción de estradiol comienza a incrementarse en respuesta a un aumento en la frecuencia de los pulsos de L.H ya que la secreción tónica de esta gonadotropina aumenta por la liberación del feedback sobre la GnRH (Gust et al., 1984; Driancourt et al., 1985; Martin et al., 1988; Scaramuzzi et al., 1993). Este aumento en la secreción de L.H. culmina en un pico de secreción de estradiol que dispara el pico preovulatorio de GnRH y gonadotropinas. Después de esto la secreción de estradiol decrece rápidamente y permanece en los niveles más bajos a partir del pico de L.H.. Las concentraciones de progesterona persisten bajas desde el inicio de la fase folicular, hasta 2-3 días después de la ovulación (Gust et al., 1984; Scaramuzzi et al., 1993).

La concentración de estrógeno aumenta durante y luego de la luteolisis y se hace máxima justo antes del pico preovulatorio de L.H., para transformarse en imperceptible luego de la ovulación, ya que los folículos secretores de esta hormona, son removidos (por la ovulación o atresia). Esto es agudizado cuando la tasa ovulatoria es mayor (Schrück et al., 1993; Campbell y Scaramuzzi, 1995) ya que las oleadas de estradiol coinciden con las oleadas de crecimiento folicular (Scaramuzzi et al., 1993).

La secreción pulsátil de L.H. estimula las células de la teca a sintetizar andrógenos y, la de F.S.H., estimula la actividad aromataza, o sea la conversión de los mismos a estrógenos por las células de la granulosa (Baird, 1983; Hafez, 1984; Dobson et al., 1997; González de Bulnes et al., 1998).

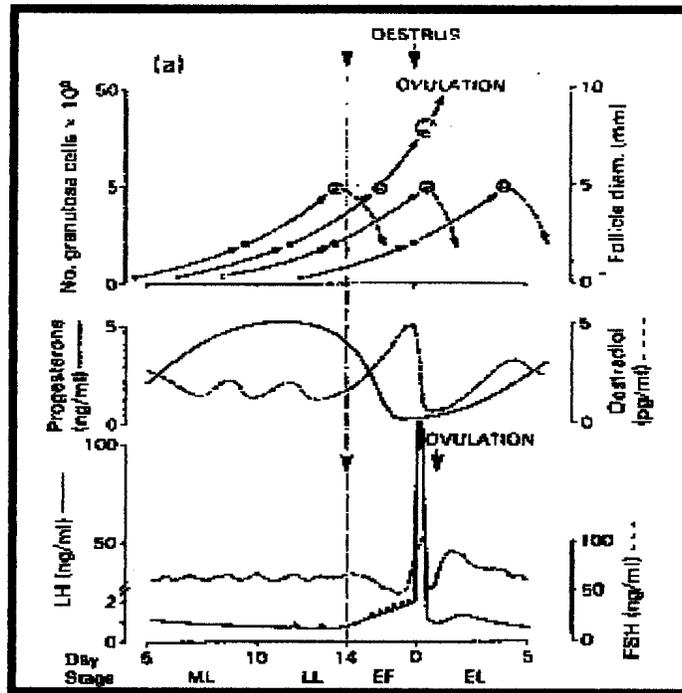


Figura N°1. Desarrollo del folículo preovulatorio en ovinos. En ovinos, el desarrollo folicular continúa durante la fase luteal, debido a los altos niveles de FSH (Baird, 1983).

La F.S.H. activa la maduración del folículo, mientras que la L.H. completa esta maduración y propicia la secreción de estrógeno, que por su mecanismo de feedback, sobre la hipófisis, frena la producción de F.S.H. y estimula mas aún la de L.H.. (Durán del Campo, 1980).

La luteolisis, por lo tanto va acompañada por un detrimento en la concentración de F.S.H., especialmente en ovejas con alta tasa ovulatoria, debido al feedback negativo que produce el estradiol. Esta hormona gonadotrópica alcanza el mínimo de concentración entre las 24 y 36 h de iniciada la luteolisis y permanece baja hasta el pico preovulatorio de L.H. y F.S.H.. Luego la concentración aumenta nuevamente y permanece estable hasta la siguiente luteolisis (Scaramuzzi et al., 1993; Campbell y Scaramuzzi, 1995).

Esta baja del 30% en la concentración de F.S.H. justo antes del pico preovulatorio de gonadotropinas se explica por la máxima secreción de estradiol. El estradiol inhibe la secreción de F.S.H., y se puede decir que estos dos eventos están

relacionados. Por lo tanto la secreción de estradiol del folículo preovulatorio es la responsable de la supresión de la F.S.H. en esta etapa, aunque la secreción simultánea de otros factores, por ejemplo inhibina actúa sinérgicamente en la glándula pituitaria con el estradiol para controlar a la gonadotropina (Martin et al., 1988; Baird, 1983).

Sin embargo Rozell y Keisler en 1990 concluyeron que el aumento preovulatorio y el subsecuente descenso en los niveles de estradiol no son responsables del pico de F.S.H.. Los estrógenos regulan la secreción de F.S.H. de diferente manera que a la de L.H., y el pico preovulatorio de F.S.H. puede estar mediado por otros factores ováricos. Por otro lado podría ser que el pico de F.S.H. se de con mayores niveles de estradiol que los necesarios para inducir el pico de L.H..

Como ya se dijo La concentración de L.H. aumenta hasta el pico preovulatorio, y esto produce mayor secreción de estrógenos produciéndose el estro (Campbell y Scaramuzzi, 1995).

El estro (ver capítulo 2.2) comienza a partir de un cambio en el comportamiento de la hembra que se manifiesta con la receptividad sexual, debido a los altos niveles estrogénicos (Gibbson, 2000) y se presenta solo si el animal ha sido previamente expuesto a la progesterona ya que la misma actúa sensibilizando los tejidos receptivos al estrógeno (Duran del Campo, 1980).

El pico de L.H. se da aproximadamente 20 h después que los niveles de estradiol empiezan a crecer y no depende de las concentraciones de estrógeno en el propio momento del pico. El tiempo en el que es da este pico y su magnitud depende de la tasa de estrógenos que halla recibido el centro hipotalámico de la L.H. (Rozell y Keisler, 1990).

La oleada preovulatoria de la hormona luteinizante causa la ruptura de la pared folicular (capítulo 2.3) y se produce la ovulación (Quirke et al., 1979; Durán del Campo, 1980; Hafez, 1984).

La liberación basal de F.S.H. no depende mayormente de la secreción de la GnRH, sin embargo si lo es el primer pico que es coincidente al de L.H. (Dobson et al., 1997).

Un segundo pico de F.S.H. se observa a las 24-36 h después del pico de L. H.. Este se debe al descenso de los estrógenos por la atresia de los folículos mayores y por la acción de la L.H. preovulatoria, no pudiendo ser inhibido por la inmunoneutralización de la GnRH (Cahill et al., 1981; Gibbson, 2000). Se asocia a este segundo pico de F.S.H. con la atresia de los folículos no ovulatorios mayores, ya que dejan de producir estrógenos (Cahill et al., 1981; Dobson et al., 1997). Luego los niveles de la hormona descienden gradualmente hasta el día 4 o 5 del ciclo estral (Gibbson, 2000).

La fase luteal comprende el metaestro y diestro, tiene una duración media de 14 días, comenzando luego de la ovulación con la formación del cuerpo hemorrágico a partir del folículo que ha ovulado. Posteriormente este se constituirá en un CL, y finalizará su actividad biológica con la luteolisis (Duran del Campo, 1980; Gibbson, 2000). Durante esta fase, la actividad del sistema hipotalamo-hipofisario es dominado por los efectos inhibitorios del estradiol y la progesterona reduciendo la frecuencia de pulsos de GnRH (Martin et al., 1988). Se considera a la fase luteal, como un periodo predeterminante para la futura expresión del estro y la fertilidad de la ovulación (Gibbson, 2000).

La secreción tónica de las gonadotropinas es mantenida en equilibrio por el feedback negativo: a) a nivel hipotalámico, los niveles de progesterona y estradiol actúan en forma sinérgica regulando el sistema que controla el mecanismo tónico de secreción de GnRH; b) a nivel hipofisario, el estradiol e inhibina sinérgicamente inhiben la secreción de F.S.H. (Martin et al., 1988; Campbell y Scaramuzzi, 1995; Gibbson, 2000).

El metaestro, periodo pos-ovulatorio, se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo que implica la ovulación, y se extiende hasta aproximadamente el día 5-7 del ciclo. Esta etapa es continuada por el diestro, caracterizado por un cuerpo lúteo totalmente desarrollado, extendiéndose hasta el día 14. Si se produce la fecundación esta fase continua durante toda la preñez (Duran del Campo, 1980; Fernández Abella, 1993).

La propia L.H. actúa sobre las paredes del folículo provocando la multiplicación celular y luteinización de las células de la granulosa y teca interna, dando lugar al nacimiento de la pequeña glándula denominada cuerpo lúteo o amarillo (Duran del Campo, 1980). La presencia de un nuevo cuerpo lúteo se detecta por primera vez el cuarto o quinto día de producido el estro y comienza a regresar cerca del catorceavo día (Schrack et al., 1993).

Por lo tanto después de la ovulación, un cuerpo lúteo es formado a partir del folículo y secreta progesterona, la cual impide futuras ovulaciones y es muy necesaria para permitir el siguiente periodo de receptividad sexual, además de permitir el establecimiento de la preñez (Cunningham, 1992; Scaramuzzi et al., 1993). Esta hormona en sangre produce bajo nivel basal de L.H. y F.S.H. y disminuye la frecuencia de su pulsatilidad (Duran del Campo 1980; Martin et al., 1983).

A partir de las 36 h de originado, el CL aumenta de volumen en forma abrupta hasta los 5 días (fin del metaestro). Continúa desarrollándose lentamente hasta el décimo día, para posteriormente comenzar a decrecer (lentamente primero y aceleradamente luego) al comenzar el proestro (alrededor de los 13 a 14 días), desapareciendo 4 o 5 días más tarde (Duran del Campo, 1980). De esta manera la concentración de P4 aumenta durante el ciclo estral, siendo entre los días 1 y 8 en promedio $1,5 \pm 0,1$ ng/ml, y llegando al máximo el día 13 ($2,0 \pm 0,1$ ng/ml). El día 14 la

progesterona comienza a decrecer (Scaramuzzi et al., 1993; Schrick et al., 1993; Dobson et al., 1997; Husein et al., 1998).

Sin embargo la concentración de la progesterona está altamente correlacionada con el área media de los cuerpos lúteos (Schrick et al., 1993) y a mayores tasas ovulatorias se presentan mayores niveles de progesterona en sangre (Campbell y Scaramuzzi, 1995), alcanzando un tope de crecimiento en su concentración cuando se forman 4 cuerpos lúteos.

Las concentraciones de estradiol descienden después de las oleadas de ambas gonadotropinas y, las manifestaciones psicológicas del estro se abaten (Hafez, 1984). Durante los primeros 4 días del ciclo continúan decreciendo, y luego se mantiene constante hasta el día 11 del ciclo donde se hace mínima y empieza a crecer para llegar a un pico de $31,1 \pm 3,7$ pmol/l el día anterior a la ovulación (Ravindra et al., 1994).

Sin embargo Schrick et al. en 1993 concluyen que durante el metaestro la producción sérica del estradiol es baja en relación con los niveles estrales pero aumenta, al igual que aumentan las diferencias de los folículos más grandes con respecto al resto. La concentración de E2 decrece pasado del día 5 mientras que crece la de P4.

Si bien la restricción en la secreción gonadotrópica es suficiente para inhibir la posibilidad de ovular, no se detiene el desarrollo folicular. Bajo el control gonadotrópico los folículos crecen, sin entrar en la fase final de su desarrollo (Campbell y Scaramuzzi, 1995; Gibbson, 2000).

La duración de niveles elevados de progesterona determina, por retroalimentación con los receptores a la oxitocina del útero, el momento de incremento de la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$, siendo necesario un periodo mínimo de 9 a 10 días de niveles altos de progesterona para que se desencadene el proceso de la luteolisis (Fernández Abella, 1993).

2.2 CELO.

El celo o estro es definido como el periodo en el cual la oveja admite el servicio del carnero (Duran del Campo, 1980). Cuando se termina el proestro se llega a determinado equilibrio endocrino en el cual se alcanzan ciertos niveles estrogénicos. Esto desencadena cambios en el comportamiento de la hembra, que se manifiesta con la receptividad sexual en los momentos cercanos a la ovulación (Gibbson, 2000).

En los ovinos el estro es relativamente poco notable, y no se observa en ausencia de machos no castrados u ovejas androgenizadas. Es posible que la vulva se

muestre edematosa, y que sea evidente una secreción de moco por la vagina, pero de todas modos es difícil detectar el estro en ausencia del macho (Hafez, 1984).

Es de gran importancia conocer el momento de inicio del celo y su duración para las prácticas reproductivas de manejo tales como la inseminación artificial (Durán del Campo, 1980), el trasplante de embriones (Bonino Morlan et al., 1989), la monta a corral dirigida. El inicio del celo está estrechamente vinculado al momento del pico de L.H. y por lo tanto al de ovulación (Durán del Campo, 1980), así como la duración está correlacionado con la tasa ovulatoria (Hafez, 1984) y el tiempo de transporte espermático con que se cuenta luego de la inseminación.

En función del momento de manifestación del celo se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de fertilidad. Las ovejas que manifestaron celo en las primeras 48 h tuvieron mayores porcentajes de fertilidad que las que lo hicieron más tarde o no lo hicieron (Azzarini y Valledor, 1990). A su vez existe una relación entre la duración del estro natural y el número de ovulaciones (Colas et al., 1968; Hafez, 1984).

El inicio, duración y por lo tanto final del celo depende de varios factores: el peso vivo y la condición corporal (Fernández Abella et al., 1997), la edad, la raza (Duran del Campo, 1980; Quirke et al., 1981), el contacto con machos (Signoret, 1980; Azzarini y Valledor, 1990; Romano et al., 2000; Romano et al 2001), el método de sincronización (Quispe et al., 1994; Godfrey et al., 1997) el tipo y dosis de gonadotropina (Quirke et al., 1979; Eppleston et al., 1991), estación del año (Hafez, 1984; Knight et al., 1992; Fernández Abella et al., 1997), y el manejo en general.

La señal fisiológica que inicia la motivación sexual es la secreción de estrógenos (Hafez, 1984). Estas hormonas actúan a nivel del SNC para inducir el estro conductual de la hembra. En las ovejas sin embargo, son necesarias pequeñas cantidades de progestágeno además del estrógeno para inducirlo (Duran el Campo, 1980; Hafez, 1984). Por ésta razón la primer ovulación de las ovejas en la pubertad o al inicio de la temporada reproductiva no es acompañada por estro, porque solo hay estrógeno en circulación periférica (Hafez, 1984).

El aumento preovulatorio en los niveles de estrógeno es necesario para que se dé el estro (Quirke et al., 1979), produciéndose búsqueda de macho por parte de las ovejas, receptividad a los machos, pérdida de apetito, además de que el mucus del cérvix se vuelve acuoso, claro, sin células e isotónico, formando micelas orientadas paralelamente al eje del cérvix, favoreciendo todo ello el transporte y la vida de los espermatozoides que refugian en las criptas epiteliales del cérvix (Durán del Campo, 1980; Fernández Abella, 1993). En la oveja las concentraciones sanguíneas máximas (5 a 10 pg/ml) de estrógeno se presentan unas 24 h antes de iniciado el estro, cuando comienzan a aumentar los niveles de L.H.(Hafez, 1984; Gibbson, 2000).

Entre las 5 a 20 h de iniciado el estro, se presenta el pico de L.H., este es variable en el tiempo y está supeditado a la raza. El periodo entre el pico de L.H. a la

ovulación es bastante constante, con una duración de 22 a 26 h (Gibbson, 2000). Junto a éste pico también se produce el de F.S.H. (ver ciclo estral).

Se estima que la duración del celo en promedio es entre 24 y 36 horas en las ovejas adultas y de algunas horas menos en las borregas (Hafez, 1984). Además existe una correlación positiva entre la condición corporal y la duración de celo ($r=0,25$; $P=0,028$) (Fernández Abella et al., 1997).

Fernández Abella et al. en 1997 trabajando con ovejas Corriedale, Ideal y Merino australiano sincronizadas con esponjas vaginales (60 mg de MPA) en la estación de cría, encontraron que la duración del celo presentó una distribución normal con rango de 8 a 48 h, siendo la media de 23 h; no observándose diferencias raciales.

El inicio del celo luego del retiro de esponjas se adelanta y se sincroniza por el contacto continuo con machos (Signoret, 1980; Romano et al., 1999). Sin embargo no se encuentran diferencias de duración del celo por esta causa (Romano et al., 1999). Esto se contradice con lo expresado por Hafez en 1984 de que la duración del estro es menor en presencia del macho.

Las gonadotropinas exógenas tienen efectos significativos sobre el estro ya sea adelantándolo (luego de retiradas las esponjas) y sincronizándolo (Knight et al., 1992; Husein et al., 1998), así como sobre la duración del mismo ya que lo acortan (Knight et al., 1992).

La cópula suele prolongar la oleada de hormona luteinizante, modificándose el momento de ovulación. Esto ocurre en todas las especies de ovulación espontánea como los ovinos (Hafez, 1984). Además acorta en una o dos horas la duración del estro en los ovinos (Duran del Campo, 1980). A su vez Romano y Fernández Abella en 1997 trabajando con cabras obtuvieron que el servicio por sí mismo disminuye la duración del celo, ya que a un grupo de cabras al que se le permitió y otro al que no se le permitió el servicio fue de 26,7 +/- 7,1 h y de 36,0 +/- 8,0 h respectivamente ($P<0,01$). Sin embargo no existe ninguna relación ($P>0,10$) entre el número de montas y la duración del estro (Fernández Abella et al., 1997).

Cabe decir por último que no existen diferencias significativas ($P>0,10$) en el número de ovejas que comienzan el celo en los distintos momentos del día, ni tampoco existe relación entre el momento de inicio y la duración del celo, descartándose influencia de ciclos circadianos hormonales (Fernández Abella et al. en 1997).

2.3 FOLICULOGÉNESIS y OVULACIÓN.

Por ovulación se entiende el acto de ruptura del folículo maduro y la liberación del ovocito secundario. No existe en la oveja ningún síntoma externo que permita conocer el momento exacto en que ello se produce (Quirke et al., 1979; Duran del Campó, 1980).

Para llegar al momento de la ovulación los folículos sufren un proceso de crecimiento y maduración llamado foliculogénesis. La duración total del crecimiento folicular es de más de 20 días y quizás hasta de seis meses (Hafez, 1984).

En este proceso se pueden diferenciar dos fases de desarrollo. Una basal (pre antral) y una tónica (antral). La fase inicial comprende la recuperación de folículos primordiales en fase de detención del desarrollo y su incorporación a la fase de crecimiento hasta alcanzar al estadio de folículo preantral o primario. Esta fase no depende de las gonadotropinas hipofisarias (Hafez, 1984; González de Bulnes et al., 1998).

En la segunda etapa, llamada tónica, por una serie de cambios morfológicos y en la receptividad hormonal, se da la maduración del oocito, comenzando la formación del antro folicular (cavidad o seno), dentro del cual comienzan a acumularse hormonas. En ésta etapa los folículos se desarrollan escalonadamente para determinar folículos preovulatorios o de Graff, hasta el momento en que se da la descarga de gonadotropinas, que induce la ovulación (Fernández Abella, 1993; González de Bulnes et al., 1998). El crecimiento final de los folículos en ovejas y vacas ocurre en un lapso de 25 a 34 días (Hafez, 1984).

Hay diferentes formas de clasificar a los folículos, pero en general hay acuerdo en que los folículos cuyo antro ya está formado superan los 2 mm de diámetro. Dentro de los folículos antrales se consideran folículos grandes aquellos ≥ 6 mm, medios de 4 a 5 mm y pequeños de 2 a 3 mm (López Sebastián et al., 1997).

Al desarrollo primario de un gran número de folículos que llegan a antrales (reclutamiento), sigue la selección de uno o más folículos dominantes y la regresión de todos los otros folículos subordinados (López Sebastián et al., 1997).

El crecimiento de los folículos es causado por las concentraciones de estradiol y testosterona, para los cuales aparecen receptores en fases muy tempranas del folículo primario, pero actúan también factores de crecimiento como el factor insulínico de crecimiento IGF-1, la activina. (González de Bulnes et al., 1998; Gibbson, 2000).

El equilibrio endocrino en estos procesos es sumamente sensible. La F.S.H. y la L.H. ejercen un efecto sinérgico en el desarrollo y en la ovulación de los folículos ováricos. La hormona F.S.H. actúa sobre el folículo estimulando su maduración y crecimiento, pero la maduración completa del folículo no puede llevarse a cabo sin la

colaboración de la L.H., entre ambas propician la secreción de estrógeno (Duran del Campo 1980; Cunningham, 1992).

La F.S.H. sintetizada en la adenohipófisis estimula la división de las células de la granulosa, la formación y el crecimiento folicular, en forma sinérgica con los estrógenos y otros factores. La manera exacta por la cual la F.S.H. activa el desarrollo folicular es desconocido, sin embargo parece ser que es necesaria para convertir los pequeños folículos antrales sanos a estructuras capaces de generar grandes cantidades de estrógeno (Gibbson, 2000).

La emergencia del folículo ovulatorio ocurre bajo condiciones de secreción de F.S.H. reducidas. Los folículos emergidos con mayores concentración de ésta hormona, o sea aquellos que sean reclutados más temprano en el proestro serán probablemente los que ovulen (Ravindra et al., 1994).

La tasa de crecimiento diaria de todos los folículos es mayor en proestro que en el resto del ciclo pero los folículos mayores crecen más en proporción durante el metaestro e inicio del diestro. Sin embargo la mayor tasa de crecimiento se da el día antes al estro (López Sebastián et al., 1997; González de Bulnes et al., 1998). La tasa de crecimiento de los folículos es mayor a medida de que su emergencia es más tarde en el ciclo. La tasa de regresión no varía entre los folículos emergidos en diferentes momentos, sin embargo el período de regresión es mayor en aquellos folículos mayores emergidos al final del ciclo (Ravindra et al., 1994).

Ciertos mecanismos parácrinos y autócrinos parecen aumentar la sensibilidad de los folículos preovulatorios a la F.S.H. y resulta en la expresión de receptores a la L.H. en las células de la granulosa (Scaramuzzi et al., 1993; González de Bulnes et al., 1998). De esta manera los folículos seleccionados son capaces de beneficiarse por el aumento de andrógeno, incrementando la capacidad de los folículos de secretar estrógenos producido por las células de la teca en respuesta al aumento en la secreción de L.H., en el momento en que las concentraciones séricas de progesterona comienzan a decrecer (Webb y England, 1982; Baird, 1983; Scaramuzzi et al., 1993; Ravindra et al., 1994).

En los folículos no ovulatorios se encuentran elevadas concentraciones de testosterona, esto está correlacionado en forma negativa con bajas concentraciones de estradiol, y se explica por falta de actividad aromataza (de inactivación) asociado a la caída en la concentración de L.H. receptores y no debido a una carencia de la hormona precursora del estrógeno (Webb y England, 1982; Webb et al., 1989).

El incremento en la concentración de estrógeno circulante, tiene efecto positivo sobre el hipotálamo, al inducir la liberación de GnRH; ello da por resultado la oleada preovulatoria de L.H. y F.S.H.. Este pico de gonadotropinas es la causa de la ovulación y dura de 6 a 8 h. (Hafez, 1984).

La dominancia folicular en los ovinos es un fenómeno más débil que en bovinos (Ravindra et al., 1994). Una continua entrada, crecimiento y atresia de folículos se

ajusta al concepto de ausencia de dominancia, permitiendo la presencia de folículos de diferentes tamaños. Esto es necesario para las posibles ovulaciones múltiples (Schrick et al., 1993).

No hay evidencia de que los folículos no ovulatorios que crecen al menos hasta 6 mm en diámetro y se mantienen por lo menos entre 6 y 7 días, supriman el desarrollo de los otros folículos menores (López Sebastián et al., 1997), sin embargo uno o más folículos mayores producen significativamente más estradiol que los folículos menores (Webb y England, 1982).

A pesar de lo expresado sobre la dominancia, en los ovinos hay picos de actividad folicular en comparación a un nivel constante y basal (Schrick et al., 1993). Por otra parte algunos investigadores señalan que existen ondas de crecimiento folicular en los ovinos. En caso de que esto realmente se constatará, tendría un efecto importante en la ovulación siguiente al posible retiro de las esponjas sincronizadoras, ya que a nivel de campo no se conoce en que momento del ciclo estral se introducen los pesarios y por lo tanto cual sería el desarrollo folicular a los 14 días (momento de retiro).

La presencia de ondas de crecimiento folicular puede deberse a la secreción de picos de F.S.H.. Sin embargo, no siempre hay un patrón de correspondencia F.S.H./mayor crecimiento folicular. En el ovino, la presencia o ausencia de ondas de crecimiento folicular es un tema controvertido (Gibson, 2000). Por lo tanto debemos ser cautelosos antes de concluir que en las ovejas existen ondas de desarrollo folicular a intervalos de tiempo similares, la evidencia del crecimiento folicular en ondas es muy débil y nunca ha sido estadísticamente documentado (Driancourt et al., 1985).

Ciertos autores considerando un tamaño mínimo de diámetro folicular de 5 mm, constatan ondas de crecimiento folicular cada 6 días, aún durante la preñez y el anestro estacional. Esto determina 3 ondas en un ciclo, la primera comienza el día de la ovulación, la segunda el día 5,5 y la tercera el día 10. Estas ondas como se dijo, estarían asociadas a fluctuaciones en la F.S.H. (Ginther et al., 1995; Miller et al., 1981; Leyva et al., 1995; Noel et al., 1993, 1994; citados por López Sebastián et al., 1997)

Sin embargo cuando se consideran todos los folículos antrales, se concluye que a pesar de que crecen folículos durante la mayor parte del ciclo, que se dan dos periodos de mayor desarrollo folicular. Hay una emergencia significativamente mayor los días 2 y 11 del ciclo, lo que muestra una tendencia de dos fases de crecimiento y regresión, una al inicio del estro y la otra en la segunda mitad del ciclo. Esto estaría pautado por la regulación del desarrollo folicular que ejerce la progesterona, a través del control de la liberación de L.H. (Dailey et al., 1982; Schrick et al., 1993).

López Sebastián et al. en 1997 concluye que las ovejas Merino tienen un patrón de desarrollo folicular durante el ciclo estral que difiere de las 2 o 3 ondas establecidas para el ganado vacuno, o reportadas en ovinos para ciertas razas (Noel et al., 1993, 1994, citados por López Sebastián et al., 1997). De hecho, un promedio de 8 folículos

diferentes pasan a ser mayores en distintos momento del ciclo y 5 o más de estos adquieren un diámetro ≥ 5 mm. Schrick et al. en 1993 reportó que 5 folículos diferentes pasan a ser mayores durante un ciclo estral, y en los primeros 16 días de preñez en ovejas con alta tasa ovulatoria (2,7). Un valor similar (4,4) puede obtenerse de los datos graficados por Ravindra et al. en 1994.

Por consiguiente no se puede considerar que la dinámica folicular sea semejante a la bovina: Desarrollo de un gran número de folículos antrales (superiores a 2 mm de diámetro) seguida de la selección de un folículo dominante y la regresión de todos los otros folículos subordinados (Mertens et al., 1997; Gibbson, 2000).

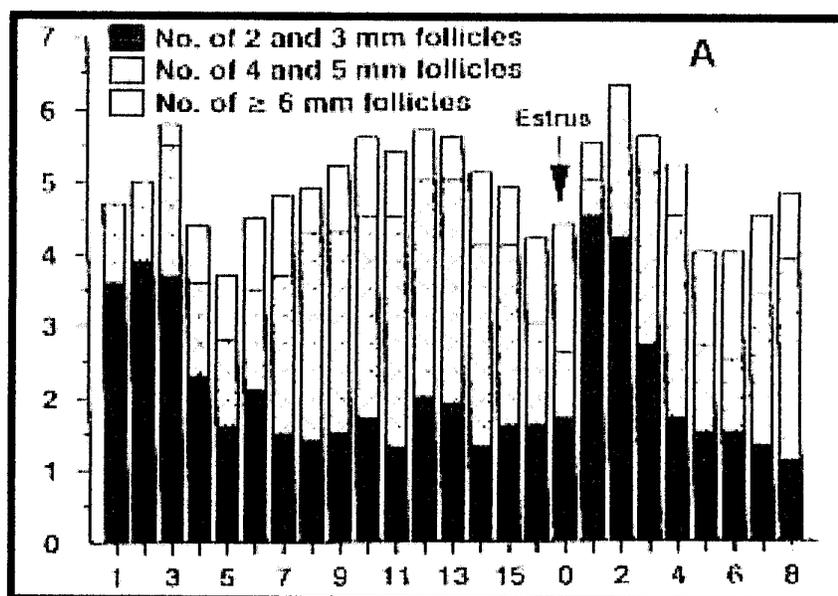


Figura N° 2. Número total de folículos, y número de folículos de las diferentes clases de tamaño, según días del ciclo estral (Schrick et al., 1993).

El hecho de que se den o no ondas foliculares en ovinos es probablemente menos importante que el hecho de que, durante la estación sexual, las ovejas parecen tener siempre uno o más folículos prontos para ovular. Pudiendo variar sin embargo el tiempo desde la luteólisis a la ovulación por el estado de los folículos, ya que los folículos ≥ 3 mm no ovulatorios se mantienen presente durante 2,9 días aproximadamente (Schrick et al., 1993).

Durante el ciclo el número total de folículos ≥ 2 mm en diámetro aumenta desde el inicio hasta la mitad del mismo y cae del día 13 a 17 del ciclo. El número total de folículos ≥ 3 mm en diámetro aumenta desde el inicio del ciclo hasta el final del mismo, pero decrece en los días 16 y 17. Solo el 34% de los folículos muestran una

meseta en su curva de crecimiento y la duración promedio de esta fase es de $1,3 \pm 0,2$ días, luego comienzan a regresar (Ravindra et al., 1994).

A medida que el estro y la ovulación se acercan en el tiempo, la emergencia de nuevos folículos desciende, el número total de folículos medios y pequeños disminuye linealmente, y la diferencia en tamaño entre el folículo ovulatorio y el segundo mayor, se duplica prácticamente en un solo día (López Sebastián et al., 1997). Esto difiere de lo expresado por Campbell y Scaramuzzi en 1995 de que el número de folículos pequeños y grandes no varían durante el ciclo.

2.3.1 Reclutamiento y Selección.

Durante el proceso de reclutamiento se produce la diferenciación del folículo secundario, que por definición es todo folículo con un "antrum" o cavidad llena de líquido (todos aquellos de diámetro mayor a 2 mm) (Driancourt et al. en 1985; López Sebastián et al., 1997; González de Bulnes et al., 1998).

Si bien el proceso comienza al final de la fase luteal, puede continuar durante la fase folicular del ciclo estral. Los resultados muestran que el reclutamiento de folículos, incluyendo aquellos que ovularán, ocurre alrededor de las 48 h antes del pico de L.H. (72 h antes de la ovulación) y sugieren que probablemente coincida con la luteólisis, debido a la interacción de factores endocrinos y foliculares (estimulo de la F.S.H., sensibilidad del folículo a incrementos en la pulsatilidad de L.H.) (Driancourt et al., 1985; Fernández Abella, 1993). Los folículos ovulatorios están presentes desde alrededor de 4 días antes del estro (López Sebastián et al., 1997; Schrick et al., 1993; Ravindra et al., 1994).

El conjunto de folículos secundarios entra posteriormente en el proceso de selección que conduce a la diferenciación de un folículo terciario susceptible de ovular (Schrick et al., 1993; González de Bulnes et al., 1998).

La selección de los folículos dominantes en los ovinos no se da hasta la regresión luteal, ya que la lisis del cuerpo lúteo en cualquier etapa del ciclo estral es seguida por una ovulación a las 72 h aprox. Por lo tanto la selección de los folículos preovulatorios ocurre en la fase folicular temprana, proestro (Baird, 1983).

Esta etapa terminal del crecimiento folicular se caracteriza por la selección de uno o más folículos dominantes y la atresia de los otros. Entre el estado de folículo sano y el atrético existe un equilibrio muy frágil, habiendo mecanismos que permiten a un folículo continuar sano y por ende poder transformarse en dominantes (Fernández Abella, 1993).

Los criterios por los cuales se define la selección del folículo que va a ovular son, morfológicos (tamaño, nº de células de la granulosa y/o la teca) o su habilidad

“matadora” (por liberación de inhibina o estradiol). En todos los casos, el tiempo en que se produce la selección de folículos es altamente variable y los mecanismos no son totalmente conocidos. Ellos están dados por una compleja interacción de los folículos ováricos y el eje hipotálamo-hipofisiario, junto a regulaciones intraováricas, o sea uno de los folículos actúa inhibiendo la maduración del resto (Driancourt et al., 1985).

El folículo dominante se mantiene probablemente porque tiene altos contenidos de estradiol mientras los otros se atresian (Driancourt et al., 1985; Fernández Abella, 1993). A su vez, su mayor tamaño le facilita la fijación de mayor cantidad de L.H. sobre las células de la granulosa y de la teca. Asimismo existiría una proteína o factor intraovárico que suprime la respuesta folicular a las gonadotropinas (Fernández Abella, 1993).

En esta etapa, la F.S.H. también juega un rol importante sobre la esterogénesis estimulando la actividad de la enzima aromataza de las células de la granulosa. De este modo, los niveles de F.S.H., al incrementar la síntesis de $E_2-17\beta$, favorecen la determinación de los folículos dominantes (Fernández Abella, 1993). Los folículos dominantes serán aquellos que en el momento inicial de la luteólisis sean capaces de beneficiarse por las altas concentraciones de F.S.H. y por lo tanto equipar las células de la granulosa con la suficiente actividad aromataza para lograr altos niveles de estrógeno, ya que se produce un aumento en los andrógenos sintetizados en la teca, por el estímulo de la L.H. (Baird, 1983; Ravindra et al., 1994).

Las razones por las cuales los distintos folículos tiene diferentes umbrales de respuesta ovárica a la F.S.H. son desconocidas, ellas podrían ser constitutivas (calidad del oocito y células iniciales de la granulosa) o adquiridas durante el desarrollo folicular (diferenciación en los receptores de gonadotropinas o enzimas claves para la esteroidogénesis y la aparición de moduladores autócrinos de la función folicular) (Ravindra et al., 1994; Fry y Driancourt, 1996).

Los niveles crecientes de estradiol e inhibina secretados por los folículos dominantes a la vena ovárica suprimen la secreción de F.S.H., haciendo que aquellos folículos que tienen ciertas desventajas en lo que respecta a su desarrollo, queden desprovisto de la hormona. La caída en la concentración de F.S.H., que es un detrimento para todos los folículos excepto aquellos dominantes, puede ser bastante pequeña (Baird, 1983; Scaramuzzi et al., 1993).

2.3.2 Tasa ovulatoria.

La tasa ovulatoria de los mamíferos puede ser definida de dos maneras: 1) el número promedio de óvulos liberados en los animales que ovulan. El problema de esta definición es que no libera nunca tasas ovulatorias menores a uno ya que no incluye a los animales anovulatorios; 2) el número promedio de óvulos liberados en un grupo de animales. Esta definición incluye animales anovulatorios y por lo tanto puede dar

valores menores a uno. Los requerimientos fisiológicos para la ovulación probablemente sean diferentes de los que regulan el número de folículos que son liberados (Scaramuzzi y Radford, 1983). Por convención internacional entonces, se utiliza la primer definición, y los valores de tasa ovulatoria reportados en este trabajo han sido calculados en esta base.

Esta tasa refleja los procesos de reclutamiento y de selección. A mayor tasa de reclutamiento y menor presión de selección se da mayor tasa ovulatoria. Esta, es determinante en el momento de definir el potencial reproductivo de la oveja de cría mediante su efecto sobre la prolificidad, pero también sobre la fertilidad del rebaño (Azzarini 1992b). Puede ser influenciada por varios factores, uno de los principales es el genético (Azzarini, 1983; Hafez, 1984; Azzarini, 1985; Avdi et al., 1997). Las razas Corriedale, Ideal, Merino y Romney producen por lo general de 1 a 2 óvulos por celo (Duran del Campo 1980; Scaramuzzi et al., 1993). Por otro lado depende de la edad (haciéndose máxima entre los 3 y 6 años), la época del año, nutrición, momento dentro de la época reproductiva, condición corporal, peso, estrés, genotipo, los agentes farmacológicos y la presencia de machos (Azzarini 1983; Hafez, 1984; Azzarini, 1985, 1992a).

Estos factores pueden producir mayores tasas de 2 modos: 1) el número de folículos centrales que llegan al estado de desarrollo crucial puede crecer y entonces, la chance de que más de un folículo esté listo para ser beneficiado al darse la luteólisis es mayor (mayor reclutamiento); 2) el sistema hipotálamico-pituitario puede ser menos sensible al feedback negativo del estrógeno, y de ésta manera mayores niveles de estradiol pueden ser tolerados antes de que la secreción de F.S.H. sea suprimida (menor presión de selección) (Baird, 1983; Scaramuzzi et al., 1993).

De todos modos, en general la dominancia folicular en los ovinos es débil, ya que son animales de ovulación múltiple y que los folículos deben mantener el potencial para ovular hasta casi finalizado el estro (Ravindra, et al., 1994). Aquellas ovejas de mayor tasa ovulatoria presentan folículos más chicos, que aquellas con bajas tasas. Estos folículos tienen menos células de la granulosa y de la teca, y por lo tanto producen menos estradiol y testosterona. Sin embargo cuando la habilidad esteroidogénica es expresada a nivel de célula, es igual para folículos de ambos orígenes (Avdi et al., 1997).

Como ya se dijo la F.S.H. es la hormona reguladora del número de folículos destinados a ovular. Si bien el número de folículos reclutados es propio de cada individuo y de su sensibilidad a la gonadotropina (Gibbson, 2000), las ovejas que secretan mas F.S.H. son las que mayor tasa presentan (Avdi et al., 1997).

Cabe decir además que la caída de la concentración de ésta hormona es más brusca en la fase folicular media cuando el animal presenta alta tasa ovulatoria. Esto probablemente este explicado por diferencias en la sensibilidad pituitaria al feedback negativo al estradiol (Avdi et al., 1997).

La inhibina produce durante la fase folicular un feedback negativo sobre la concentración en plasma de F.S.H., no así con la L.H.. La interferencia con este feedback limita la habilidad de los folículos dominantes de suprimir el desarrollo de otros folículos y por lo tanto la tasa ovulatoria aumenta (Campbell y Scaramuzzi, 1995).

Como ha sido expresado antes aumentos en los niveles de F.S.H. se traducen en mayores tasa ovulatorias. Por lo tanto, un aumento en los niveles de GnRH también se traduciría de esta manera. Sin embargo no existe ninguna relación entre la tasa ovulatoria y la duración del pico de L.H. (Fernández Abella, 1993; Scaramuzzi y Radford, 1983). Por su parte Gibbson en 2000 concluye que si bien hay evidencia de que la tasa de ovulación no está correlacionado con la concentración de L.H. circulante, la misma desempeña una actividad importante en la inducción de la atresia folicular y consecuentemente afectaría la tasa ovulatoria.

Sin embargo los mayores niveles gonadotrópicos producen un efecto de acortamiento del celo (Knight et al., 1992). Esto no concordaría con lo expresado por Colas en 1968 y Hafez en 1984 en relación a que los ovinos y cerdos presentan una relación entre la duración del estro natural y el número de ovulaciones.

Por último cabe decir que Avdi et al. en 1997 encontraron que los resultados obtenidos en la tasa ovulatoria por medidas de manejo que modifiquen estas relaciones hormonales son más significativos que aquellos obtenidos por selección en las diferentes razas.

2.3.3 Momento de Ovulación.

El momento de ovulación puede ser afectado por la fuente de progestágenos (Ainsworth et al, 1982; Romano, 1996) el tipo y dosis de gonadotropina (Quirke et al., 1979; Eppleston et al., 1991; Dobson et al., 1997), la exposición al efecto del macho (Lindsay et al., 1975; Romano et al., 2001), el momento del año (Quirke et al., 1979) y probablemente también por el genotipo y edad de las ovejas (Quirke et al., 1981).

La liberación de GnRH y por lo tanto los picos de L.H. y F.S.H. son los principales factores en definir el momento de ovulación (Quirke et al., 1979). Por lo tanto, el momento de la ovulación varía más en relación al comienzo del celo, que al final del mismo (Duran del Campo, 1980). La ovulación se da generalmente 24 h después del pico de L.H. (Folch et al; 1988; Scaramuzzi et al., 1993).

En ovinos, el pico de L.H. ocurre al inicio del estro (Ainsworth et al., 1982), la ovulación se produce hacia el tercio final del estro (Folch et al; 1988). Tanto la oveja como la cabra son animales de ovulación espontánea. La oveja normalmente ovula hacia el final del estro, unas 24 a 27 h después de iniciado éste (Hafez, 1984). Sin embargo Gibbson en 2000 postula que el intervalo pico de L.H. ovulación deja de

comportarse tan constante cuando se realiza efecto macho dentro de la estación sexual.

En aquellas ovejas con mayor tasa ovulatoria no se encuentra mayores concentraciones de L.H. si no que la pulsatilidad de la misma es de menor amplitud. Esto produce, por lo tanto mayor secreción de estrógenos, y determina un menor intervalo inicio del estro pico preovulatorio (Campbell y Scaramuzzi, 1995). Por otro lado Baird en 1983 postula que las ovejas de alta tasa ovulatoria que ovulan 2 o más folículos a la vez, generalmente presentan un adelanto en el momento del pico de L.H. por ser más sensibles al feedback positivo del estradiol. Sin embargo Gibbson en 2000 expresa que en ovejas con alta tasa ovulatoria, se presenta un mayor intervalo entre la luteólisis y el pico preovulatorio de gonadotropinas. El tiempo de estimulación con F.S.H. proporciona una mayor tasa de ovulación y se presentaría en un periodo de reclutamiento más prolongado. Esta es la causa de la mayor tasa ovulatoria dada por el gen Boorula (Fernández Abella, 1987 y 1995).

Se puede decir entonces que el momento de ovulación puede variar por diferentes factores y por lo tanto modificar el momento óptimo para realizar la inseminación artificial.

2.4 SINCRONIZACIÓN DE CELOS.

Se entiende por sincronización de celo, la presentación simultánea y dirigida del estro, en un grupo de hembras (Duran del Campo, 1982). Esto se consigue principalmente a través de tratamientos hormonales, que pueden dividirse en dos tipos o clases según el agente utilizado: tratamientos con progestágenos y tratamientos con sustancias luteolíticas (Fernández Abella, 1995).

Estos tratamientos solos o asociados a otras técnicas de control reproductivo, facilitan la sincronización de celos y ovulaciones, por lo tanto mejoran el trabajo de inseminación artificial (Lassoued et al., 1995; Beisso y Trambauer, 1992), permiten el transplante de embriones (Azzarini 1992a; Bonino Morlán y Hughes, 1996; Godfrey et al., 1997) así como lograr una parición más uniforme facilitando la cría homogénea de corderos.

En ovinos no es común utilizar los métodos luteolíticos ya que cuando se los utiliza, el celo y la ovulación que se obtienen no son de buena calidad. El estro se presenta en esta especie como respuesta al estrógeno solo si el animal ha sido previamente expuesto a la progesterona ya que actúa sensibilizando los tejidos receptivos al estrógeno (Duran del Campo, 1980; Cunningham, 1992; Lassoued et al., 1995). Por lo tanto se considera a la fase luteal, como un periodo predeterminante para la futura expresión del estro y la fertilidad de la ovulación (Gibbson, 2000). Esto se ve agudizado cuando los tratamientos sincronizadores son utilizados en el periodo de

transición entre el anestro estacional y la estación de cría, ya que durante el anestro los animales no secretan progesterona (no existe cuerpo lúteo).

Los tratamientos con progestágenos son por consiguiente los más utilizados. Las técnicas están basadas en la observación de que la progesterona inhibe la finalización del desarrollo folicular y la ovulación. Una vez suprimido su efecto, se origina la reanudación de los ciclos en forma sincrónica (Azzarini, 1992a; Lassoued et al., 1995). O sea, que los bajos niveles de progesterona que se dan luego de la luteólisis no se produzcan, por medio de implantes impregnados de progesterona, y por tanto, la concentración de L.H., F.S.H. y la secreción de estradiol se suprimen a los mismos niveles que se dan durante la fase luteal (Baird, 1983; Bonino Morlán y Hughes, 1996).

Para lograr esta prolongación de la fase luteal se utilizan análogos de la progesterona, de 10 a 20 veces más potentes que esta (Azzarini 1992a). Estos agentes tienen la capacidad de inhibir el estro, mientras los pesarios se encuentren insertos (Romano et al. 1996). La disminución en los niveles de progesterona que se dan luego de remover las esponjas, facilitan la liberación de gonadotropinas endógenas, que inducen el estro y la ovulación (Quirke et al., 1979).

La colocación de pesarios inyectados con progestágenos debe hacerse con cuidado y en forma higiénica, evitando hemorragias en primerizas (presencia de himen) y contaminaciones que alteren los resultados (Bonino Morlan y Hughes, 1996). Estos tratamientos dan mejores resultados que aquellos con prostaglandinas, pero ocasionan en algunos casos cierto grado de vaginitis. Esto se soluciona agregándoles antibióticos previo a su aplicación (Bonino Morlan et al., 1989). Generalmente no existen complicaciones importantes ni en la aplicación ni en su retiro (Bonino Morlan y Hughes, 1996).

Los progestágenos comercialmente más usados, vía esponjas intravaginales, son acetato de medroxiprogesterona (MPA) y de fluorgesterona (FGA), y las dosis usadas son 60 y 30 mg respectivamente. La única diferencia que existe entre los resultados obtenidos con ambos compuestos, es que el estro comienza antes cuando se utiliza al primero. Sin embargo ni en la duración del celo ni en la fertilidad se encontraron diferencias (Romano, 1996; Romano et al., 1996).

La utilización de esponjas inyectadas con estos progestágenos durante 13 a 14 días, produce una sincronización satisfactoria (Bonino Morlan et al., 1989; Romano, 1996). Se acepta comúnmente que un tratamiento de esta duración, seguido o no de PMSG, según el momento del año, origina una adecuada sincronización como para permitir la realización de la inseminación artificial a tiempo fijo sin detección de celo (Azzarini, 1992a). Sin embargo, tan solo con la técnica de progestágenos, no se alcanza una sincronización del 100% ya que se evidencian celos con diferencias de muchas horas (Bonino Morlan et al., 1989). A su vez Azzarini y Valledor en 1990 postulan que ni siquiera utilizando esta técnica junto con efecto macho, se justifica la inseminación a tiempo fijo.

El grado de sincronización de celos es el factor que más afecta la fertilidad de las ovejas, cuando se procede a inseminarlas a tiempo fijo. (Azzarini y Valledor, 1990). Conocer en detalle la forma en que el estado fisiológico de las hembras influye en la sincronización del estro y la ovulación, aumentará el conocimiento en el uso de ésta valiosa técnica (Romano et al., 1996).

2.4.1 Efectos de la Progesterona.

Usando esponjas con progesterona en otoño durante un periodo normal de 14 días, se vio que la concentración de progesterona en plasma antes de retirarlas fue 1,4 +/- 0,1 ng/ml. Después de removerlas la concentración descendió a menos de 0,3 ng/ml en las primeras 12 horas y se mantuvo baja hasta el día 3, a partir de este momento la progesterona en plasma aumentó hasta llegar a un máximo de 3,6 ng/ml alrededor del día 13, luego comenzó a descender hasta llegar nuevamente a valores <0,3 ng/ml (Husein et al., 1998).

Estos niveles son promedios para un grupo de ovejas en el cual se pueden encontrar animales en cualquier etapa del ciclo estral. Dependiendo en que etapa se encuentre cada animal en el momento en que se le introduce la esponja, variaran los ng/ml de progesterona que se encontraran durante los 14 días del tratamiento. De la misma manera varía el periodo por el cual el animal presenta elevados niveles de progesterona en sangre (tanto secretada por el cuerpo lúteo como proveniente de la esponja).

El uso de la sincronización de celos con esponjas (60 mg de MPA) en relación al celo natural, para la inseminación artificial por laparoscopia, no provoca reducción significativa en los porcentajes de preñez (Pereira Neves y Nadal da Luz, 1994; Laussed et al., 1995) ni modifica las características del siguiente ciclo estral de no realizarse la fertilización (Romano et al., 1996; Godfrey et al., 1997). Sin embargo, Quispe et al. en 1994 expresa que el uso de progestágenos en ovejas, disminuye levemente la fertilidad.

Los progestágenos afectan muchas relaciones hormonales y por eso es difícil de estudiar sus efectos. Sin embargo se sabe que estos compuestos inducen al incremento de la hormona del crecimiento (GH) cuando la exposición a MPA u otros progestágenos es prolongada (Selman et al., 1991, 1994, citados por Rodríguez Iglesias et al., 1996). Estos elevados niveles de GH en plasma generalmente son acompañados por aumentos concomitantes en la insulina y en el factor de crecimiento insulínico-I (IGF-I), el cual influye en el desarrollo folicular. Sin embargo altos niveles de éste factor no parecen causar aumentos en la tasa ovulatoria de los ovinos (Davis et al., 1990; Speacer et al., 1993; citados por Rodríguez Iglesias et al., 1996). Se han encontrado efectos locales en la función ovárica, en donde la GH jugaría un rol inhibitorio en la regulación de la tasa ovulatoria (Downing et al., 1995, citado por

Rodríguez Iglesias et al., 1996). Gibson en 2000 plantea que las hembras de mayor tasa ovulatoria presenta mayor sensibilidad a factores estimulantes del tipo de la IGF-1

Las alteraciones en el patrón de liberación de L.H. causado por los progestágenos puede resultar tanto en una ovulación temprana y por lo tanto maduración de los óvulos en el oviducto, o por el contrario en una ovulación retrasada (Lewis et al., 1974).

La progesterona tiene un efecto retrasante en la respuesta del eje hipotálamo-pituitaria al feedback positivo del estradiol (Martin et al., 1983). Mayores concentraciones de progesterona producen retraso en la liberación de L.H. y el inicio del celo. Mas aún, durante la estación sexual el pico de L.H. ocurre en promedio 36 a 40 h después de retiradas las esponjas, y de 0 a 8 h después del inicio del celo, usándose las dosis habituales del esteroide (Lewis et al., 1974; Lassoued et al., 1995). Sin embargo Ainsworth et al. en 1982 concluyeron que la liberación de L.H. en ovejas tratadas con esponjas intravaginales, ocurre aproximadamente al mismo tiempo relativo al inicio del celo, que en ovejas no tratadas.

Fernández Abella en 1993 plantea que la sobrevivencia y transporte espermático decrecen cuando el ciclo estral es sincronizado artificialmente con progestágenos o prostaglandinas. Lewis et al. en 1974 encontraron que el patrón de liberación de L.H. en ovejas tratadas con 40 mg de FGA se asemeja mas que las tratadas con 20 mg, al de aquellas ovejas no tratadas. Se constata la relación positiva entre la dosis de progestágenos y la fertilidad, en un rango entre 5 a 40 mg de FGA, reportada por Robinson et al. en 1968 (citado por Lewis et al., 1974) y puede deberse en parte a un momento inapropiado del pico de L.H. con las dosis menores, así como por un mejor transporte espermático dado con las mayores dosis de progestágenos demostrado por Allison y Robinson en 1970 (citado por Lewis et al., 1974)

El 73% de los folículos ovulatorios al fin del ciclo crecen en el mismo ovario donde se encuentra el cuerpo lúteo del ciclo anterior. Sin embargo no se encuentran correlaciones significativas entre el número o tamaño de los folículos mayores y la concentración media de la progesterona durante el ciclo (Dailey et al., 1982; López Sebastián et al., 1997). A su vez Romano y Fernández Abella en 1997 trabajando con cabras no encontraron diferencia en la tasa ovulatoria ni en la actividad de los ovarios izquierdo o derecho.

Rodríguez Iglesias et al., encontraron en 1996 en ovejas Corriedale usando esponjas con 10 o 60 mg de MPA que las que recibieron menor dosis del progestágeno tuvieron un intervalo menor entre el retiro de las esponjas y el inicio de celo en comparación con las que recibieron la mayor dosis (+/-10 h). Cuando los niveles de progestágenos al retirar los pesarios son mayores, el tiempo de reabsorción de la sustancia es mayor y esto explicaría mayor tiempo de espera para que se establezca el estro y por lo tanto el pico de L.H..

Sin embargo cuando se retiran las esponjas intravaginales, sería muy poco el tiempo requerido para la absorción de la progesterona que queda en el sitio de inserción. Luego de la absorción se da la secuencia de eventos endócrinos, que se presume, llevan a la ovulación (Martin et al., 1983; Daley et al., 1999).

Se puede decir por último que el uso de gonadotropinas o estrógenos luego del retiro de las esponjas produce un adelanto importante en el comienzo del celo así como en la liberación de L.H. (Joseph et al., 1995; Husein et al., 1998).

2.5 EFECTO MACHO.

Se llama efecto macho o efecto carnero a una técnica para control de la reproducción usada desde hace mucho tiempo y de muy bajo costo. Se basa en la introducción repentina de machos en una majada previamente aislada de los mismos (Azzarini 1992b; Beisso y Trambauer, 1992; Lassoued et al., 1995).

Esta técnica puede utilizarse con diferentes objetivos: 1) adelantar la salida del anestro estacional (Fernández Abella, 1987; Azzarini, 1992b), 2) acelerar la pubertad, 3) acortar el anestro post-parto (Signoret, 1980) y 4) aumentar la tasa ovulatoria, sincronizar el celo y la ovulación (Eppleston et al., 1991; Romano et al., 1999; Romano et al., 2001).

Hace unos 50 años que se conoce que la introducción de machos en forma repentina a majadas en estado de anestro, no habituadas a la presencia de carneros, induce a la ovulación en 3 a 6, siendo una vía fácil para la sincronización de celos en encamerasadas en primavera. Permite no solo mejorar la performance reproductiva de la majada, si no que también concentrar las pariciones de otoño (Knight et al., 1978; Signoret, 1980; Hafez, 1984; Fernández Abella 1987; Pearce y Oldham, 1988; Azzarini 1992b).

Sin embargo, no hace tanto que se conoce que la exposición de carneros inmediatamente a remover las esponjas, induce la aparición del estro en ovejas sincronizadas durante la estación de cría (Romano et al., 1999). Eppleston et al. en 1991, introduciendo carneros en ovejas sincronizadas durante la estación de cría con esponjas impregnadas en MPA (60 mg) obtuvieron un 14 % mas de preñez.

2.5.1 Mecanismos de acción y aspectos prácticos.

Muchos aspectos de las condiciones requeridas para maximizar la respuesta de las ovejas al contacto con los carneros, aún no están claros (Pearce y Oldham, 1988).

Como fue dicho el efecto macho consiste en la introducción repentina de machos (bioestimuladores) a un grupo de ovejas, tras un periodo de aislamiento. Para el uso a campo de bioestimuladores, pueden utilizarse machos enteros o vasectomizados (retarjos), capones o hembras inyectadas con andrógenos. Sin embargo Perkins y Fitzgerald en 1994 plantean que con ser androgenizados no alcanza ya que la libido no está solamente afectada por la testosterona. Parte de la variabilidad encontrada en la respuesta al efecto macho, puede deberse a variaciones en el grado de estímulo presentado por los carneros en las diferentes circunstancias (Pearce y Oldham, 1988).

Por lo tanto lo más común es utilizar retarjos, o sea machos enteros que presentan deseo sexual normal pero que no engendran descendencia, debido a que mediante una operación se les ha extirpado parte del canal deferente, lo que impide la eyaculación al exterior. El porcentaje de los mismos en la majada y su comportamiento sexual tienen gran importancia sobre la respuesta ovulatoria (Beisso y Trambauer, 1992).

Si bien no se ha determinado un número óptimo, un 4-6 % de machos se considera el número mínimo para inducir la ovulación en una proporción elevada de ovejas (Signioret et al., 1982; Jardon, 1984; citados por Fernández Abella 1987,1995). Esto varía según sean los machos utilizados, ya que se encontró evidencia de que la performance sexual de los carneros influye en el grado de estimulación (magnitud del efecto macho) que reciben las ovejas (Pearce y Oldham, 1988; Perkins y Fitzgerald, 1994). A su vez la capacidad del macho para inducir la ovulación es influenciada por la raza de la hembra (Beisso y Trambauer, 1992).

Para que el "efecto macho" sea satisfactorio es necesario el aislamiento previo de las hembras del macho, o de todo elemento contaminado por feromonas masculinas (lana, suarda, ropa e instalaciones que hayan tenido contacto con estos) durante un periodo de tres a cuatro semanas para romper el anestro estacional (Oldham et al., 1980; Signioret et al., 1984; Martin et al., 1986; citados por Fernández Abella 1995). Perkins y Fitzgerald en 1994 expresan que para lograr esto, es necesario mantener las hembras aisladas de machos por más de un mes.

El período de aislamiento de machos no sería necesario si los carneros que se introducen para lograr el efecto macho no son los mismos con los que estaban las ovejas. O sea que se debe lograr aislamiento de los machos a usarse para lograr el efecto, pero no de todo macho (Pearce y Oldham, 1988).

El efecto macho al menos en anestro, debe realizarse de forma continua, ya que el contacto por unas pocas horas no alcanza a producir un efecto aceptable (Pearce y Oldham, 1988).

El efecto macho en una majada saliendo del anestro estacional provoca aumento rápido en las concentraciones de la L.H. en plasma, produciendo aumentos en la frecuencia de los pulsos basales y un pico preovulatorio de esta gonadotropina (Knight et al., 1978; Martin et al., 1981, 1983; Hafez, 1984; Perkins y Fitzgerald, 1994).

Cuando el efecto se realiza durante la estación de cría, se traduce en un efecto potencializador del aumento de L.H., que se da naturalmente luego de retirar las esponjas sincronizadoras (Martin et al, 1983; Cunningham, 1992). La respuesta depende de una feromona dependiente de andrógeno secretado por las glándulas sebáceas del macho (Hafez, 1984; Perkins y Fitzgerald, 1994). Las feromonas no son liberadas directamente por la lana, ya que usar máscaras con lana de carnero no produjo mayor efecto que las máscaras solas (Pearce y Oldham, 1988).

Las feromonas no han sido aisladas ni identificadas químicamente. Sin embargo Birch et al. en 1989 trabajando a mediados de verano en Romney, encontraron que ácidos grasos y fracciones no ácidas extraídas del lavado de la lana, fueron tan efectivas en estimular la ovulación en ovejas como la introducción de carneros.

El efecto obtenido varía en función de la raza y de la época del año, pero también del fenómeno conocido como condicionamiento social (Azzarini, 1992a).

La producción de la feromona depende de los esteroides sexuales, en particular de la testosterona por eso, como ya se dijo anteriormente, con ovejas o capones androgenizados se podrían obtener los mismos resultados. Sin embargo con esto no alcanza, ya que carneros con baja libido no se relacionan con baja producción de testosterona y no inducen el mismo efecto que aquellos de alta libido (Perkins y Fitzgerald, 1994).

Un estudio de Perkins y Fitzgerald en 1994 sugiere que el efecto macho es una combinación de estímulos del carnero, que incluye los sentidos olfativos (feromonas) visuales y táctiles. Los mecanismos por los cuales el macho induce la aparición del celo en las ovejas no son del todo conocidos, pero la conducta del apareamiento así como todo tipo de contacto físico, son factores importantes que influyen en la secreción de gonadotropinas y de esta manera la actividad ovárica. Los estímulos visuales dados en los casos en que las ovejas ven a los carneros solos o con otras ovejas, también producen el efecto macho (Signoret et al., 1980; Pearce y Oldham, 1988; Cunningham, 1992; Romano en 1999). Se ha encontrado que los contactos visuales y físicos son más estimulantes, al menos en la raza Merino, que el contacto olfativo, en lo que respecta al efecto macho (Pearce y Oldham, 1988).

Estos estímulos en su conjunto se traducen en la liberación de GnRH. El tiempo entre la introducción de carneros y el inicio del primer pulso de L.H. es menor a 15 min, este intervalo estaría ocupado por el tiempo requerido para detectar la feromona, ya que la transmisión neuronal es rápida y la GnRH libera L.H. en 3 min (Reeves, Arimura y Schally, 1970 citados por Martin et al., 1983). Esto daría a entender que no solo aumentaría la concentración de L.H. si no que también la de F.S.H..

Sin embargo se ha encontrado que contrariamente a lo que sucede con la L.H., la secreción de F.S.H. no se ve modificada o disminuye levemente luego de la

introducción de los carneros (Poindron et al., 1980; Atkinson y Williamson, 1984; Martin et al., 1985; Mc Natty et al., 1986; citado por Fernández Abella, 1987, 1995).

Esto se explica porque el efecto se materializa fuera y durante la estación de cría con un efecto potencializador del feedback positivo del estradiol y por lo tanto indirectamente, aumenta la pulsatilidad de L.H., produciéndose un marcado pico de esta hormona pocas horas luego de estimuladas las ovejas (Martin et al. en 1983), pero no de F.S.H..

El efecto macho tendría un efecto estimulatorio independiente de los centros hipotalámicos que controlan la secreción de L.H.. Los cambios en la sensibilidad al feedback negativo del estradiol, que se dan en el anestro estacional y en la pubertad, serían interrumpidos por la secreción de L.H., que es programada por el cerebro en respuesta al ambiente. Este concepto implica que el cerebro controla al ovario y no lo contrario (Knight et al., 1978; Martin et al., 1983).

De todos modos la gran mayoría de los autores están de acuerdo en que el efecto macho produce aumentos en las concentraciones de L.H.. Este incremento en la pulsatilidad de la L.H. es observado tan solo a unos pocos minutos de la introducción del macho (Knight et al., 1978; Martin et al., 1980 a, b; Poindron et al., 1980; Signoret, 1980; Oldham y Pearce, 1984). Parece ser que para inducir la ovulación, los machos deben estar en contacto con las ovejas al menos durante el momento en el que se da la descarga preovulatoria de L.H.. Este evento tiene lugar 24 h antes de la ovulación (Folch et al; 1988; Quirke et al., 1979).

Cuando la progesterona es utilizada para la sincronización, queda en circulación periférica por unas horas luego de retiradas las esponjas. Durante éste tiempo podría estar inhibiendo el aumento en la secreción de L.H., que potencializaría el efecto macho. Sin embargo no sería una inhibición completa, aumentando de todas maneras, aunque en menor magnitud, la concentración de L.H. (Martin et al., 1983).

Romano et al en 1999 concluyeron que el efecto del carnero no solo reduce el tiempo entre la remoción de las esponjas y la instalación del estro, si no que también aumenta la sincronización. El número de ovejas que mostraron picos de L.H. entre las 24 y 48 h se incrementó. A su vez, a pesar de que el intervalo pico de L.H.-ovulación es bastante constante, el efecto macho induce el incremento de los pulsos de L.H. y a su vez acorta dicho intervalo. Siendo muy variable (6 a 54 h) el lapso de tiempo entre la introducción de los carneros y el pico de L.H. (Gibbson, 2000).

Romano et al. en 2001 trabajando durante la estación sexual encontró que la presencia continua de carneros reduce la variación entre ovejas, en el tiempo desde la remoción de esponjas a la ovulación. Esto resulta en mas ovejas en el momento óptimo para fertilización si se realiza inseminación artificial. Sin embargo la distribución de celos encontradas por Azzarini y Valledor en 1990, investigando "efecto macho", luego de la sincronización, no parece justificar la realización de la inseminación a tiempo fijo.

2.5.2 Gonadotropina vs. Efecto Macho.

Las gonadotropinas endógenas, F.S.H. y L.H. controlan el crecimiento y desarrollo de los folículos de Graff, así como el proceso de ovulación y luteinización. Para asegurar estos objetivos evitando los problemas de difícil preparación y rápida metabolización de las gonadotropinas endógenas, se utilizan gonadotropinas exógenas obtenidas de la placenta de muchas especies, que produce una hormona similar al complejo gonadotrópico de la hipófisis, y que no presentan estos problemas (Azzarini, 1985).

La aplicación práctica de gonadotropinas exógenas parecería estar limitada por ahora a situaciones en que es deseable obtener una respuesta muy alta en términos de tasa ovulatoria, tal como sucede cuando se realiza transplante de embriones o en aquellos casos en que se pretende reproducir fuera de la estación de cría (Azzarini, 1987). Es muy dificultoso prevenir las ovulaciones múltiples usando estas gonadotropinas. La regulación de las gonadotropinas endógenas por parte del hipotálamo y la pituitaria en el ciclo espontáneo, es realmente compleja (Baird, 1983).

La administración de eCG (gonadotropina coriónica equina) al tiempo de remover las esponjas incrementa la incidencia del estro y la ovulación (Husein et al., 1998). Se produce un aumento en la descarga de L.H., que parece deberse a una mayor remoción de las reservas de ésta hormona en la glándula pituitaria (Ainsworth et al., 1982). Además estimula el desarrollo de folículos grandes (> 5mm) entre las 36 y 48 h de retiradas las esponjas (mientras que se mantiene invariable el número de pequeños y medianos folículos) e incrementa el porcentaje de ovulación, por lo tanto la producción de progesterona del siguiente ciclo será mayor (Husein et al., 1998).

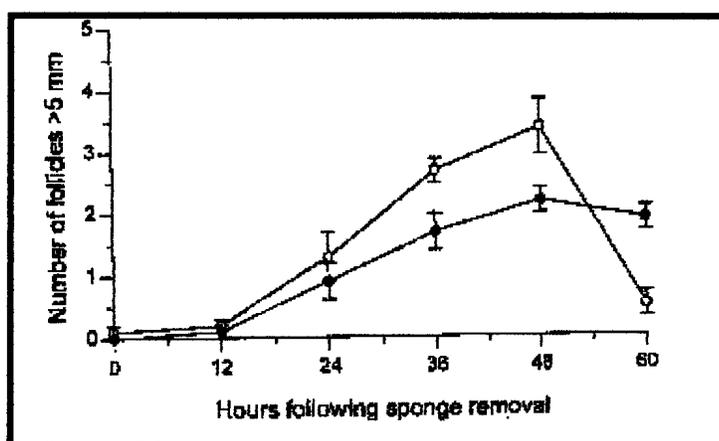


Figura N°3. Número de folículos grandes en ovejas control (●) y tratadas con eCG (○), en diferentes momentos luego de retiradas las esponjas sincronizadoras (Husein et al., 1998).

Por otra parte el uso de gonadotropinas exógenas mejora el transporte espermático (Fernández Abella, 1993). La dosis de gonadotropina exógena necesaria

para favorecer el desarrollo folicular es diferente según sea el tamaño de los folículos dominantes y los restantes mayores (Baird, 1983), lo cual hace muy difícil estimar la dosis óptima a usar.

Pearce et al. en 1983 y Cognié en 1990, citados por Azzarini y Valledor en 1990 demostraron que la PMSG ejerce una reducción en el tiempo de aparición de los celos luego del retiro de la fuente de progestágeno. Knight et al. en 1992, trabajando con ovejas Romney en abril, encontraron que las que fueron inyectadas con PMSG tuvieron un estro 7,9 h más cortos y la varianza fue más pequeña, que las no inyectadas con PMSG. Resultados similares fueron encontrados realizando efecto macho (Signoret, 1980; Hafez en 1984; Romano et al., 1999)

En ovejas Merino NZ y Romney Marsh la distribución de los intervalos desde la retirada de los CIDR al arranque del celo para ovejas inyectadas con PMSG, tuvo un rápido comienzo con picos a las 20 y 24h. En contraste, ovejas no inyectadas con PMSG que tuvieron un lento arranque con un pico a las 28 h (Knight et al; 1992).

Sin embargo Eppleston y Roberts, 1986 encontraron que el uso de PMSG no tuvo interacción con la hora de ovulación, ni con el momento óptimo de inseminación. Esto podría ser causado por una dosis insuficiente de PMSG (300 IU) para estimular un mayor desarrollo folicular.

A su vez Romano et al. en 1996 encontraron que el uso de 250 I.U de PMSG en el momento de remover las esponjas a ovejas Corriedale durante la estación de cría, no tuvo influencia en las tasas de fertilidad ni de prolificidad. Esto podría deberse a que 1) La dosis usada no haya sido suficiente para estimular mayor desarrollo folicular, o 2) La raza Corriedale no tiene respuesta a la PMSG. Las diferentes razas tendrían sensibilidad ovárica a la PMSG variable, dependiendo si ha sido tradicionalmente seleccionada para mayor prolificidad o no.

El empleo de vasectomizados puede sustituir a la PMSG cuando se trabaja durante la estación de cría, por lo menos en lo que se refiere a los niveles de fertilidad. La sustitución de la gonadotropina por la presencia de los machos permitiría reducir sustancialmente los costos (Azzarini y Valledor, 1990). Reemplazar el "efecto macho" por PMSG, en primavera, produce la misma fertilidad y sincronización de celos, evitando los costos de la PMSG (Cognié et al., 1984).

El efecto macho se ha considerado como sustituto de la PMSG (Cognié et al., 1982; Folch et al., 1985). Sin embargo, su utilización junto al efecto macho determina un incremento tanto del número de animales que ovulan como un aumento marcado de la tasa ovulatoria (Oldham et al., 1984; Fernández Abella, 1987, 1995).

Introduciendo retarjos en una majada desde el momento de retirada la esponja hasta la inseminación lo único que podría modificar la fertilidad es el momento de inseminación. Ni el momento de dosificar con PMSG ni el dosificar o no con GnRH la afectan (Eppleston et al., 1991).

Por último la utilización de PMSG, presenta el riesgo de que se den superovulaciones y por lo tanto se incrementan las muertes embrionarias (Gaudouin, 1982).

2.6 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

La mayor parte de la población mundial de ovejas y cabras es manejada en condiciones de libre pastoreo, donde se realiza ampliamente el apareamiento natural. La inseminación artificial ha sido limitada, en general debido al alto costo de la mano de obra, la dificultad de identificación con exactitud de sementales con calidad superior y las bajas tasas de concepción, sobre todo con semen congelado (Hafez, 1984).

La inseminación artificial se practica esencialmente de manera conjunta con programas de sincronización del estro. Cuando se realiza de manera apropiada las dificultades son pocas y ofrece varias ventajas en cuanto a la mejora genética, control de enfermedades y aspectos económicos (Hafez, 1984).

La fecundidad obtenida con la I.A depende de: 1) semen de elevada calidad, 2) técnica adecuada de descongelamiento e inseminación, 3) salud y buena condición reproductiva de las hembras y 4) inseminación en momento adecuado del ciclo estral.

El éxito de la inseminación depende en gran parte del momento en que se practica en relación al tiempo de ovulación (Durán del Campo, 1980; Eppleston y Roberts, 1986; Eppleston et al., 1991). Los espermatozoides viables deben estar en la vecindad del óvulo y ser capacitados poco después de la ovulación. Dado que ésta es difícil de detectar, la inseminación debe programarse con respecto al estro (Hafez, 1984).

La vida media de los ovocitos en la oveja varía entre 10 a 24 horas post-ovulación (Thibault, 1967; 1972 citados por Fernández Abella, 1993), por lo tanto los espermatozoides deben estar disponibles en el tracto reproductivo de la oveja en el momento de la ovulación.

Los espermatozoides sobreviven unas 30 h en el útero. Los óvulos pueden permanecer viables de 10 a 25 h, pero al parecer hay aumento en la incidencia de desarrollo anormal y descenso en la viabilidad a mayor antigüedad de los espermatozoides u óvulos (Hafez, 1984). Los espermatozoides a expensas de su propia movilidad, penetran muy rápidamente en el mucus cervical de la hembra en celo. Una vez en el útero el traslado hacia el oviducto es notablemente rápido, en aproximadamente 20 minutos, ascienden desde el cérvix al oviducto, aunque éste tiempo varía según el momento en que se da la inseminación dentro del celo y la calidad del semen (Durán del Campo, 1980).

Mientras en el cérvix de la oveja es posible encontrar espermatozoides vivos 48 h luego de depositados, en la vagina apenas logran sobrevivir menos de 12 h y lapsos intermedios en el útero y oviducto (Durán del Campo, 1980). Pocas horas después de la ovulación (3 a 6 h) el óvulo alcanza el límite entre la ampolla y el istmo. A partir de este momento, la velocidad de traslación del óvulo será mucho menor y necesitará 65 a 68 h para atravesar el resto del istmo y penetrar en el útero (Durán del Campo, 1980; Hafez, 1984). El lugar de fertilización en la mayoría de los mamíferos es en la ampolla del oviducto, en su tercio superior. Al mismo sitio deberían entonces arribar los espermatozoides para forzar su encuentro con el óvulo (Durán del Campo, 1980).

El desajuste del tiempo de inseminación con el período durante el cual el óvulo admite ser fecundado, provoca fracasos en los índices de concepción, se sabe que cuando el óvulo penetra en el istmo ya no puede ser fertilizado. A su vez la fertilización de óvulos viejos (o óvulos nuevos por espermatozoides viejos), es considerada una de las principales causas de la mortalidad embrionaria (Hafez 1984).

La precisión en la sincronización, así como los intervalos entre la remoción de la fuente de progestágeno y la aparición del celo y la ovulación son variables de suma importancia en el momento de decidir el momento de inseminación, especialmente en programas de inseminación a tiempo fijo (Romano, 1999).

Las dos técnicas más utilizadas para realizar inseminación artificial son la cervical y la intrauterina (semen fresco o congelado). El nivel de fertilidad obtenido con inseminación laparoscópica intrauterina con semen congelado es sustantivamente mayor que la obtenida con la inseminación cervical pero requiere mayor tiempo por oveja, es más costosa y por ésta razón existe la necesidad de sincronizar los celo e inseminar a tiempo fijo (Eppleston y Roberts, 1986).

Según Durán del Campo, 1980 en las ovejas la inseminación debe realizarse en el momento medio del estro o durante su segunda mitad. El momento óptimo para inseminar con semen fresco, vía cervical, debería ser 15 a 11 h antes de producirse la ovulación.

La fertilidad en ovejas Corriedale realizando inseminación cervical es mayor en grupos inseminados a las 52 horas de retirada la esponja con MPA (Romano et al., 1996). El tiempo medio para realizar la inseminación cervical se reduce sustancialmente por el hecho de que las ovejas estén en celo al momento de la inseminación (Husein et al., 1997). Es realmente importante que las ovejas inseminadas presenten celo ya que en esta etapa las contracciones vaginales movilizan el semen hacia el cuello uterino (Fernández Abella, 1993).

Con la técnica de inseminación intrauterina el semen se introduce en el cuerpo del útero permitiendo esto la mantención de la capacidad fertilizadora por 18-35 h utilizar menor cantidad de espermatozoos (Fernández Abella, 1993).

Realizar la inseminación intrauterina con semen congelado a las 60 horas de retiradas las esponjas (introduciendo machos desde retiro de las esponja hasta el momento de inseminación e inyectadas con PMSG), optimizaría la fertilidad cuando han sido sincronizadas con esponjas embebidas en MAP (60 mg),. Sin embargo en este mismo experimento, la tasa de concepción por oveja fue mayor inseminando a las 48 horas (Eppleston et al., 1991).

La hora recomendada para realizar la inseminación artificial intrauterina es 55 - 65 h después de removidas las esponjas (Fernández Abella, 1993; Romano et al., 1999).

Eppleston y Roberts en 1986 durante la estación de cría, obtuvieron los mayores valores de ovejas que parieron sobre ovejas inseminadas (61,5+/-7,9%) y corderos nacidos sobre ovejas inseminadas (94,9+/-13,4%) cuando se realizó la inseminación artificial intrauterina 60 horas de retiradas las esponjas conteniendo MAP. Habiendo utilizado 300 UI de PMSG y realizando efecto macho desde el inicio.

2.7 INFLUENCIA DEL ESTRÉS.

El estrés puede impedir o interrumpir eventos reproductivos, así como puede afectarlos en su duración (Ehvert y Moberg, 1991).

Las situaciones consideradas como estresantes tienen el potencial de activar el eje hipotálamo-hipófisis-adrenocortical, esto causa la liberación de la hormona adrenocorticotropina, principal reguladora de la liberación de corticoides (Minton, 1994).

Martin et al en 1981 encontraron que los niveles en plasma de cortisol se elevan rápidamente en respuesta a repetidas laparoscopías, sin embargo los niveles de cortisol no estuvieron relacionados con la ovulación. Los niveles de cortisol en las ovejas que ovularon no fue significativamente diferente que los de las que no ovularon.

Se postula que la infertilidad inducida por la concentración de cortisol liberado por el estrés, se debería, al menos en parte, a un aumento cortisol-dependiente del feedback negativo potencial del estradiol (Daley et al., 1999).

Existen tres sitios principales donde el estrés puede afectar la reproducción. Los sitios centrales de acción están ubicados en el cerebro, especialmente en el hipotálamo. A este nivel, varios neurotransmisores son capaces de afectar la actividad de las neuronas de GnRH. La hipófisis y las gónadas son los sitios periféricos de acción del estrés (van Lier, 1998).

El estrés puede afectar la secreción de GnRH ya sea porque, se producen pequeñas cantidades de la hormona en las neuronas o por la inhibición de su

liberación en las extremidades de los nervios. Cualquiera de los dos factores traducirían sus efectos en la frecuencia de secreción de la GnRH, la cual es directamente reflejada en la liberación de L.H. y F.S.H. disponible para que se produzca el desarrollo folicular y la ovulación (van Lier, 1998; Daley et al., 1999). La secreción de L.H. puede ser afectada de varias maneras, y no solo por el estímulo en su liberación. Hay diferentes niveles donde puede ocurrir la interferencia con la secreción de L.H. (van Lier, 1998).

Previamente al pico de L.H., el estrés asociado con la laparoscopia puede tener acción a nivel del ovario, donde es impedida la secreción de estradiol en respuesta a la inducción de pulsos de L.H., o a nivel del hipotálamo donde puede impedir el feedback positivo de estradiol. Repetidas laparoscopias son asociadas con un sostenido incremento de los niveles de cortisol en plasma (Martin et al., 1981).

El aumento progresivo en la concentración de estradiol que se da normalmente luego de retirar los pesarios es bloqueado o atenuado significativamente cuando los animales están bajo estrés. Lo mismo sucede con el pico de L.H.. Esto indicaría que el estrés en ovejas retrasa o bloquea la aparición del estro, el desarrollo folicular así como la ovulación, eventos especialmente sensibles al estrés (Ehvert y Moberg, 1991; Daley et al., 1999)

Las bases fisiológicas del retraso o bloqueo del desarrollo folicular no son claras y deberían ser objeto de estudio (Daley et al., 1999).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 UBICACIÓN.

El trabajo fue realizado en el departamento de Flores, Uruguay. En el predio "Sta. Magdalena", propiedad del Técnico Agropecuario Antonio Iruleguy; ubicado en la 6ª sección policial del departamento a 50 km. de la ciudad de Trinidad, 34° de latitud Sur y 56° longitud Oeste.

Sus suelos se desarrollan sobre basamento Cristalino en las unidades La Carolina y San Gabriel, cuyos suelos dominantes son Brunosoles Eútricos, Subeútricos y Vertisoles Lúvicos. El índice CONEAT promedio es de 112.7.

El clima en la zona se define como templado-húmedo sin estación seca según la clasificación de Köppen (1931, citado por Romero, 2001). La temperatura media anual es de aproximadamente 17°C. La temperatura media mensual varía desde 7°C en julio a 31°C en enero. La precipitación mensual se distribuye uniformemente a lo largo del año, con un leve incremento en el otoño (Romero, 2001).

3.2 ANIMALES.

Se utilizaron 82 ovejas secas y multíparas de la raza Corriedale (con una tasa de prolificidad de 103%), de 7 años de edad, buena dentición y descorderadas desde el 15 de diciembre de 2000. La condición corporal (anexo I) promedio (media +/- desvío estándar) fue de 3,32 +/- 0,34 (escala subjetiva de 1 a 5) y el peso de 46,67 +/- 4,44 kg. (tomándose como representativo de todos los grupos a RET1, ya que la condición corporal fue similar para los mismos y el fenotipo uniforme) determinado con una balanza del tipo romana de 0,5 kg. de precisión.

Las ovejas se encontraban en condiciones extensivas de pastoreo, con buena disponibilidad de forraje (> a 1000 Kg. MS/ha), lo que determinó a lo largo del período experimental, ofertas de forrajes superiores al 3%. El suministro de agua fue "ad libitum".

Los animales utilizados estaban claramente identificados mediante caravanas numeradas "Alflex".

El tratamiento sanitario que se realizó en enero de 2001 fue de desparasitación y baño de inmersión (contra parásitos externos). A 3 ovejas se les detectó pietín (anexo I), y 2 presentaron infecciones en las orejas (causada por las caravanas) para esto se aplicó antiséptico y antibióticos.

Del número inicial de ovejas fueron eliminadas 29 por alguna de las siguientes causas: no estar ciclando, pérdida de esponjas sincronizadoras y para ajustar la condición corporal y las repeticiones de los diferentes tratamientos.

Se utilizaron 4 carneros 6 dientes vasectomizados para la inducción y detección de celo (al 11,1 % y 14.8 % respectivamente). Estos fueron pintados en el pecho con una mezcla de grasa, agua y tierra de color (se utilizaron los colores rojo y azul). Los retarjos procedían de la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía de Salto.

3.3 SINCRONIZACIÓN DE CELO.

El 17 de Febrero (aproximadamente a las 10:00 de la mañana) se le colocaron a todas las ovejas esponjas vaginales conteniendo acetato de Medroxiprogesterona (MPA¹), habiendo sido usadas una vez, pero bien conservadas. Se colocaron en forma manual, previamente impregnadas con antibiótico en un extremo (Terramicina²).

Las esponjas fueron retiradas en distintos momentos, para determinar el inicio del ciclo estral en forma escalonada. El objetivo fue realizar una nueva inserción de esponjas (60 mg de MPA¹) sin uso, en animales durante proestro-estro (grupo PRO); en diestro (grupo DIE) y metaestro (grupo MET).

Para poder lograr los Grupos y evaluar el “efecto etapa de ciclo estral”, se operó de la siguiente manera (figura N°4):

- El 2 de marzo se le retiró las esponjas a 21 ovejas y se detectó que otras 16 la habían perdido. Estas 37 ovejas se unieron a los retarjos durante 5 días para detectar celos. De este grupo, 24 presentaron estro, siendo la base para formar el grupo PRO.
- El 7 de marzo se sacaron las esponjas a otras 21 ovejas y se detectó que 5 animales más habían perdido la misma. Éstas y aquellas que no mostraron celo de las 37 anteriores, se las juntaron con los retarjos, nuevamente pintados, para detectar celos. A los 5 días se encontró que 17 ovejas levantaron celo, las cuales conformaron el grupo DIE.
- El 12 de marzo se retiró la esponja a los animales restantes y se juntaron con las ovejas que no habían presentado celo previamente. Durante los 5 días siguientes se observó que 25 animales manifestaron celo. Estas ovejas fueron usadas para integrar el grupo MET.

¹Laboratorios Santa Elena, Montevideo, Uruguay. ² Laboratorios Dispert, Montevideo, Uruguay.

En base a esto y siendo limitante el grupo DIE, por contar con el menor número de ovejas, se concretaron los grupos manteniendo las normas estadísticas: PRO, 18 ovejas; DIE, 17 ovejas; MET, 18 ovejas, conformando un total de 53.

Todos los grupos fueron realizados de tal forma que mantuvieran similar media y desvío estándar para la característica condición corporal (anexo II).

El 18 de marzo a las 10:00 h se colocaron esponjas sin uso a los 3 grupos. Estas se removieron 14 días después. Ninguna de las ovejas perdió la esponja en este periodo, ni presentaron adherencias.

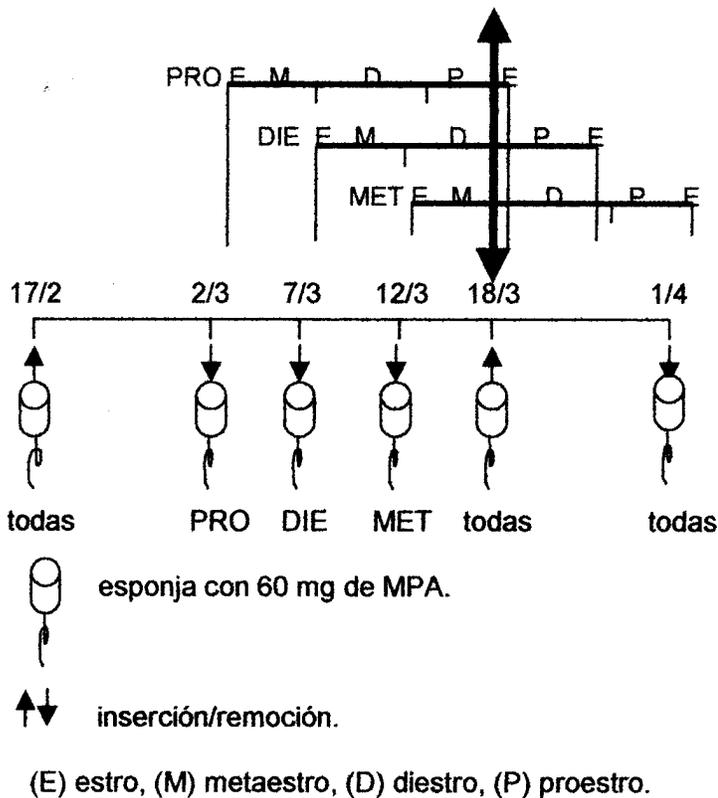


Figura N°4. Momentos de inserción y remoción de las esponjas sincronizadoras (60 mg. MPA).

3.4 EFECTO MACHO

El total de ovejas estuvo aislado de machos por un periodo de 14 días como mínimo.

Cada uno de los tres grupos (PRO, DIE, MET) se dividió en tres subgrupos (R1, R2, R0) con condición corporal de similar media y desvío estándar (3,32+/-0.34, anexo I). Cada uno de los 3 subgrupos recibió un tratamiento "efecto macho" diferente, conformándose los 3 grupos RET1, RET2, RET0, como muestra la figura N°5.

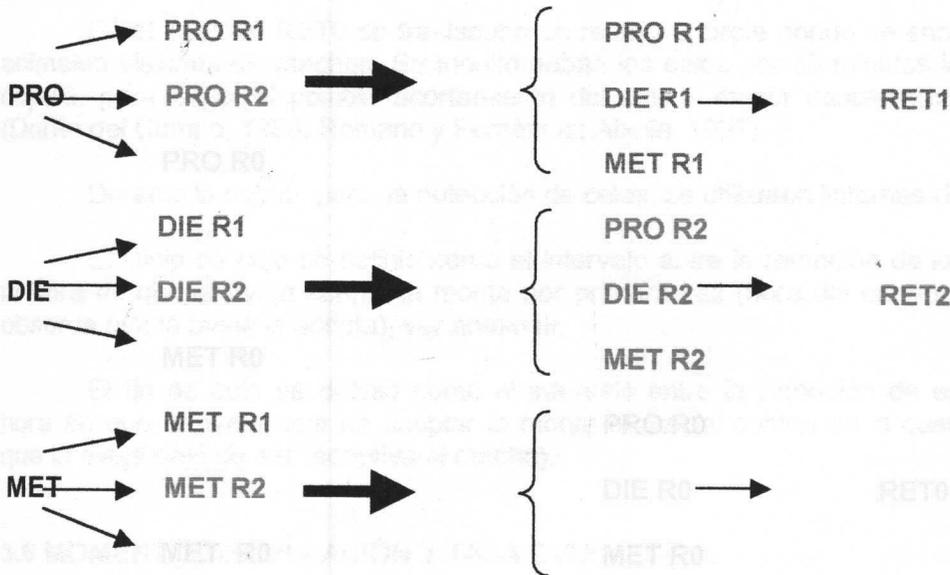


Figura N°5. Grupos experimentales.

Los tratamientos de "efecto macho" planteados fueron los siguientes:

RET1: El tratamiento recibido por estas 18 ovejas consistió en la introducción de 2 retarjos pintados (color azul) en forma inmediata a la remoción de esponjas.

RET2: A este grupo (de 18 ovejas) se introdujo 2 retarjos pintados (color azul) a las 24 h de removidas las esponjas.

RET0: Este grupo (de 17 ovejas) no recibió efecto macho (no hubo contacto visual ni olfativo) excepto cuando los machos ingresaban para levantar celo, actuando como testigo.

3.5 DETECCIÓN Y DURACIÓN DE LOS CELOS.

En ovinos la manifestación del celo no es tan marcada como en vacunos, por lo cual los animales en estro, deben ser identificadas con un macho marcador.

Los celos fueron monitoreados desde las 22 h de retiradas las esponjas hasta finalizar el ensayo. Para esto se controlaron los animales cada cuatro horas.

Para detectar celos en los grupos RET1 y RET2 se utilizaron de forma continua los mismos retarjos pintados que produjeron el efecto macho. En los controles se identificaron las ovejas marcadas durante esas cuatro horas.

En el caso de RET0 se trasladaba un retarjo al brete donde se encontraban los animales aislados de machos. Se monitoreaban los celos por 30 minutos impidiendo la copula, para evitar el posible acortamiento del celo y mayor contacto con el macho (Durán del Campo, 1980; Romano y Fernández Abella, 1997).

Durante la noche, para la detección de celos, se utilizaron linternas de mano.

El inicio de celo se definió como el intervalo entre la remoción de los pesarios y la hora en que la oveja acepta la monta por primera vez (hora del control a la cual se observa que la oveja la acepta), ver anexo III.

El fin de celo se definió como el intervalo entre la remoción de esponjas y la hora en que la oveja deja de aceptar la monta (hora del control en la cual se observa que la oveja dejó de ser receptiva al macho).

3.6 MOMENTO DE OVULACIÓN Y TASA OVULATORIA.

El tiempo de ovulación se definió como el intervalo entre la remoción de las esponjas y el momento de ovulación, estimado de acuerdo a las características del cuerpo hemorrágico encontrado por laparoscopia (anexo III).

La tasa ovulatoria se definió como el cociente entre el número de cuerpos hemorrágicos sobre el número de ovejas que ovularon.

Los procedimientos de laparoscopia empezaron a las 45 h de removidas las esponjas, con aquellas ovejas que mostraron celo más temprano. A la hora 60 comenzó a realizarse en todo el grupo. Se utilizó un telescopio de 6,5 mm con un ángulo de 0° (Richard Wolf GMBH Knittlingen, Germany). La laparoscopia se realizó a intervalos de 6 h por un período de 48 h, registrándose cada vez la actividad de ambos ovarios (anexo IV), anotándose número y tipo de folículos (folículo terciario: F3, folículos parcialmente luteinizados: FPL y folículos preovulatorios: FPO).

Aquellas ovejas que fueron presentando cuerpo hemorrágico, no volvieron a ser observadas por laparoscopia.

Para realizar la laparoscopia resulta de importancia capital el ayuno previo para reducir el contenido ruminal e intestinal, por lo tanto al momento de realizar la primer

laparoscopia los animales presentaban 12 horas de ayuno y este se mantuvo hasta que evidenciaron ovulación.

Los trocars se desinfectaron entre oveja y oveja con una solución de cloruro de benzanconio al 0,1%; el telescopio y el palpador con alcohol etílico de 95°. La zona de inserción de los trocars, previa esquila, se desinfectaron con una solución de yodo al 5%.

Para la observación ovárica se usó aire atmosférico a razón de 3 o 4 litros por oveja inyectado con un compresor (250 PSI 18 kg/cm² [BARS] Volts: DC 12V Amperes: 10 A).

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El experimento tuvo un diseño completamente aleatorio, casi perfectamente balanceado, con una combinación factorial de tratamientos (2 factores). Factor 1: efecto etapa de ciclo estral (3 niveles). Factor 2: efecto macho (3 niveles).

Al momento de conformar el diseño experimental, con el objetivo de analizar mayor cantidad de datos por tratamiento de efecto macho, se agruparon los datos de RET1 X PRO, RET1 X DIE, RET1 X MET así como para RET2 y RET0, ya que normalmente al momento de comenzar un tratamiento de sincronización, cualquier majada presenta ovejas en diferentes momentos del ciclo estral. Sin embargo se tuvo cuidado en no agrupar dentro de un tratamiento de etapa del ciclo estral los tres tratamientos de efecto macho, dado que se estaría promediando situaciones que nunca se darían en el ámbito productivo y esto arrojaría valores que no corresponden ni a tratamientos con efecto macho ni sin él.

Las pruebas t (Tuckey) y F (Fisher) son equivalentes, a la vez que el análisis de procedimiento de varianza es, por regla general, más fácil de llevar a cabo (Little y Hills, 1976). El análisis del procedimiento de varianza y el cálculo de un valor F conducen a las mismas conclusiones que la prueba t. Por otro lado la prueba t es apropiada cuando las varianzas difieren (F no es válida). Por lo tanto, para la comparación de medias de variables continuas (hora de ovulación; inicio, final y duración del celo) se utilizó la prueba t (anexo V).

Para comparar las varianzas de las variables correspondientes (hora de ovulación, inicio y final de celo) se utilizó prueba F (anexo VI).

Para analizar las diferencias en las variables discontinuas (tasa ovulatoria) se utilizó la prueba de Chi² (anexo VII).

Se considera que existen diferencias significativas entre variables, cuando las pruebas t, F o Chi² arrojan una probabilidad de cometer error (α) menor a 0,10;

diferencias muy significativas cuando la probabilidad es menor a 0,05 y simplemente una tendencia cuando la probabilidad es menor a 0,15.

Las ovejas que ovularon tardiamente (>80 h) no fueron tomadas en cuenta en los cálculos de las variables momento de ovulación, intervalo momento de ovulación-inicio del celo y momento de ovulación-final del celo; ya que se consideró que las repetidas laparoscopias, mayor tiempo de ayuno y encierro pueden haber causado mayores niveles de estrés, alterando los resultados. A su vez las ovejas que no ovularon y/o que no presentaron celo no fueron incluidas en ninguno de los cálculos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 COMENTARIOS GENERALES

Se eliminaron de todos los cálculos aquellos animales que no presentaron celo y/o los que no ovularon (anexo III). En el grupo RET1 se eliminaron 2 ovejas, siendo ambas del grupo RET1 X PRO. Del grupo RET2 se eliminaron 5 ovejas, 1 del tratamiento RET2 X PRO, 2 de X DIE y 2 de X MET. En el grupo testigo se eliminó una oveja perteneciente al grupo RET0 X PRO.

A su vez no se incluyeron en los cálculos de ovulación a aquellas ovejas que ovularon luego de las 80 horas. Del grupo RET1 se descartaron 2 animales, 1 del grupo RET1 X PRO y 1 del X DIE. Del grupo RET2 se descartó 1 oveja del grupo RET2 X MET. Cuando el tratamiento de "efecto macho" fue RET0 se eliminaron 2 ovejas, 1 de RET0 X PRO y 1 de X MET.

Se puede observar que el tratamiento DIE fue el que menor proporción de animales descartados presentó, a su vez una de las ovejas que se eliminaron en este grupo presentaba foot rot (pietín), por lo cual las condiciones bajo las cuales estuvo esta oveja, fueron probablemente más estresantes que aquellas bajo las cuales estuvo el resto de la majada.

El inicio del celo de la totalidad de los animales presentó una distribución normal, la hora promedio del mismo fue (media +/- desvío estándar) 38,6+/-8,4 h, la duración promedio del celo fue 21,3+/-6,9 h y la hora de ovulación 66,0+/-8,9 h, variable que también presentó distribución normal (figuras 6,7 y 8).

Figura N°6

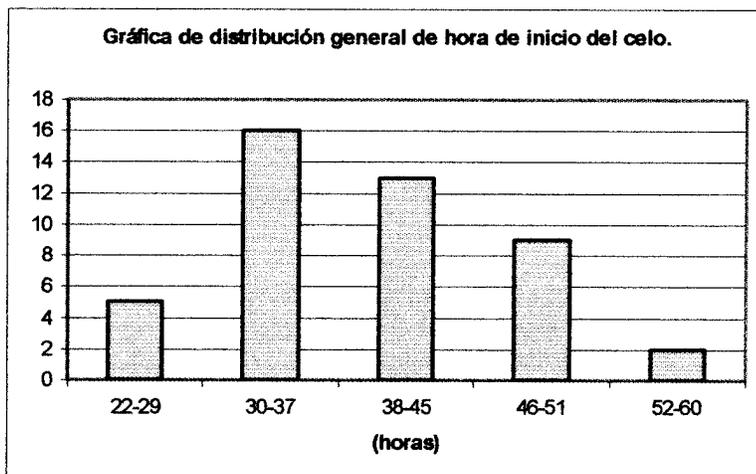


Figura N°7

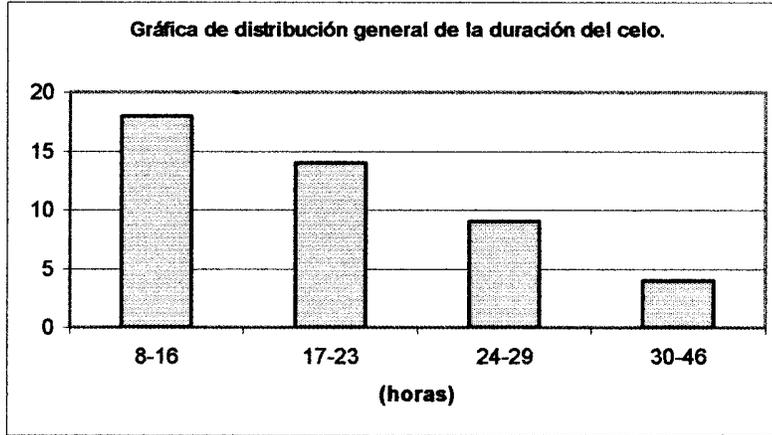
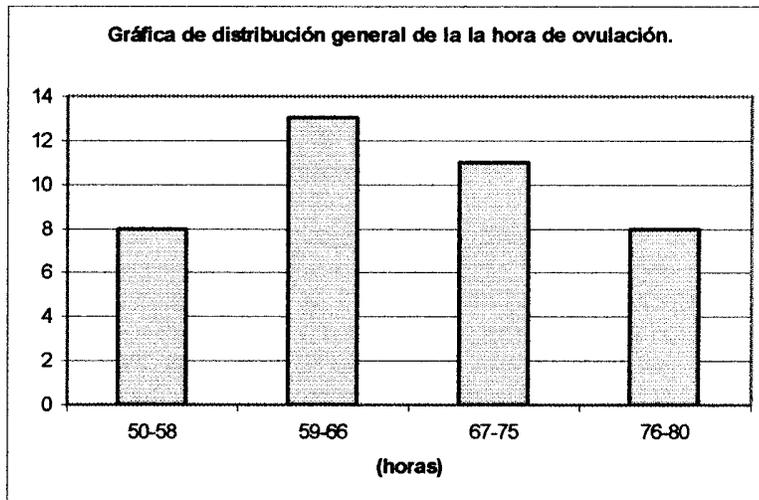


Figura N°8



4.2 REPERCUCIONES DE LOS TRATAMIENTOS DE "EFECTO MACHO".

Los tratamientos RET1 y RET2 muestran un adelanto en la hora de inicio del celo con respecto al grupo testigo (cuadro N°1, figura N°11). Esto coincide con lo encontrado por Romano et al. en 2001, quienes observaron que la hora de inicio del celo fue (media +/- desvío estándar) 32,9+/-4,8 y 45,3+/-13,3 h para los grupos con presencia continua (similar a RET1) e intermitente (1h cada 8h, similar a RET0) de los machos respectivamente ($P < 0,01$); así como con lo medido por Romano et al. en 1999, de 32,9+/-12,3 h y 53,1+/-19,6 h ($P < 0,0001$) para ovejas que tuvieron contacto con

machos inmediatamente después de removidas las esponjas y aquellas que lo tuvieron 48 horas después.

Cuadro N°1. Medias, desvío estándar y D.M.S. para las variables inicio, final y duración del celo según tratamiento de "efecto macho".

	N°	CELO					
		inicio		final		duración	
		media	desvío	media	desvío	media	desvío
RET 1	16	37,50	9,76	58,25	7,08	20,75	7,30
RET 2	13	36,31	8,40	60,46	7,31	24,15	9,78
RET 0	16	41,63	8,24	61,13	3,93	19,50	5,59
RET 1 X RET 2		ns		ns		0,083	
RET 2 X RET 0		0,015		ns (0,144)		0,018	
RET 1 X RET 0		0,045		0,032		ns	

Azzarini en 1995 utilizando las mismas drogas y protocolos de sincronización que fueron utilizados en este trabajo, en ovejas Corriedale, sin aplicar "efecto macho", obtuvo datos para inicio del celo que promediaron 60,7 +/- 11.8 h. Si comparamos este valor con el obtenido por el tratamiento RET0 de nuestro trabajo, se podría plantear que el "efecto macho", por más leve que sea, adelanta el inicio del celo en comparación con ovejas que no reciben ningún tipo de "efecto macho".

No se observan diferencias significativas entre RET1 y RET2, por lo tanto la introducción de los machos en el momento de retirar las esponjas o 24 horas después no influyó en la hora de inicio del celo. Se puede decir entonces, que el "efecto macho" de por si, produce un adelanto en esta variable. Esto coincide con lo expresado por Signoret en 1980, pero los datos obtenidos no concuerdan con lo planteado por el autor con respecto a que el "efecto macho" provoca sincronización de la hora de inicio del celo, dado que no se encontraron diferencias significativas al comparar las varianzas entre tratamientos (cuadro N°2).

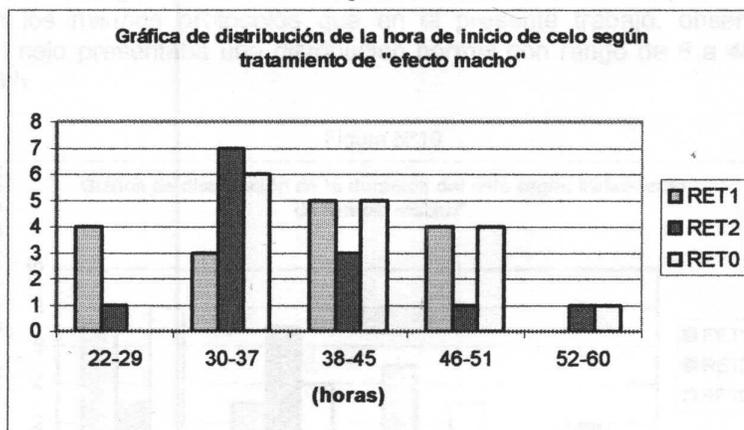
En la figura N°9, se observa que los tres tratamientos presentan similar distribución para el inicio del celo, y cómo los tratamientos de "efecto macho", provocan un adelanto en esta variable.

Cuadro N°2. Resultado de prueba F para las varianzas de las variables según "efecto macho".

	CELO		O-I	O-F	OVULACIÓN
	inicio	duración			
RET1XRET2	ns	ns (0,14)	ns	0,038	ns
RET1XRET0	ns	ns	0,00033	ns	ns
RET2XRET0	ns	0,022	0,00026	ns (0,15)	ns

El adelanto en la hora de inicio del celo causado por el "efecto macho" (RET1 y 2), podría estar explicado por el hecho de que las máximas concentraciones de estrógenos se den antes que lo normal. Los aumentos en la concentración de L.H. producidos anticipadamente cuando se utiliza el "efecto macho" (Martin et al., 1983; Cunningham, 1992), provocarían un adelanto en el incremento de las concentraciones estrogénicas, manifestándose por tanto el celo conductual. Tanto RET1 como RET2 producirían este efecto, ya que el impacto causado por la introducción de los machos se daría en ambos casos antes de que el celo se presente naturalmente.

Figura N°9.



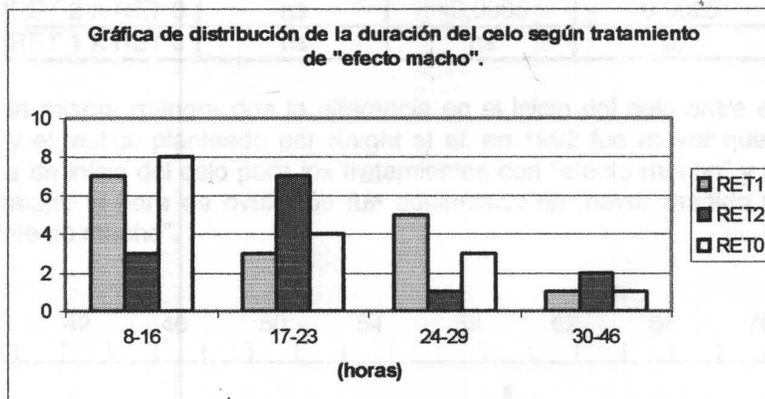
Los adelantos en la hora de inicio producidos por RET1 y 2 en comparación con RET0, son menos significativos que los obtenidos por Knight et al en 1992 trabajando con ovejas Romney sincronizadas con CIDR, utilizando o no PMSG 22,0+/-3,85 h y 30,3+/-8,56 h respectivamente ($P < 0,01$). Sin tener en cuenta las diferencias en la técnica de sincronización ni las raciales, se puede pensar que la PMSG (500 UI) provocaría aumentos mas tempranos en las concentraciones de estrógenos que los obtenidos con el "efecto macho".

Hafez en 1984 expresa que la duración del estro es menor en presencia del macho. Sin embargo cuando se analizan los datos obtenidos se observa claramente que RET2 es diferente a los otros dos tratamientos, siendo el que presenta mayor duración del celo, 24,15+/-9,8 h en comparación a RET1, 20,75+/-7,3 h ($P = 0,083$) y RET0, 19,5+/-5,59 h ($P = 0,018$). El hecho de que no haya diferencias significativas entre RET1 y RET0 ($P > 0,10$) coincide con lo encontrado por Romano et al. en 2001 respecto a que ni la presencia continua ni intermitente del macho afectan la duración del estro, observando valores de 31,1+/-2,7 y 30,2+/-3,5 para los mismos grupos respectivamente ($P > 0,05$). Las causas del incremento en la duración del celo obtenido por el tratamiento RET2 no son claras, aunque podría estar explicado por una prolongación en la oleada de L.H. causada por el "efecto macho" (Lassoued et al., 1995).

El hecho de que no se encontraron diferencias significativas en la duración promedio del celo entre RET1 y RET0, puede llevar a pensar que la cópula no redujo la misma, ya que en el segundo tratamiento no se permitió este estímulo. Esto no era lo esperado, ya que algunos estudios plantean que la cópula acorta en una o dos horas la duración del estro (Hafez, 1984; Romano y Fernández Abella, 1997).

La duración del celo fue baja en general para los tres tratamientos de "efecto macho", en comparación con valores promedio para celo natural de 24 a 36 h (Hafez, 1984). Los datos obtenidos se asemejan a los encontrados por Fernández Abella et al. en 1997, quienes luego de haber sincronizado animales Corriedale, Merino Australiano e Ideal con los mismos protocolos que en el presente trabajo, observaron que la duración del celo presentaba una distribución normal con rango de 8 a 48 h, siendo la media de 23 h.

Figura N°10



La figura N°10 muestra claramente como el tratamiento RET2 presenta mayor duración del celo comparado con los otros 2 tratamientos.

En el cuadro N°2 se observa que la varianza de la variable duración del celo para el tratamiento RET2 es significativamente mayor que para RET0 y tiende a ser mayor que la de RET1, o sea que la duración del celo cuando se aplica este tratamiento es menos uniforme que la obtenida cuando el tratamiento fue alguno de los otros dos.

El momento de ovulación fue diferente para los tres grupos (cuadro N°3, figura N°11). El "efecto macho" produjo un adelanto en esta variable, siendo la incidencia de RET2 (62,2+/-8,06) mayor que la de RET1 (66,2+/-8,65) ($P < 0,056$). Esto quiere decir que el impacto del "efecto macho" en el momento de ovulación, sería aún mayor al realizarlo 24 horas después de retiradas las esponjas. El adelanto en la hora de ovulación coincide con lo encontrado por Romano et al., 2001 quienes obtuvieron un intervalo desde remoción de esponjas hasta ovulación de 62,0+/-5,7 cuando el

tratamiento fue presencia continua de carneros y 72,0+/-12,7 cuando la presencia fue intermitente (P<0,05).

Cuadro N°3. Medias, desvío estándar y D.M.S. para las variables intervalo inicio de celo-momento de ovulación, intervalo final del celo-momento de ovulación y momento de ovulación según tratamiento de "efecto macho".

	N°	O - I		O - F		OVULACIÓN	
		media	desvío	media	desvío	media	desvío
RET 1	14	27,93	8,93	7,36	7,23	66,21	8,65
RET 2	12	27,38	9,33	2,21	4,18	62,21	8,06
RET 0	14	29,29	3,17	8,71	5,74	69,14	7,51
RET 1 X RET 2		ns		0,0025		0,056	
RET 2 X RET 0		ns		<0,0005		0,0025	
RET 1 X RET 0		ns		ns		0,1	

De la misma manera que la diferencia en el inicio del celo entre el tratamiento con PMSG y el testigo planteado por Knight et al. en 1992 fue mayor que la diferencia entre la hora de inicio del celo para los tratamientos con "efecto macho" y el testigo, del presente trabajo, la hora de ovulación fue adelantada en mayor medida por la PMSG que por el "efecto macho".

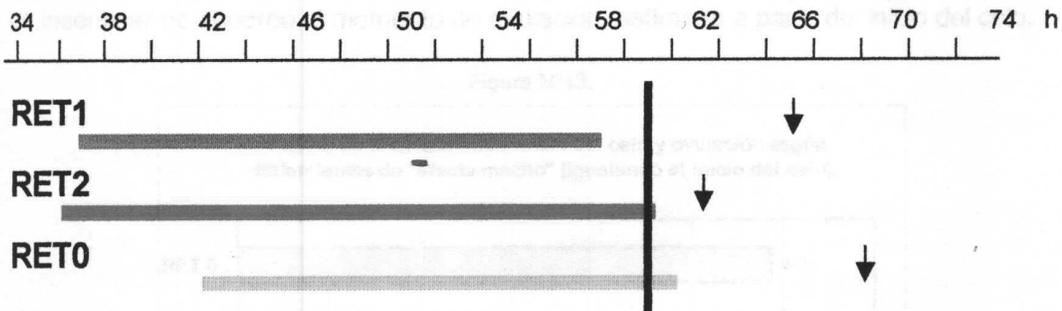


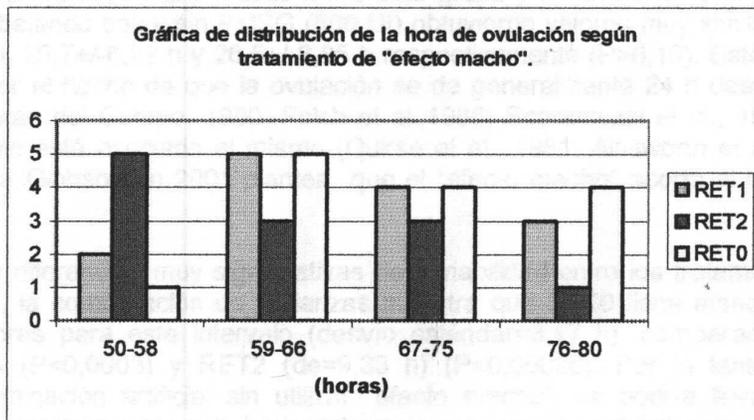
Figura N°11. Esquema de las horas de celo (■) y el momento de ovulación (▼) para los tres tratamientos de "efecto macho". El momento recomendado (||) para realizar la inseminación intrauterina (Fernández Abella, 1993)

No se encontraron diferencias significativas en la sincronización de la variable momento de ovulación (cuadro N°2, figura N°12). Esto no concuerda con lo concluido por Knight et al. en 1992 con respecto a que la presencia continua de carneros reduce la variación entre ovejas en el tiempo de remoción de las esponjas a la ovulación.

El hecho de que se encontraran diferencias significativas entre RET1 y RET2 para el momento de ovulación pero no para el inicio del celo, no quiere decir que hallan

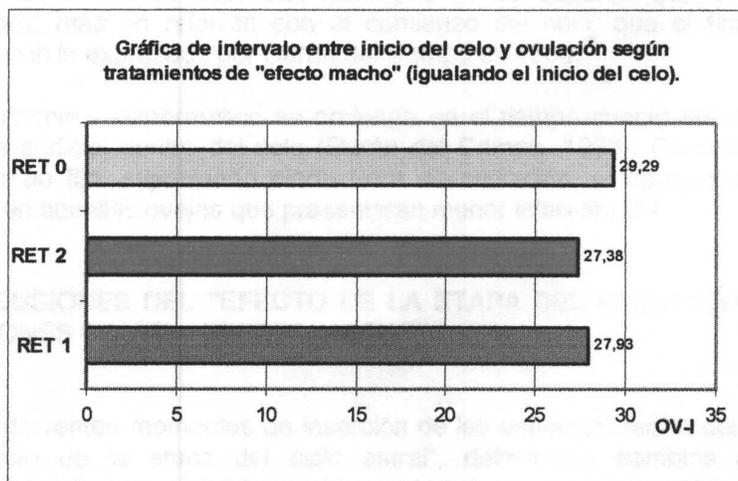
variaciones en el momento de ovulación independientes al inicio de celo. El número de ovejas analizadas para la variable inicio del celo y la variable ovulación, por separado fue diferente. Por lo tanto esto solo puede ser analizado mediante la variable intervalo inicio del celo-momento de ovulación (tomándose el n de ovulación).

Figura N°12.



Para el estudio del intervalo O-I (inicio del celo-momento de ovulación), se igualaron los inicios de celo de los tres tratamientos mostrando el intervalo en una figura (N°13) de barras. Este dato es de fundamental importancia para el uso de la técnica de inseminación artificial con detección de celos, en la que se fija el momento de inseminar de acuerdo al momento de ovulación, estimado a partir del inicio del celo.

Figura N°13.



No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos RET1 y RET0 para el intervalo O-I, esto concuerda con lo investigado por Romano et al. en

2001, quienes tampoco encontraron diferencias significativas para este intervalo entre los tratamientos con presencia continua (29,0+/-4,1h) o intermitente (26,7+/-4,0 h) de los machos luego de retirar las esponjas ($P>0,05$), se ve además que los valores encontrados por estos autores son muy similares a los obtenidos en el presente experimento. Por otra parte RET2 tampoco modificó este intervalo, no habiéndose encontrado diferencias significativas entre este grupo y los otros ($P>0,10$). Knight et al en 1992 trabajando con y sin PMSG (500 UI) obtuvieron valores muy similares a los del experimento, 25,7+/-6,22 h y 26,5+/-3,85 h respectivamente ($P>0,10$). Esto puede estar explicado por el hecho de que la ovulación se da generalmente 24 h después del pico de L.H. (Durán del Campo, 1980; Folch et al., 1988; Scaramuzzi et al., 1993) y que el inicio del celo está asociado al mismo (Quirke et al., 1981; Ainsworth et al., 1992). En contrapartida Gibbson en 2001 plantea que el "efecto macho" acorta el intervalo L.H.-ovulación.

Hay diferencias muy significativas de variabilidad entre los tratamientos para la variable O-I, la comparación de varianzas muestra que RET0 tiene menor variabilidad en sus valores para este intervalo (desvío estándar=3,17 h), comparado con RET1 (de=8,93 h) ($P<0,0003$) y RET2 (de=9,33 h) ($P<0,00026$). Por lo tanto cuando se realiza inseminación artificial sin utilizar "efecto macho", se podría llevar a cabo la misma de acuerdo a la hora de inicio del celo, con mayor seguridad que cuando si se lo utiliza.

Los datos para el intervalo O-F (final del celo-momento de ovulación) muestran que RET2 es el que produce mayor acercamiento entre el final del celo y el momento de ovulación, encontrándose diferencias muy significativas respecto a RET1 y RET0 ($P=0,0025$ y $<0,0005$ respectivamente).

Al analizar ambos intervalos (O-I y O-F) se observa que el momento de ovulación varía más en relación con el comienzo del celo, que al final del mismo, coincidiendo con lo expresado por Durán del Campo en 1980.

El transporte espermático se prolonga en el tiempo cuanto antes se realiza la inseminación artificial dentro del celo (Durán del Campo, 1980). Cuando la misma se realiza a tiempo fijo, suponiendo cierta hora de ovulación, el transporte espermático sería mayor en aquellas ovejas que presentaran menor intervalo O-F.

4.3 REPERCUSIONES DEL "EFECTO DE LA ETAPA DEL CICLO ESTRAL" Y SUS INTERACCIONES CON EL "EFECTO MACHO".

Los diferentes momentos de inserción de las esponjas dentro del ciclo estral, o sea el "efecto de la etapa del ciclo estral", determinan cambios en relaciones hormonales del ciclo, por medio de cambios en los niveles de la progesterona.

Cuando se introducen las esponjas sincronizadoras al inicio del ciclo, o sea en **metaestro** los progestágenos liberados acompañan al incremento en los niveles de progesterona que se dan naturalmente. Por lo tanto durante el tratamiento (14 días) los niveles de progesterona en sangre serán la suma de los dos, y cuando se retiran los pesarios los niveles de progesterona a reabsorber serían mayores, pudiendo demorar el inicio del estro (Martin et al., 1983; Daley et al., 1999). Sin embargo es posible que la luteólisis se produzca hasta 2 días mas temprano que en un ciclo común (Fernández Abella com. pers.), ya que la PGF2 α es liberada por la exposición a altas concentraciones de progesterona durante cierto tiempo (Hafez, 1984; Campbell y Scaramuzzi, 1995).

Por otro lado cuando las esponjas son introducidas en **diestro** se liberan progestágenos en el momento en que el cuerpo lúteo presenta su mayor tamaño y por lo tanto la liberación de progesterona llega a sus niveles más altos. En este momento el nivel de progesterona sería mayor que en el mismo momento de un ciclo natural, pero luego de que se da la luteólisis (entre el día 4 y 7 del tratamiento sincronizador) la progesterona en sangre sería solamente la liberada por los pesarios.

Cuando el tratamiento se inicia en **proestro**, los progestágenos comenzarían a liberarse durante la luteólisis y por lo tanto este tratamiento, produce que los animales presenten mayor periodo con niveles elevados de progesterona en sangre, ya que se continúa el periodo de diestro natural con el tratamiento sincronizador. Sin embargo estos niveles en ningún momento (ni en diestro, ni durante el tratamiento con las esponjas) alcanzan a los que se darían con el tratamiento MET ni en el comienzo del tratamiento DIE.

El periodo aproximado durante el cual los animales presentan niveles elevados de progesterona (mayores que los niveles basales, o sea $P_4 > 0,3$ ng/ml), es diferente por lo tanto para los tres tratamientos MET, DIE y PRO, siendo aproximadamente 17, 22 y 27 días respectivamente.

Las variaciones que se dan en los niveles de progesterona por los diferentes tratamientos de etapa del ciclo estral, repercuten en las variables analizadas interactuando con los tratamientos de "efecto macho". En la figura N°14 se muestra como varía la hora de inicio y la duración del celo, así como el momento de ovulación, según las combinaciones de tratamientos.

Cuando se analizan los valores para **RETO** según el momento de postura de la esponja, se ve que no hay diferencias en lo que al inició o duración del celo respecta (cuadro N°4), pero si las hay en el momento de ovulación, ya que cuando las esponjas son introducidas en diestro el momento de ovulación se atrasa significativamente (cuadro N°5). Esto sin embargo no se traduce en una diferencia significativa en el intervalo O-I para los diferentes momentos de postura de esponja con este tratamiento testigo, pero si se traduce en un mayor intervalo O-F causado por el tratamiento DIE en comparación a PRO y MET. Estas diferencias para O-I y O-F son simplemente estadísticas, ya que el inicio y duración del celo no presentan diferencias significativas,

pero se puede decir que cuando no se realiza "efecto macho", introducir las esponjas en diestro atrasa la ovulación con respecto al celo. En ninguno de los tratamientos combinados con RET0 se encontraron diferencias significativas en la sincronización de las variables (cuadro N°6).

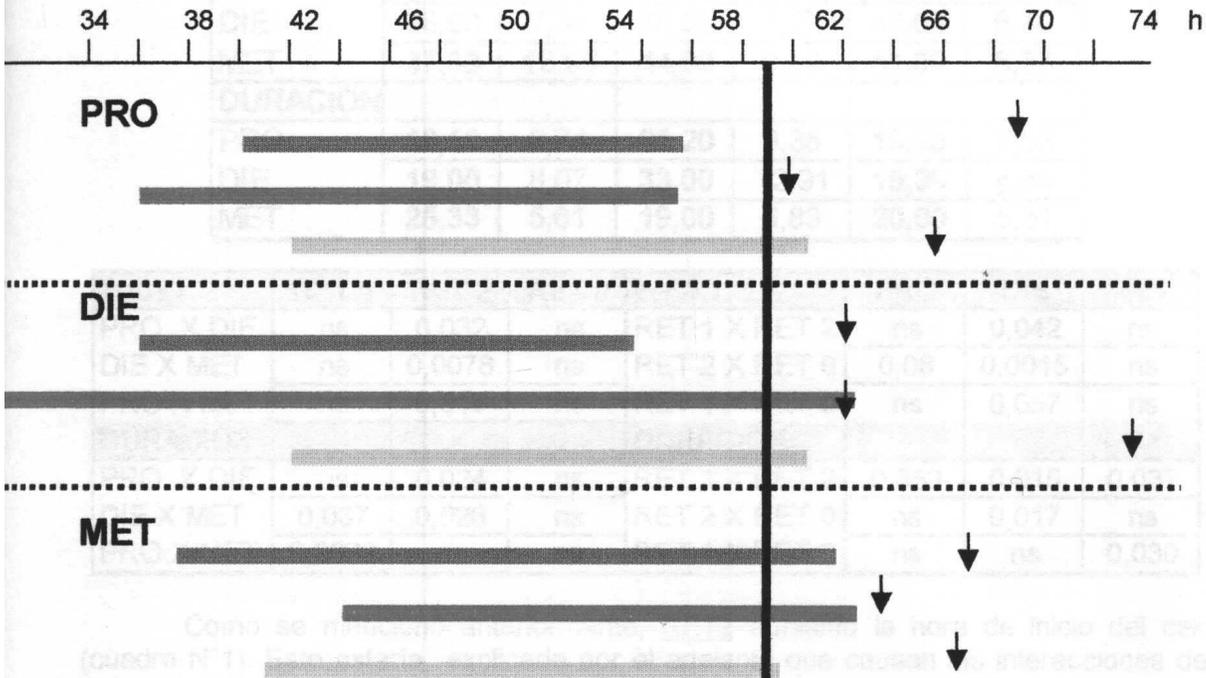


Figura N°14. Esquema de las horas de celo (▬) RET1, (▬) RET2 y (▬) RET0) y el momento de ovulación (▼) según tratamientos de "efecto macho" y "efecto de la etapa del ciclo estral". El momento recomendado (I) para realizar la inseminación intrauterina (Fernández Abella, 1993).

Para el tratamiento RET1 se puede decir que no difiere el inicio del celo por el momento de postura de las esponjas sincronizadoras. Sin embargo la duración del celo es mayor para RET1 X MET con respecto a los otros dos momentos de postura de esponja. Por otra parte el tratamiento RET1 X DIE produce adelanto en la hora de ovulación con respecto a X PRO, y a su vez produce sincronización para esta variable con respecto a X MET y X PRO (P=0,035 y P=0,097 respectivamente). Por el hecho de que RET1 X MET presente mayor duración del celo y no encontrarse diferencias significativas para el momento de ovulación entre la combinación con MET y las otras dos, se da un menor intervalo O-F. Sin embargo no se observan diferencias significativas por el "efecto de la etapa del ciclo estral" dentro del tratamiento RET1 para el intervalo O-I.

Cuadro N°4. Medias, desvío estándar y D.M.S. para el inicio y duración del celo según combinación de tratamientos.

	RET 1		RET 2		RET 0	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
INICIO						
PRO	40,00	6,93	35,20	5,93	42,00	11,31
DIE	36,00	7,38	30,00	3,27	42,00	6,16
MET	37,33	13,95	44,00	9,52	41,00	8,37
DURACIÓN						
PRO	16,50	5,74	21,20	3,35	19,20	7,56
DIE	19,00	8,07	33,00	12,91	19,20	4,60
MET	25,33	5,61	19,00	6,83	20,00	5,51

INICIO	RET 1	RET 2	RET 0	INICIO	PRO	DIE	MET
PRO X DIE	ns	0,032	ns	RET 1 X RET 2	ns	0,042	ns
DIE X MET	ns	0,0078	ns	RET 2 X RET 0	0,08	0,0015	ns
PRO X MET	ns	0,019	ns	RET 1 X RET 0	ns	0,057	ns
DURACIÓN				DURACIÓN			
PRO X DIE	ns	0,024	ns	RET 1 X RET 2	0,053	0,015	0,037
DIE X MET	0,037	0,026	ns	RET 2 X RET 0	ns	0,017	ns
PRO X MET	0,0062	ns	ns	RET 1 X RET 0	ns	ns	0,030

Como se mencionó anteriormente, RET2 adelanta la hora de inicio del celo (cuadro N°1). Esto estaría explicado por el adelanto que causan las interacciones del RET2 con DIE y PRO ya que MET la atrasa. Se puede decir entonces que el momento de postura de esponjas no afecta en gran medida la hora de inicio del celo, ni su duración, excepto en el caso en que es aplicado el tratamiento RET2. Por lo tanto, los efectos de etapa del ciclo estral, interactúan con los tratamientos de "efecto macho". Estas diferencias en las horas de inicio podrían ser explicadas por el hecho de que la exposición prolongada a progestágenos atrase el pico de L.H., por lo que aquellas ovejas a las que se les inserta la esponja en diestro, comenzarían el celo antes que aquellas a las que se les insertó la esponja en proestro (Rodríguez Iglesias et al., 1996).

Por otra parte como se dijo anteriormente cuando el tratamiento de "efecto de la etapa del ciclo estral" es MET, la progesterona a absorber en el momento de la remoción de los pesarios podría ser mayor. Por esta razón el tiempo de espera para que se establezca el estro y por lo tanto el pico de L.H. es mayor (Lewis et al., 1974; Lasoued et al., 1995; Rodríguez Iglesias et al., 1996). Sin embargo algunos trabajos plantean que esto no sucedería (Martin et al., 1983; Daley et al., 1999).

Cuadro N°5. Medias, desvío estándar y D.M.S. para el momento ovulación, intervalo inicio de celo-momento de ovulación e intervalo final de celo-momento de ovulación según combinación de tratamientos.

	RET 1		RET 2		RET 0	
OVULACIÓN	Media	DE	Media	DE	Media	DE
PRO	69,33	10,07	60,70	6,02	66,13	7,69
DIE	63,33	5,13	62,75	12,58	73,30	6,18
MET	67,80	11,69	64,00	6,00	67,40	8,08
O-I						
PRO	28,67	18,04	25,50	5,87	28,13	2,66
DIE	27,33	8,14	32,75	14,36	26,08	13,08
MET	28,20	3,56	23,33	3,06	28,20	3,11
O-F						
PRO	12,00	11,14	4,30	5,22	6,13	6,25
DIE	8,33	6,15	-0,25	2,06	12,10	5,03
MET	3,40	4,83	2,00	3,46	7,40	5,41

OVULACIÓN	RET 1	RET 2	RET 0	OVULACIÓN	PRO	DIE	MET
PRO X DIE	0,098	ns	0,053	RET 1 X RET 2	0,061	ns	ns
DIE X MET	ns	ns	0,078	RET 2 X RET 0	0,095	0,042	ns
PRO X MET	ns	ns	ns	RET 1 X RET 0	ns	0,0024	ns
O-I				O-I			
PRO X DIE	ns	ns	ns	RET 1 X RET 2	ns	ns	0,021
DIE X MET	ns	ns	ns	RET 2 X RET 0	ns	ns	0,017
PRO X MET	ns	ns	ns	RET 1 X RET 0	ns	ns	ns
O-F				O-F			
PRO X DIE	ns	0,03	0,048	RET 1 X RET 2	0,085	0,0027	ns
DIE X MET	0,054	ns	0,053	RET 2 X RET 0	ns	<0,0005	0,038
PRO X MET	0,073	ns	ns	RET 1 X RET 0	ns	0,099	0,085

Posiblemente esto también esté explicado por el hecho de que por problemas experimentales, el periodo de aislamiento de machos fue diferente para los tratamientos PRO (25 d), DIE (20 d) y MET (15 d). El impacto del "efecto macho" sería mas importante, a mayor periodo de aislamiento (Lasoued et al., 1995). Las razones por las cuales estas diferencias se hayan encontrado solamente cuando el tratamiento de "efecto macho" fue RET2 y no RET1, no son claras.

Cuando el "efecto macho" fue RET2, el inicio del celo fue más sincronizado para DIE que para MET (P=0,056) y el primero también tendió a ser más sincronizado que PRO.

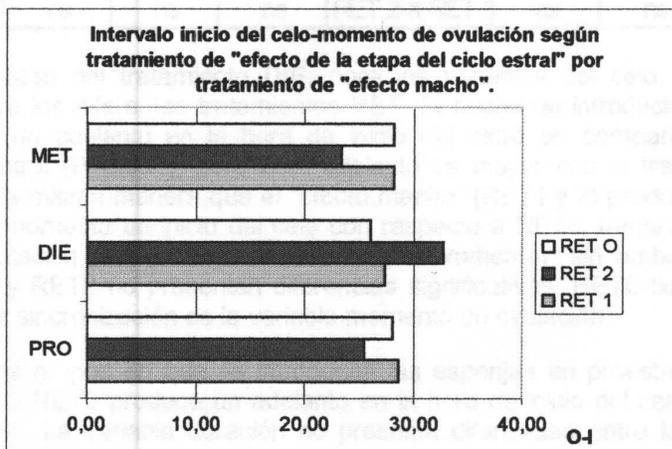
En lo que a momento de ovulación respecta para RET2, no hubieron diferencias significativas cuando las sincronizaciones comenzaron en diferentes etapas del ciclo estral, siendo el único grupo en el que sucedió esto.

Cuando la combinación para este tratamiento de "efecto macho" fue X DIE la varianza del momento de ovulación fue significativamente mayor que la de X PRO y tendiente a ser mayor que la de X MET.

El intervalo O-F (figura N°16) es menor para el tratamiento X DIE que para X PRO, siendo el primero, el único grupo en todo el experimento que presentó la ovulación dentro del celo. El intervalo O-I tampoco se modifica con este tratamiento (figura N°15).

En la figura N°16 se observa que RET2 presenta el menor intervalo O-F sin importar en que momento del ciclo estral se insertan las esponjas. Los otros dos grupos de "efecto macho" interactúan, para esta variable, según que tratamiento de etapa del ciclo estral se aplique (anexo X).

Figura N°15



Si se analizan los resultados obtenidos desde el punto de vista de los tratamientos de "efecto de la etapa del ciclo estral", se obtienen conclusiones de cómo influye cada tratamiento de "efecto macho" sobre cada tratamiento de "efecto de la etapa del ciclo estral".

Cuando el tratamiento de sincronización fue MET no se encontraron diferencias significativas para la hora de inicio y finalización del celo (anexo X, cuadro N°4) entre los tres tratamientos de "efecto macho". Sin embargo, por causas estadísticas, sí se encontraron diferencias significativas para la variable duración, la cuál fue mayor para RET1 que para RET2 y 0 ($P=0,037$ y $P=0,030$ respectivamente). Por otra parte no hubo diferencias entre tratamientos de "efecto macho" en el momento

de ovulación, ni en la sincronización que cada uno mostró sobre estas variables (cuadro N°6) pero si se obtuvo en los intervalos O-I y O-F.

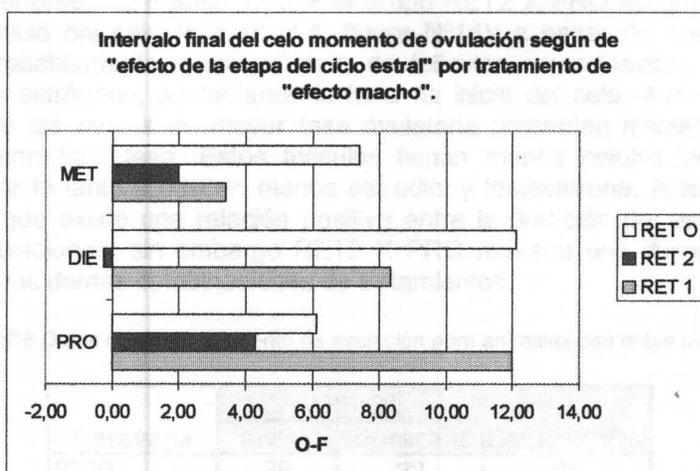
Cuadro N°6. Resultados de prueba F para la comparación de las varianzas de las combinaciones de tratamientos (anexo XI).

	INICIO	DUR	OVUL		INICIO	DUR	OVUL
RET 1				PRO			
PRO X DIE	ns	ns	0,09696	RET 1 X RET 2	ns	ns	ns
PRO X MET	ns	ns	ns	RET 1 X RET 0	ns	ns	ns
DIE X MET	0,094	ns	0,035	RET 2 X RET 0	ns	0,072	ns
RET 2				DIE			
PRO X DIE	ns	0,01233	0,09405	RET 1 X RET 2	ns	ns	0,04092
PRO X MET	ns	ns	ns	RET 1 X RET 0	ns	ns	ns
DIE X MET	0,056	ns	ns	RET 2 X RET 0	ns	0,037	ns
RET 0				MET			
PRO X DIE	ns	ns	ns	RET 1 X RET 2	ns	ns	ns
PRO X MET	ns	ns	ns	RET 1 X RET 0	ns	ns	ns
DIE X MET	ns	ns	ns	RET 2 X RET 0	ns	ns	ns

En el caso del tratamiento DIE, para las variables del celo, se ven claras diferencias entre los diferentes tratamientos RET. El hecho de introducir los retarjos el día 0 produce un adelanto en la hora de inicio del estro en comparación a la que presenta el control (P=0,057), pero este adelanto es mayor con el tratamiento RET2 (P=0,042). De la misma manera que el "efecto macho" (RET1 y 2) produce para DIE un adelanto en el momento de inicio del celo con respecto a RET0, también lo hace para la hora de ovulación (P=0,002 y P=0,042 respectivamente), sin embargo para esta variable RET1 y RET2 no presentan diferencias significativas. RET0 tiende además a provocar mayor sincronización de la variable momento de ovulación.

Para los grupos en que se introducen las esponjas en proestro (PRO) se ve nuevamente que RET2 produce un adelanto en la hora de inicio del celo con respecto a los otros RET. La variable duración no presenta diferencias entre los tratamientos excepto entre RET1 y 2, siendo mayor para el segundo (P=0,053). Las tendencias que se dan para el inicio se consolidan como diferencias significativas en el momento de ovulación, aunque el orden entre RET1 y 0 es inverso, o sea las diferencias entre RET2 y 1 son mayores que con RET0, pero entre RET1 y RET0 no se presentan diferencias significativas. Por lo tanto es lógico el resultado obtenido para O-I, el que no muestra diferencias significativas entre tratamientos.

Figura N°16



4.3 TASA OVULATORIA

Cuadro N°7 tasa ovulatoria (número de cuerpos lúteos: CL) y resultados de la prueba de Chi² según tratamiento de "efecto macho".

	Número de ovejas		Tasa ovulatoria	chi ² Tasa ovulatoria	
	1 CL	2 CL			
RET 1	16	0	1,00	RET1XRET2	0,018
RET 2	12	3	1,20	RET1XRET0	ns
RET 0	16	0	1,00	RET2XRET0	0,018

Cuando se analiza la tasa ovulatoria, los resultados arrojan que el tratamiento RET2 es el que alcanza el mayor valor (1,2) con diferencias muy significativas ($P=0,018$) a los otros dos tratamientos RET1 (1,0) y RET0 (1,0). Las únicas tres ovejas de todo el experimento que presentaron dobles ovulaciones pertenecen al grupo RET2 X PRO, este grupo presenta una tasa ovulatoria (1,6) mucho mayor a la de los demás grupos, siendo la única diferente a 1,0. El hecho de que las tres ovejas con ovulaciones dobles se encuentren en este grupo específico tiene una significancia mayor aún que la de RET2 con respecto a RET1 y 0, ya que la proporción de ovejas con diferente número de ovulaciones es mayor (3/5). Ni los tratamientos RET2 ni PRO por si mismo producen un aumento en la tasa ovulatoria, ya que de ser así también lo producirían combinados con los otros tratamientos, se produce por tanto una interacción para el tratamiento RET2 X PRO con respecto a los otros grupos.

Azzarini y Valledor concluyeron en 1990 que las ovejas con mayor tasa ovulatoria fueron las que presentaron celo mas temprano, esto no coincide con lo observado en el presente trabajo ya que el grupo RET2 X PRO no presento el menor momento de inicio del celo (cuadro N°4, figura N°14); a pesar de que estas ovejas presentaron probablemente mayor número de folículos seleccionados y por esto se produciría más estrógeno, adelantando la hora de inicio del celo. Avdí et al. en 1997 expresaron que las ovejas de mayor tasa ovulatoria presentan folículos más chicos, que aquellas con baja tasa. Estos folículos tienen menos células de la teca y la granulosa, y por lo tanto producen menos estradiol y testosterona. A su vez Hafez en 1980 expresa que existe una relación positiva entre la duración del estro natural y el número de ovulaciones, sin embargo RET2 X PRO muestra una duración intermedia con respecto a las demás combinaciones de tratamientos.

Cuadro N°8 Datos de celo y momento de ovulación para animales con doble ovulación.

Caravana	CELO		OVULACIÓN
	Inicio	duración	
2230	38	22	61
2231	34	20	56,5
2334	44	16	67
Promedio	38,7	19,3	61,5
x Población	38,6	21,3	66,5

En el cuadro N°8 se observa que las ovejas analizadas, no presentan menor momento de inicio ni mayor duración del celo que la población general. Sí se puede ver, que la ovulación se da algo antes que para el promedio de la población.

El hecho de que sea mayor la tasa ovulatoria cuando se aplica el tratamiento RET2, podría ser explicado por que el "efecto macho" estaría actuando en la sensibilización a nivel de pituitaria del feed back negativo que ejerce la ihibina sobre la concentración en plasma de F.S.H.. La interferencia con este feed back limita la habilidad de los folículos dominantes de suprimir el desarrollo de otros folículos y por tanto la tasa ovulatoria aumenta (Campbell y Scaramuzzi, 1995).

Por otro lado se podría pensar que RET2 a través del aumento en la concentración de L.H. el segundo día, provoque en ese momento mayores niveles de estrógeno, evitando que algunos folículos dominantes causen la involución de otros preovulatorios, ya que mayor número de folículos superarían el umbral estrogénico necesario para tomarse dominantes (Driancourt et al., 1985; Fernandez Abella, 1993). O sea el hecho de potencializar las concentraciones de L.H. el segundo día, produciría que la tasa de atresia sea menor, rescatando ciertos folículos que de otra manera no ovularían. Los folículos que serían favorecidos por esto, serían los de mayor tamaño, ya que presentarían mayor facilidad en la fijación de la gonadotropina sobre las células de la granulosa y de la teca (Fernández Abella, 1993).

Como ya fue planteado, cuando el tratamiento de etapa del ciclo estral es PRO, se mantienen niveles altos de progesterona en sangre por más tiempo que cuando el tratamiento es DIE o MET. Esta exposición prolongada a la hormona puede producir incrementos en los niveles de la hormona de crecimiento (Selman et al., 1991, 1994; citados por Rodríguez Iglesias et al., 1996) acompañados por aumentos en la insulina y el factor de crecimiento insulínico que influiría en el desarrollo folicular, ya que jugaría un rol inhibitorio en la regulación de la tasa ovulatoria (Downing et al., 1995; citados por Rodríguez Iglesias et al., 1996; Gibbson, 2000). Sin embargo cabe aclarar que ciertos autores plantean que estos factores no causarían aumentos en la tasa ovulatoria de los ovinos (Davis et al., 1990; Speacer et al., 1993; citados por Rodríguez Iglesias et al., 1996).

Se podría pensar también que el hecho de insertar las esponjas en esta etapa del ciclo produzca la sincronización entre la remoción de los pesarios y alguna fase de mayor crecimiento de una posible onda folicular. Sin embargo la existencia de ondas foliculares en ovinos no está científicamente comprobada (Dailey et al., 1982; Schrick et al., 1993; Ravindra et al., 1994; López Sebastián et al., 1997). Los folículos crecen hasta 4,5-6 mm aunque hayan niveles elevados de progesterona en sangre y cuando esta decrece hay un pico de folículos de diámetro \geq a 6mm (Schrick et al., 1993).

Teniendo en cuenta entonces los factores que intervienen en los aumentos de la tasa ovulatoria, tanto para el tratamiento RET2 como para PRO es que se podría explicar la interacción que esta combinación de tratamientos produce sobre dicha variable, con respecto a las otras combinaciones.

5. CONCLUSIONES

El "efecto macho" adelanta la hora de inicio del celo, no habiendo diferencias entre aplicarlo inmediatamente de retiradas las esponjas o 24 horas después, pero no produce una sincronización de la misma.

La introducción de los machos 24 horas después de retirados los pesarios alarga la duración del celo y adelanta el momento de ovulación en mayor medida que cuando se introducen inmediatamente después de remover los pesarios, pero no se da disminución en la varianza de la variable momento de ovulación, por el hecho de realizar el "efecto macho" 24 h después o inmediatamente a retirar los pesarios. El adelanto producido por RET2 se da, cualquiera sea el momento de inserción de los pesarios.

Los tratamientos de "efecto de etapa del ciclo estral" modifican las características del celo, únicamente cuando el "efecto macho" comienza 24 horas después de retiradas las esponjas y modifican las características del momento de ovulación cuando el "efecto macho" comienza inmediatamente de retiradas las mismas o cuando no se realiza el mismo.

Se puede pensar entonces que las altas concentraciones de progesterona, así como el período por el cual estas se mantienen, están relacionados con un efecto retrasante sobre la reactivación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, pero que el "efecto macho" realizado a las 24 horas logra adelantar e igualar la hora de ovulación para los tres tratamientos de "efecto de la etapa del ciclo estral".

A pesar de ser diferentes los tiempos de reactivación para el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, según el momento de inserción de los pesarios, RET2 provoca que el pico de L.H. se dé a la misma hora para los tres tratamientos, siempre y cuando supongamos que el intervalo pico de L.H.-ovulación sea constante.

El intervalo inicio del celo-ovulación (O-I) no se modifica respecto al testigo, con los tratamientos RET1 y RET2, ni con la mayoría de los tratamientos de efecto de etapa de ciclo estral, mostrando ser una característica que permanece prácticamente invariable. Con el tratamiento RET0 se encuentra la menor variabilidad para este intervalo, lo que permite concluir que cuando se realiza inseminación artificial levantando celo, sin realizar "efecto macho", se lograrían buenos resultados.

Con la introducción de los machos a las 24 horas de retiradas las esponjas se logra el menor intervalo final del celo-ovulación, teniendo diferencias muy significativas respecto a los otros dos tratamientos de "efecto macho", esto muestra que se logra una ovulación más cercana al celo (en algunos casos dentro del mismo), lo que significa tener mayor tiempo en condiciones favorables para el transporte espermático.

La combinación del tratamiento RET2 con el tratamiento PRO de momento de inserción de la esponja logra obtener las mayores tasas ovulatorias.

Como es sabido el "efecto macho" produce una potencialización del pico de L.H., pero realizar este efecto a las 24 horas de retirados los pesarios produce un mayor impacto, ya que el pico se daría después de las 24 horas. El "efecto macho" afectaría las relaciones hormonales de forma inmediata a su aplicación y la introducción de los mismos muchas horas antes del pico de L.H., produce una dilución del efecto.

El tratamiento RET2 provoca modificaciones hormonales de mayor magnitud que RET1, actuando con mayor vigor sobre la oleada preovulatoria de L.H..

Al modificarse el momento de ovulación, se debería adecuar, según el tratamiento, el momento de inseminación. De realizarse la inseminación cervical (I.A.C.), el mismo sería 48-52 h, y entre 55 y 65 horas luego de retiradas las esponjas, si se realiza inseminación intrauterina (I.A.I.U.).

Tomando en cuenta el tiempo de vida fecundable de los óvulos y la supervivencia de los espermatozoides, así como el transporte de gametas, se puede afirmar que cuando se realiza "efecto macho" a las 24 horas de retiradas las esponjas sería recomendable inseminar a tiempo fijo. Según el método de inseminación se debería inseminar 12 a 14 h (I.A.C.) y 6 a 7 h (I.A.I.U.) antes del momento de ovulación es decir 48-50 y 55-56 h de retirados los pesarios para cervical e intrauterina respectivamente.

Por otra parte cuando no se realiza "efecto macho", lo recomendable sería no inseminar a tiempo fijo, si no que hacerlo levantando celos. La hora recomendada sería 15 a 17 h y 22 a 23 h luego de iniciado el celo, para cervical e intrauterina respectivamente.

Todo esto indicaría que en caso de utilizar la técnica de "efecto macho" en la sincronización durante la estación de cría, sería recomendable la introducción de los machos 24 horas después de retirar las esponjas sincronizadoras.

6. RESUMEN

Se sincronizaron los ciclos estruales de 53 de ovejas adultas, Corriedale, multíparas, durante la estación de cría, mediante esponjas de poliuretano conteniendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MPA). Se estudió el efecto de la introducción de los pesarios sincronizadores, en diferentes etapas del ciclo estral (MET, DIE y PRO) y el efecto de la inclusión de careros vasectomizados en el momento de retirar las esponjas (RET1) o a las 24 h (RET2), frente a un testigo (RET0). Se determinó la hora de inicio y duración del celo (con los mismos retarjos, excepto en RET0 en el cual se introdujo un retarjo cada 4 h durante 30 min. evitando la cópula) así como el momento de ovulación y tasa ovulatoria (por laparoscopia a intervalos de 6 h).

RET1 y 2 adelantaron de igual forma el inicio del celo ($P=0,045$ y $P=0,015$ respectivamente) con respecto a RET0 (media \pm desvío estándar) 37,50 \pm 9,76 h; 36,31 \pm 8,40 h y 41,63 \pm 8,24 h respectivamente, la duración del celo fue mayor cuando el tratamiento de "efecto macho" fue RET2 (24,15 \pm 9,78) con respecto a los otros dos tratamientos de "efecto macho" (RET1=20,75 \pm 7,30 h; RET0=19,50 \pm 5,59 h; $P=0,083$ y $P=0,018$). El hecho de incluir vasectomizados, produjo adelanto en el momento de ovulación, a la vez que RET2 produjo un mayor adelanto que RET1 ($P=0,056$), con respecto al grupo testigo, 62,21 \pm 8,06 h; 66,21 \pm 8,65 h y 69,14 \pm 7,51 h ($P=0,0025$ y $P=0,1$). Sin embargo el "efecto macho" no produjo sincronización en esta variable. No se encontraron diferencias significativas en el intervalo O-I entre los tratamientos ($P>0,10$), pero si se encontró que el intervalo O-F fue menor cuando el tratamiento fue RET2 (RET 2 X 1, RET2 X 0, $P=0,0025$ y $P<0,0005$ respectivamente). RET2 adelantó el momento de ovulación independientemente del tratamiento de "efecto de la etapa del ciclo estral", sin embargo estos tratamientos modificaron las variables de distinta manera según fuera el tratamiento de "efecto macho". La combinación de los tratamientos RET2 y PRO produjo la mayor tasa ovulatoria.

Se puede concluir de este trabajo que si se realiza la técnica de "efecto macho" luego de sincronizar los celos mediante progestágenos, es conveniente introducir los machos a la majada 24 h después de retirar los pesarios. A su vez se puede decir que el momento en que se realice la inseminación artificial, debe ser diferente según el tratamiento de "efecto macho" que se realiza. El hecho de introducir las esponjas sincronizadoras en diferentes etapas del ciclo estral no se justificaría, al menos cuando el "efecto macho" se realiza 24 h luego de retirar las mismas, como medida práctica para obtener mayor sincronización en el momento de ovulación, pero tal vez si para obtener una mayor tasa ovulatoria.

7. SUMMARY

Title: Effects of the estrus cycle stage at the beginning of the synchronizing period with progestagens and the rams introduction moment, in de estrus onset an the ovulation in Corriedale ewes.

Fifty three adult, multiparus, Corriedale ewes where synchronized with polyurethane sponges containing 60 mg of medroxiprogesterone acetate (MPA) during the breeding season. The effect of introducing the pessaries in different stages of the estrus cycle (MET, DIE and PRO) and the effect of the inclusion of teaser rams at sponge removal (RET1) or 24 h after (RET2), against a non treated group (RET0) were studied determining the time of onset and duration of estrus (using the same rams in RET1 and 2, introducing one of them into RET0 group for a 30 min teasing period, each at 4 h intervals, not allowing copulation), as well as the ovulation time and rate (by laparoscopy at 6 h intervals).

RET1 and 2 produced a significant reduction in estrus onset time ($P=0,045$ and $P=0,015$) respect RET0 (mean \pm SD) 37,50 \pm 9,76 h; 36,31 \pm 8,40 h and 41,63 \pm 8,24 h respectively. When "ram effect" was RET2 (24,15 \pm 9,78) estrus duration was longer (RET1= 21,75 \pm 7,30 h; RET0= 19,50 \pm 5,59h; $P=0,083$ and $P=0,018$ respectively). Ovulation time was reduced when teaser rams were introduced, and when the treatment was RET2, this effect was biggest than the obtained with RET1 ($P=0,056$) respect RET0, 62,21 \pm 8,06 h; 66,21 \pm 8,65 h and 69,14 \pm 7,51 h ($P=0,0025$ and $P=0,1$). However this characteristic was not synchronized as a result of the "ram effect". No significant differences were found in the O-I interval between treatments ($P>0,10$), except for one of the combinations of treatments, but O-F interval was reduced when the "ram effect" treatment was RET2 (RET2X1, RET2X0, $P=0,0025$ y $P<0,0005$ respectively). The RET2 treated ewes exhibited the ovulation time earlier independently of the "effect of the estrus cycle stage", nevertheless these treatments modified in different ways the variables as the "ram effect" differed. The treatments combination of RET2 and PRO produced the biggest ovulation rate.

We can conclude that if, after estrus is synchronized, the "ram effect" technique is used, it is convenient to introduce rams into the ewes 24 h after the sponge removal. Also we can express that A.I. time must be modified in spite of the treatment of "ram effect" that is used. Finally introducing the pessaries in different stages of the estrus cycle would not be justified so as to obtain better synchronization in the ovulation time, although could be a useful tool in order to obtain bigger ovulation rates, at least when the "ram effect" is 24 h after the sponge removal.

BIBLIOGRAFÍA

1. AINSWORTH, L.; LACHANCE, R. y LABRIE, F.. 1982. Effects of progestagen treatments and PMSG on the induction of the provulatory L.H. discharge in ewes. *Animal Reproduction Science*. 5:281-286.
2. AINSWORTH, L. y WOLYNETZ, S.. 1982. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestogens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. *Journal of Animal Science*. 54(6):1120-1127.
3. AVDI, M.; CHEMINEAU, P. y DRIANCOURT, M. A.. 1997. Alterations in follicular maturation associated with within-breed variation in ovulation rate in Chios sheep. *Animal Reproduction Science*. 46:223-235.
4. AZZARINI, M.. 1983. Algunas formas de mejorar los procreos. *Ovinos y Lanos*. 9:23-32.
5. AZZARINI, M.. 1985a. El efecto de la inmunización contra esteroides ováricos mediante "fecundina" sobre la reproducción de ovejas Corriedale. I. Tasa ovulatoria. *Ovinos y Lanos*. 14:19-23.
6. AZZARINI, M.. 1985b. Vías no genéticas para modificar la prolificidad ovina. *In Seminario técnico de producción ovina, II, Salto, SUL*. 109-132p.
7. AZZARINI, M.. 1990. Contribución del control reproductivo a los sistemas de producción ovina. *In Seminario técnico de producción ovina, III, Paysandú, SUL*. 109-127p.
8. AZZARINI, M. y VALLEDOR, F.. 1990. Efecto de la PMSG y de carneros vasectomizados sobre la reproducción de ovejas sincronizadas e inseminadas por vía laparoscópica con semen fresco o congelado, en otoño. *Producción Ovina*. 3(1-2):35-45.
9. AZZARINI, M.. 1992a. Contribución de la tecnología reproductiva al mejoramiento genético de la especie ovina. *In Seminario sobre Mejoramiento Genético en Lanares, II, Piriapolis, Uruguay, SUL*. 185-195p.
10. AZZARINI, M.. 1992b. Reproducción en ovinos en América Latina. Algunos resultados de la investigación sobre factores determinantes del desempeño reproductivo y su empleo en condiciones de pastoreo. *Producción Ovina* 5:7-56.
11. AZZARINI, M.. 1995. Evaluación del efecto de dispositivos intravaginales con progesterona (CIDR-G) o un progestágeno sintético (MAP), sobre la sincronización del ciclo estral y la fertilidad de ovejas Corriedale en otoño. *Producción Ovina*. 8:61-68.
12. BAIRD, D.T.. 1983. Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human. *Journals of Reproduction and Fertility*. 69:343-352.

13. BEISSO, F. y TRAMBAUER, E.. 1992. Utilización del efecto macho y distintos tipos de canula y semen en la inseminación artificial en ovinos. Tesis de Ing. Agr.. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 45p.
14. BLANC, M.R.; POIRIER, J.C.; LOCATELLI, A. y CARATY, A.. 1993. Evidence for protein-like factor from "rete testis" fluid that suppresses luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) pulses (LHRH statin): a new hormonal activity? *Endocrinology*. 133(6):2453-2460.
15. BONINO MORLAN, J.; HUGHES, P.; VILLAMIL, A.; AZZARINI, M. y VALLEDOR, F.. 1989. Multiovlación y trasplante embrionario en ovinos. Resumen de experiencias realizadas en Uruguay. *Producción ovina*. 2(1):11-22.
16. BONINO MORLÁN, J. y HUGHES, P.. 1996. Inducción de celos en ovejas Corriedale fuera de estación sexual. *Producción Ovina*. 9:85-94.
17. BIRCH, E.J.; KNIGHT, T.W. y SHAW, G.J.. 1989. Separation of male goat pheromones responsible for stimulating ovulatory activity in ewes. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 32:337-341.
18. CAHILL, L.P.; SAUMANDE, J.; RAVAUULT, J.P.; BLANC, M.; THIMONIER, J.; MARIANA, J.C. y MAULÉON, P.. 1981. Hormonal and follicular relationships in ewes of high and low ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility*. 62:141-150.
19. CAMPBELL, B.K. y SCARAMUZZI, R.J.. 1995. Effect of acute immunoneutralization of inhibin in ewes during the late luteal phase of oestrus cycle on ovarian hormone secretion and follicular development during the subsequent follicular phase. *Journal of Reproduction and Fertility*. 104:337-345.
20. CANAVERO LECUONA, M.J. y PASCAL ACUÑA, A.. 1996. Sincronización de celos y momento óptimo para la inseminación artificial en ovinos. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 53p.
21. COLAS, G. et al., 1968. Resultats obtenus au cours de l'étude de quelques facteurs importants de l'insemination artificielle ovine. *Annales de Zootechnie*. 17:47-57.
22. COGNIÉ, Y. y SIGNORET, J.P.. 1988. Use of the "ram effect" for manipulation of the timing of the onset and establishment of regular cycles and pregnancy in ewe. *World Review of Animal Production*. (XXIV, N° 2):23-29.
23. CUNNINGHAM, J.G.. 1992. *Fisiología Veterinaria*. 1ª edición. México, Interamericana, McGraw-Hill. 716 p.
24. CUSHWA, W.T., BRADFORD, G.E., STABENFEJDT, G.H., BERGER, Y.M. y DALLY, M.R.. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrous ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *Journal of Animal Science*. 70:1195-1200.
25. DALEY, C.A.; MACFARLANE, M.S.; SAKURAI H. y ADAMS, T.E.. 1999. Effect of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 117:11-16.

26. DAILEY, R.A.; FOGWELL, R.L. y THAYNE, W.V.. 1982. Distribution of visible follicles on the ovarian surface in ewes. *Journal of Animal Science*. 54:1196-1204.
27. DOBSON, H.; CAMPBELL, B.K. y SCARAMUZZI, R.J.. 1997. Use of GnRH antagonist in conjunction with low amplitude, high frequency L.H. pulses to induce follicular growth without an L.H. surge and ovulation in ewes. *Animal Reproduction Science*. 46:213-223.
28. DRIANCOURT, M.A.; GIBSON, W.R. y CAHILL, L.P.. 1985. Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. A review. *Reproduction, Nutritional, Development*. 25(1A):1-15.
29. DURAN DEL CAMPO, A.. 1980. Anatomía y fisiología de la reproducción e inseminación artificial en ovinos. Primera edición. Montevideo, Uruguay. Editorial agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L. 264p.
30. EHNERT, K. y MOBERG, G. P.. 1991. Disruption of estrous behavior in ewes by dexamethasone or management-related stress. *Journal of Animal Science*. 69:2988-2994.
31. EPPLESTON, J. y ROBERTS, E.M.. 1986. The effect of progestagen, PMSG and time of insemination on fertility in ewes following intr-uterine insemination with frozen semen. *Australian Veterinary Journal*. 63(4):124-125.
32. EPPLESTON, J.; EVANS, G. y ROBERTS, E.M.. 1991. Effects of time of PMSG and GnRH on the time of ovulation, L.H. secretion and reproductive performance after intrauterine insemination with frozen ram semen. *Animal Reproduction Science*. 26:227-237.
33. FERNÁNDEZ ABELLA, D.H.. 1993. Principios de fisiología reproductiva ovina. Montevideo, Universidad de la República, Editorial Hemisferio Sur. 247 p.
34. FERNÁNDEZ ABELLA, D.H.. 1987. Temas de reproducción ovina; Utilización del "efecto macho" en producción ovina. 1ª edición. Estación Experimental de Salto, División publicación y ediciones de la Universidad de la República. 217-232.
35. FERNÁNDEZ ABELLA, D.H.. 1995. Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Primera edición. Montevideo, Uruguay. Departamento de Publicaciones de la Universidad de la República y Departamento de Publicaciones de la Facultad de Agronomía. 206p.
36. FERNÁNDEZ ABELLA, D.H.; BARÚ, V.; LÓPEZ, O.; MAILHOS DEL REY, M.; URIOSTE, M. y VILLEGAS, N.. 1997. Estudio de la duración del celo en ovejas a campo. *Producción Ovina* (10):53-62.
37. FRY, R.C. y DRIANCOURT, M.A.. 1996. Relationships between follicle-stimulating hormone, follicle growth and ovulation rate in sheep. *Reproduction, Fertility, Development*. 8:279-286.

38. GAUDOUIN, A.. 1981-1982. Etude de l'effet male chez les ovins et son application pratique. Tesis Spécialisation: Zootechnie. Rennes, Francia. L'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. 54p.
39. GIBBSON, A.. 2000. Aspectos fisiológicos de la reproducción en las ovejas. *In* Actualización en producción ovina. J. P. Mueller, H.R. Taddeo y F.A. Uzal. Estación Experimental Agropecuaria de Bariloche, INTA. 55-62.
40. GONZÁLEZ DE BULNES, A.; MORENO, J.S. y LÓPEZ SEBASTIÁN, A..1998. Crecimiento y desarrollo folicular individual en el ovario de los rumiantes. *Archivos de Reproducción Animal*. 6:48-58.
41. GODFREY, R.W.; GRAY, M.L. y COLLINS, J.R. 1997. A comparison of two methods of oestrus synchronization of hair sheep in the tropics. *Animal Reproduction Science*. 47 (1-2):99-106.
42. GUST, C.M.; DEEVER, D.R.; DAILEY, R.A. y INSKEEP, E.K..1984. Relationships between LH and estradiol-17 β after removal of luteal progesterone in the ewe. *Journal of Animal Science*. 58(2):396-400.
43. HAFEZ, E.S.E..1984. Reproducción e inseminación artificial en animales. 6ª edición Mexico, Interamericana. McGraw-Hill. 542p.
44. HUSEIN, M.Q.; BAILEY, M.T.; ABABNEH, M.M.; ROMANO, J.E.; CRABO, B.G. y WHEATON, J.E..1998. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. *Theriogenology*. 49(5):997-1005.
45. JOSEPH, I.B.J.K.; RAVINDRA, J.P. y RAWLINGS, N.C.. 1995. Oestradiol and the preovulatory surges of luteinising hormone and follicle stimulating hormone in ewes during the breeding season and transition into anoestrus. *Animal Reproduction Science*. 40:291-298.
46. KNIGHT, T.W.; PETERSON, A.J. y PAYNE, E.. 1978. The ovarian and hormonal response to the ewe to stimulation by the ram early in the breeding season. *Theriogenology*. 10(5):343-348.
47. KNIGHT, T.W.; O'NEIL, K.; RIDLAND, M.; HAMILTON, G.; DEATH, A. y WYETH, T.. 1992. Effects of month and PMSG on the interval from CIDR removal to ovulation in Romney and Merino ewes. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Productions*. 52 :261-263.
48. LASSOUED, N.; KHALDI, G.; COGNIÉ, Y; CHIMENEAU, P. y THIMONIER, H..1995. Effet de la progestérone sur le taux d'ovulation et la durée du cycle ovarien induits par effet mâle chez la brebis Barbarine et la chèvre locale tunisienne. *Reproduction, Nutrition and Development*. 35:415-426.
49. LEWIS, P.E.; BOLT, D.J. y INSKEEP, E.K..1974. Pattern of luteinizing hormone release in progestine-treated ewes. *Journal of Animal Science*. 38(6):1204-1209.

50. LINDSAY, D.R. et al., 1975. Estudios in ovine fertility in agricultural regions of Western Australia: ovulation rate, fertility and lambing performance. *Australian Journal of Agricultural Research*. 26:189-198.
51. LOPEZ SEBASTIAN, A.; GONZALEZ DE BULNES, A.; SANTIAGO MORENO, J.; GOMEZ-BRUNET, A.; TOWNSEND, E.C. y INSKEEP, E.K.. 1997. Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes. *Animal Reproduction Science*. 48:279-291.
52. MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M. y LINDSAY, D.R.. 1981. Effect of Stress due to laparoscopy on plasma cortisol levels, the preovulatory surge of L.H., and ovulation in the ewe. *Theriogenology*. 16(1):39-43.
53. MARTIN, G. B.; SCARMUZZI, R.J. y LINDSAY, D.R.. 1983. Effect of the introduction of rams during the anoestrous season on the pulsatile secretion of L.H. in ovariectomized ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 67:47-55.
54. MARTIN, G. B.; SCARMUZZI, R.J.; OLDHAM, C.M. y LINDSAY, D.R.. 1983. Effect of progesterone on the responses of Merino ewes to the introduction of rams during anoestrus. *Australian Journals in Biology Science*. 36:369-378.
55. MARTIN, G. B.; PRICE, C.A.; THIÉRY, J-C y WEBB, R.. 1987. Interactions between inhibin, oestradiol and progesterone in the control of gonadotrophin secretion in the ewe. *Journals of Reproduction and Fertility*. 82:319-328.
56. MENDOZA AMARAL, A.; 1968. Curso básico teórico practico de lanares y lana que se dicta en la comisión honoraria de la producción ovina. Montevideo, Uruguay. Comisión Honoraria de Mejoramiento de la Producción Ovina. 144 p.
57. MERTENS, M.J.; LABAT, M.; FERNÁNDEZ ABELLA, D.H. y RODRÍGUEZ BLANQUET, J.B.. 1999. Dinámica folicular ovarica de los bovinos. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 10 p.
58. MINTON, J.E.. 1994. Function of the hipothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *Journal of Animal Science*. 72:1891-1898.
59. NARAYANA, K. y DOBSON, H.. 1979. Effect of administration of antibody against GnRH on preovulatory L.H. and F.S.H. surges in the ewe. *Journals of Reproduction and Fertility*. 57:65-72.
60. NOTTLE, M.B.; KLEEMANN, D.O.; GROSSER, T.I. y SEAMARK, R.F.. 1997. Evaluation of a nutritional strategy to increase ovulation rate in Merino ewes mated in late spring-early summer. *Animal Reproductions Science*. 47:255-261.
61. NUGENT, R.A. y NOTTER, D.R.. 1990. Effect of cohabitation with white-faced ewes on estrous activity of Hampshire and Suffolk ewes exposed to rams in june. *Journal of Animal Science*. 68:1513-1519.

62. PEREIRA NEVES, J. y NADAL da LUZ, S. L.. 1994. Inseminação laparoscópica em ovelhas com cio natural induzido e sincronizado antes e durante a estação reprodutiva. *Ciência Rural*, Santa Maria. 24(1):133-137.
63. PEREZ ALVAREZ, E.; METHOL, R. y CORONEL, F.. 1991. Apuntes de lanares y lanas, Manejo. Montevideo, Sección de promoción y capacitación del SUL. 92p.
64. PERKINS, A. y FITZGERALD, A.. 1994. The behavioral component of the ram effect: The influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *Journal of Animal Science*. 72:51-55.
65. PIERCE, G.P. y OLDHAM, C.M..1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *Journals of Reproduction and Fertility*. 84:333-339.
66. QUIRQUE, J. F.; JENNINGS, J.J.; HANRAHAN, J.P. y GOSLING, J.P.. 1979. Oestrus, time ovulation, ovulation rate and conception rate in progestagen-treated ewes given Gn-RH analogues and gonadotropins. *Journals of Reproduction and Fertility*. 56:479-488.
67. QUIRQUE, J. F.; HANRAHAN, J.P. y GOSLING, J.P.. 1981. Duración de oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total oestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lambs. *Journals of Reproduction and Fertility*. 61:265-272.
68. QUISPE, T.; ZARCO, L.; VALENCIA, J. y ORTIZ, A.. 1994. Estrus synchronization with melengestrol acetate in cyclic ewes. Insemination with fresh or frozen semen during the first or second estrus post treatment. *Theriogenology*. 41:1385-1392.
69. RAVINDRA, J.P.; RAWLINGS, N.C.; EVANS, A.C.O. y ADAMS, G.P..1994. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrus cycle. *Journals of Reproduction and Fertility*. 101:501-508.
70. RODRIGUEZ IGLESIAS, R.M.; CICCIOLO, N.H.; IRAZOQUI, H. y GIGLIOLI, C..1996. Ovulation rate in ewes after single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. *Animal Reproduction Science*. 44:211-221.
71. ROMANO, J.E.. 1996. Comparison of fluorgestone and medroxiprogesterone intravaginal pessaries for estrus synchronization in dairy goats. *Small Ruminants Research*. 22:219-223.
72. ROMANO, J.E.; RODAS, E.; FERREIRA, A.; LAGO, I. y BENECH, A.. 1996. Effect of progestagen, PMSG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. *Small Ruminant Research*. 23:157-162.
73. ROMANO, J.E.; FERNÁNDEZ ABELLA, D.. 1997. Effect of service on duration of oestrus and ovulation in dairy goats. *Animal Reproduction Science*. 47 (1-2):107-112.
74. ROMANO, J.E.; CHRISTIANY, C.J.; GRABO, B.G.. 1999. Continuous presence of rams induce estrus onset in synchronized ewes during the breeding season. *Applied Animal Behaviour Science*. 66(1-2):65-70.

75. ROMANO, J.E.; FERNÁNDEZ ABELLA, D.H. y VILLEGAS, N..2001. Effect of the continuous presence of rams on estrus onset, estrus duration and ovulation time in ewes estrus synchronized during the breeding season. *Applied Animal Behaviour Science*. 73:193-198.
76. ROMERO, R.. 2001. Caracterización Geográfica y Socioeconómica del Uruguay. <http://www.agroclima.infosatelite.com.uy/>.
77. ROZELL, T.J. y KEISLER, D.H.. 1990. Effects of oestradiol on L.H., F.S.H and prolactin in ovariectomized ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 88:645-653.
78. SCARAMUZZI, R.J.; MARTENSZ, N.D. y VAN LOOK, P.F.A.. 1980. Ovarian morphology and the concentration of steroids, and of gonadotrophins during the breeding season in ewes actively immunized against oestradiol-17 β or oestrone. *Journals of Reproduction and Fertility*. 59:303-310.
79. SCARAMUZZI, R.J. y RADFORD, H.M.. 1983. Factors regulating ovulation rate in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 69(resumen):353-367.
80. SCARAMUZZI, R.J.; ADAMS, N.R.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K. DOWNING, J.A.; FINDLAY, J.K.; HENDERSON, K.M.; MARTIN, G. B.; Mc NATTY, K.P.; Mc NEILLY, A.S. y TSONIS, C.G.. 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction and Fertility Development*. 5:459-478.
81. SCHRICK, F. N.; SURFACE, R. A.; PRITCHARD, J.Y.; DAILEY, R. A.; TOWNSEND, E.C. y INSKEEP, E. K.. 1993. Ovarian structures during the estrus cycle and early pregnancy in ewes. *Biology of Reproduction*. 49:1133-1140.
82. SIGNORET, J.P.. 1980. Effet de la présence du mâle sur les mécanismes de reproduction chez la femelle des mammifères. *Reproduction, Nutrition and Development*. 20(2):457-468.
83. VAN LIER, E..1998. Some aspects on the effect of stress on sheep reproduction. Tesis Lic. de grado en Med. Vet.. Uppsala, Suecia, Swedish University of Agricultural Sciences. 65p.
84. WEBB, R y ENGLAND, B.G.. 1982. Relationship between L.H. receptor concentration in thecal and granulosa cells and in-vivo and in vitro steroid secretion by ovine follicles during the preovulatory period. *Journal of Reproduction and Fertility*. 66:169-180.
85. WEBB, R; GAULD, I.K. y DRIANCOURT, M.A.. 1989. Morphological and functional characterization of large antral follicles in three breeds of sheep with different ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility*. 87:243-255.

ANEXO I							
Total con esponjas el 18/3							
2200	3,50	3,75	S		N		1
2201	3,50	3,50	S		L		
2202	3,25	3,00	S		L		
2203	3,25	3,50	P		L		
2206	3,25	3,50	P		L		
2207	3,00	3,25	S		L		
2209	3,00	3,00	P		N	N	2
2212	3,25	3,50	S		L		
2213	3,50	3,50				P	2
2214	3,00	3,50				S	L
2215	3,00	3,50		S		L	
2217	3,25	3,00		S		L	
2218	3,50	3,50				S	L
2219	3,00	3,25	P		N	N	L
2220	3,75	3,50	S		L		
2221	3,00	3,00		S		L	
2222	3,50	3,25				S	L
2223	3,50	3,75	P			S	L
2224	3,50	3,00		S		L	
2225	3,50	3,50	P		N	N	L
2226	3,50	3,25				S	1
2227	3,50	3,50		S		L	
2228	3,50	3,50				S	L
2229	3,75	3,50		S		L	
2230	3,25	3,50	S		L		
2231	3,50	3,50	S		L		
2232	3,50	3,50	P		N	N	L
2234	3,75	3,50	S		L		
2235	3,75	3,50	S		L		
2236	3,75	3,50		S		L	
2238	3,00	3,25		S		L	
2239	2,75	3,00	S		L		
2240	3,75	3,75		S		L	
2241	3,50	3,50				S	L
2242	3,25	3,50				S	2
2243	3,75	3,75				S	2
2244	3,50	3,50		S		L	
2245	3,50	3,00	ab. or			S	L
2246	3,00	3,00	S	ab. or/	L		
2247	3,50	3,25		S		L	
2248	3,25	3,00	P		L		
2249	3,50	3,50				S	L
2314	3,75	3,75	S		L		
2315	3,75	4,00		S		L Pietin	
2317	3,75	3,50	P		L		
2319	3,25	3,25	P		L		
2320	3,50	3,00	P		L		

2321	3,75	3,50		S			L		
2327	3,00	3,50					S		L
2329	3,00	3,00	P		N		N		1
2330	3,00	3,25	P		N		N		L
2331	3,75	3,50					S		L
2334	3,25	2,75	P		L				
2335	3,00	2,75		P			L		
2336	2,50	2,50		S			L	Pietin	
2337	3,50	3,50					S		2
2339	3,50	3,50	P		L				
2340	3,00	3,25	S		L				
2341	3,50	3,00		S			L		
2343	3,00	3,00	S		L				
2344	3,75	3,50					S		L
2345	3,75	3,75	S		L				
2346	3,50	3,50	S		L				
2347	2,25	2,25					S		L
2348	3,50	3,75		S			L		
2349	2,75	3,25	P		N		N		2
Media	3,35	3,34							
Desvio S.	0,334	0,318							
Caravana	CC 17/2	CC 2/3	Observ.	Observ.	CC 12/3	Obse	Observ.	CC 1/4	Peso
RET 1									
2201	3,50	3,50	S		L				50
2207	3,00	3,25	S		L				51,5
2212	3,25	3,50	S		L				44,5
2214	3,00	3,50				S		L	46
2215	3,00	3,50		S			L		43
2217	3,25	3,00		S			L		42
2218	3,50	3,50				S		L	55
2219	3,00	3,25	P		N		N	L	44
2223	3,50	3,75	P			S		L	49
2225	3,50	3,50	P		N		N	L	51
2227	3,50	3,50		S			L		44
2234	3,75	3,50	S		L				43
2238	3,00	3,25		S			L		49
2239	3,75	3,00	S		L				49
2240	3,75	3,75		S			L		49
2245	3,50	3,00	ab. oreja			S		L	40
2314	3,75	3,75	S		L				51
2336	2,50	2,50		S			L		39
Media	3,33	3,36							46,67
Desvio S.	0,35	0,32							4,44
RET 2									
2209	3,00	3,00	P		N		N		2
2220	3,75	3,50	S		L				
2221	3,00	3,00		S			L		
2228	3,50	3,50				S		L	

2229	3,75	3,50		S		L			
2230	3,25	3,50	S		L				
2231	3,50	3,50	S		L				
2232	3,50	3,50	P		N		N	L	
2236	3,75	3,50		S			L		
2241	3,50	3,50				S		L	
2246	3,00	3,00	S		L				
2247	3,50	3,25		S			L		
2249	3,50	3,50				S		L	
2315	3,75	4,00		S			L		53,5
2349	2,75	3,25	P		N		N	2	
2334	3,25	2,75	P		L				47
2335	3,00	2,75		P			L		
2345	3,75	3,75	S		L				
Media	3,39	3,35							
Desvio S.	0,32	0,33							
RET O									
2202	3,25	3,00	S		L				
2222	3,50	3,25				S		L	
2224	3,50	3,00		S			L		
2235	3,75	3,50	S		L				
2244	3,50	3,50		S			L		
2248	3,25	3,00	P		L				
2321	3,75	3,50		S			L		
2327	3,00	3,50				S		L	
2331	3,75	3,50				S		L	
2337	3,50	3,50				S		2	
2340	3,00	3,25	S		L				
2341	3,50	3,00		S			L		
2343	3,00	3,00	S		L				
2344	3,75	3,50				S		L	
2346	3,50	3,50	S		L				
2347	2,25	2,25				S		L	42
2348	3,50	3,75		S			L		
Media	3,37	3,26							
Desvio S.	0,39	0,36							

S=sacó esp; P=perdió esp; L=levanmtó celo; N=no levantó celo; 2=dudoso celo.

ANEXO III

Caravana	CELO			OVULACIÓN	
	inicio	final	duración		
PRO					
RET 1					
2201		38	54	16	89
2207		50	60	10	60
2212	N	N			regreso
2234		38	54	16	68
2239		34	58	24	80
2314		44	60	16	regreso
RET 2					
2220		30	54	24	53
2230		38	60	22	61
2231		34	54	20	56,5
2246		26	54	28	regreso
2334		44	60	16	67
2345		30	54	24	66
RET 0					
2202		50	66	16	77
2235		34	54	20	66
2248		38	60	22	regreso
2340		34	60	26	61,5
2343		34	60	26	60
2346		58	66	8	82
DIE					
RET 1					
2215		38	54	16	59
2217		44	54	10	69
2227		44	54	10	65
2238		26	54	28	69
2240		34	60	26	61
2336		30	54	24	57
RET 2					
2221		30	76	46	78
2229		30	54	24	51
2236		26	68	42	68
2247		34	54	20	54
2315	N	N			84
2335		34	54	20	regreso
RET 0					
2224		50	66	16	80
2244		34	60	26	69
2321		44	60	16	75
2341		38	60	22	65
2348		44	60	16	77,5
MET					
RET 1					
2214		26	54	28	85
2218		22	54	32	51

2219		50	72	22	77
2223		26	54	28	60
2225		50	66	16	75
2245		50	76	26	76
RET 2					
2209		38	66	28	64
2228		50	66	16	70
2232	N		N		83
2241		34	54	20	58
2249	ANESTRO				
2349		54	66	12	82
RET 0					
2222		38	60	22	67
2327		34	54	20	58
2331		50	66	16	76
2337		30	60	30	61
2344		44	60	16	75
2347		50	66	16	81

ANEXO IV Caravana	45-46 hrs		53-54 hrs		59-60-61 hrs		68-69-70 hrs		77-78 hrs		83-84 hrs		93 hrs	
	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD	OI	OD
RET 1														
2201					2F3	-----	2F3	-----	F3	1F3	F3	F3	CH 89	
2207					-----	CH 60	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2212														
2214					F3	-----	F3	-----	-----	FPO	-----	-----	-----	regreso
2215					-----	CH 59	-----	-----	F3	-----	-----	-----	-----	
2217					-----	FPL	-----	CH 69	-----	-----	-----	-----	-----	
2218	F3	-----		CH 51	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2219					FPO	-----	FPO	-----	CH 77	-----	-----	-----	-----	
2223		F3		FPL	-----	CH 60	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2225					FPO	-----	FPO	-----	CH 75	-----	-----	-----	-----	
2227					FPO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2234					FPO	-----	CH 68	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2238	2F3	FPL		FPL	-----	FPO	-----	CH 69	-----	-----	-----	-----	-----	
2239					FPL	-----	FPO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2240					CH 61	-----	-----	-----	FPL	-----	CH 80	-----	-----	
2245					-----	F3	-----	F3	-----	CH 76	-----	-----	-----	
2314			F3	-----	FPL	-----	FPO	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2336			-----	F3	-----	CH 57	-----	-----	FPO	-----	-----	-----	-----	regreso
RET 2														
2209					-----	F3	-----	CH 64	-----	-----	-----	-----	-----	
2220	F3	CH 53			-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2221	2F3	-----			2F3	-----	-----	F3	-----	F3	-----	-----	-----	CH 78
2228					-----	2FPL	-----	CH 70	-----	-----	-----	-----	-----	
2229				CH 51	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2230					2CH 61	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2231					-----	2CH 56.5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2232					-----	-----	F3	-----	-----	F3	-----	-----	-----	CH 83

ANEXO V Pruebas t para tratamientos de efecto macho

OVULACION			INICIO	
RET1		66,21	RET1	37,50
DS		8,65	DS	9,76
n		14	n	16
RET2		62,21	RET2	36,31
DS		8,06	DS	8,40
n		12	n	13
RETO		69,14	RETO	41,63
DS		7,51	DS	8,24
n		14	n	16
RET 1 X RET 2		1,66051371 0,056	RET 1 X RET 2	0,4811993 ns
RET 2 X RET 0		-3,08538388 0,0025	RET 2 X RET 0	-2,34846182 0,015
RET 1 X RET 0		-1,30395861 0,1	RET 1 X RET 0	-1,76939249 0,045

FINAL			DURACIÓN	
RET1		58,25	RET1	20,75
DS		7,08	DS	7,30
n		16	n	16
RET2		60,46	RET2	24,15
DS		7,31	DS	9,78
n		13	n	13
RETO		61,13	RETO	19,50
DS		3,93	DS	5,59
n		16	n	16
RET 1 X RET 2		-1,12953794 ns	RET 1 X RET 2	-1,44941662 0,083
RET 2 X RET 0		-0,41536746 ns (0,144)	RET 2 X RET 0	2,14715814 0,018
RET 1 X RET 0		-1,94546123 0,032	RET 1 X RET 0	0,74495144 ns

O - I			O - F	
RET1		27,93	RET1	7,36
DS		8,93	DS	7,23
n		14	n	14
RET2		27,38	RET2	2,21
DS		9,33	DS	4,17
n		12	n	12
RETO		29,29	RETO	8,71
DS		3,17	DS	5,74

n	14	n	14
RET 1 X RET 2	0,20997225 ns	RET 1 X RET 2	3,02181013 0,0025
RET 2 X RET 0	-0,95003499 ns	RET 2 X RET 0	-4,4904036 <0,0005
RET 1 X RET 0	-0,73028996 ns	RET 1 X RET 0	-0,74971818 ns

ANEXO VI

INICIO			FINAL		
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	<i>RET 2</i>	<i>RET 0</i>		<i>RET 2</i>	<i>RET 0</i>
Media	36,30769	41,625	Media	60,46154	61,125
Varianza	70,5641	67,85	Varianza	53,4359	15,45
Observaciones	13	16	Observaciones	13	16
Grados de libertad	12	15	Grados de libertad	12	15
F	1,040002		F	3,458634	
P(F<=f) una cola	0,463814		P(F<=f) una cola	0,012981	
Valor crítico para F (una cola)	2,475311		Valor crítico para F (una cola)	2,475311	
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	<i>RET 1</i>	<i>RET 2</i>		<i>RET 1</i>	<i>RET 2</i>
Media	37,5	36,3077	Media	37,5	60,4615
Varianza	95,2	70,5641	Varianza	95,2	53,4359
Observaciones	16	13	Observaciones	16	13
Grados de libertad	15	12	Grados de libertad	15	12
F	1,349128		F	1,781574	
P(F<=f) una cola	0,304225		P(F<=f) una cola	0,159379	
Valor crítico para F (una cola)	2,616851		Valor crítico para F (una cola)	2,616851	
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	<i>RET 1</i>	<i>RET 0</i>		<i>RET 1</i>	<i>RET 0</i>
Media	37,5	41,625	Media	37,5	61,125
Varianza	95,2	67,85	Varianza	95,2	15,45
Observaciones	16	16	Observaciones	16	16
Grados de libertad	15	15	Grados de libertad	15	15
F	1,403095		F	6,161812	
P(F<=f) una cola	0,259945		P(F<=f) una cola	0,000549	
Valor crítico para F (una cola)	2,403446		Valor crítico para F (una cola)	2,403446	
DURACION			OVULACIÓN		
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	<i>RET 2</i>	<i>RET 0</i>		<i>RET 2</i>	<i>RET 0</i>
Media	24,15385	19,5	Media	62,20833	69,1429
Varianza	95,64103	31,2	Varianza	64,88447	56,0934
Observaciones	13	16	Observaciones	12	14
Grados de libertad	12	15	Grados de libertad	11	13
F	3,065417		F	1,156722	
P(F<=f) una cola	0,021755		P(F<=f) una cola	0,396367	
Valor crítico para F (una cola)	2,475311		Valor crítico para F (una cola)	2,63465	
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	<i>RET 1</i>	<i>RET 2</i>		<i>RET 1</i>	<i>RET 2</i>
Media	20,75	24,1538	Media	66,21429	62,2083
Varianza	53,26667	95,641	Varianza	74,7967	64,8845
Observaciones	16	13	Observaciones	14	12

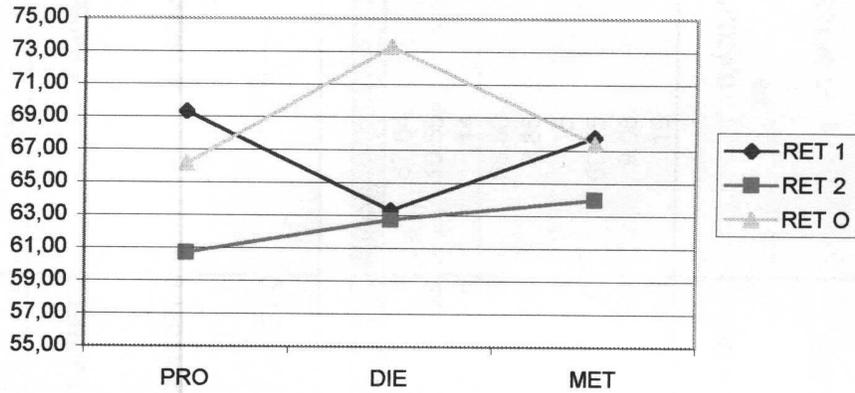
Grados de libertad	15	12	Grados de libertad	13	11
F	0,556944		F	1,152767	
P(F<=f) una cola	0,141552		P(F<=f) una cola	0,411584	
Valor crítico para F (una cola)	0,40399		Valor crítico para F (una cola)	2,761418	
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	RET 1	RET 0		RET 1	RET 0
Media	20,75	19,5	Media	66,21429	69,1429
Varianza	53,26667	31,2	Varianza	74,7967	56,0934
Observaciones	16	16	Observaciones	14	14
Grados de libertad	15	15	Grados de libertad	13	13
F	1,707265		F	1,333431	
P(F<=f) una cola	0,15557		P(F<=f) una cola	0,305716	
Valor crítico para F (una cola)	2,403446		Valor crítico para F (una cola)	2,576925	
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	RET 2	RET 0		RET 2	RET 0
Media	27,375	29,2857	Media	2,208333	8,71429
Varianza	87,05114	10,0275	Varianza	17,42992	32,9505
Observaciones	12	14	Observaciones	12	14
Grados de libertad	11	13	Grados de libertad	11	13
F	8,681264		F	0,528972	
P(F<=f) una cola	0,000255		P(F<=f) una cola	0,148593	
Valor crítico para F (una cola)	2,63465		Valor crítico para F (una cola)	0,362133	
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	RET 1	RET 2		RET 1	RET 2
Media	27,92857	27,375	Media	7,357143	2,20833
Varianza	79,76374	87,0511	Varianza	52,24725	17,4299
Observaciones	14	12	Observaciones	14	12
Grados de libertad	13	11	Grados de libertad	13	11
F	0,916286		F	2,997561	
P(F<=f) una cola	0,434782		P(F<=f) una cola	0,038224	
Valor crítico para F (una cola)	0,379557		Valor crítico para F (una cola)	2,761418	
Prueba F para varianzas de dos muestras			Prueba F para varianzas de dos muestras		
	RET 1	RET 0		RET 1	RET 0
Media	27,92857	29,2857	Media	7,357143	8,71429
Varianza	79,76374	10,0275	Varianza	52,24725	32,9505
Observaciones	14	14	Observaciones	14	14
Grados de libertad	13	13	Grados de libertad	13	13
F	7,954521		F	1,585626	
P(F<=f) una cola	0,00033		P(F<=f) una cola	0,208472	
Valor crítico para F (una cola)	2,576925		Valor crítico para F (una cola)	2,576925	

ANEXO VII

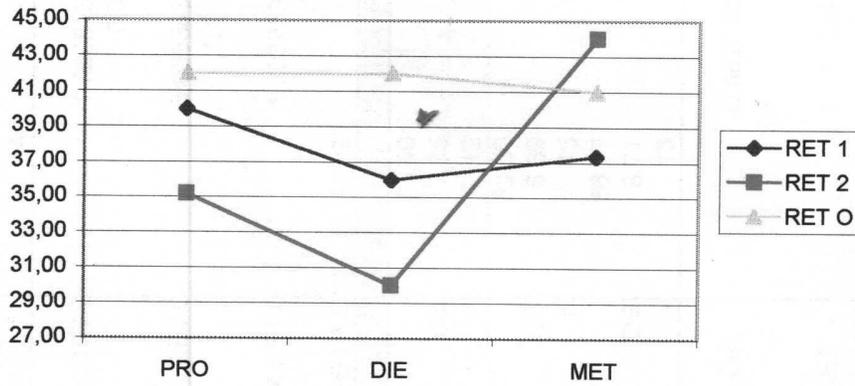
	tasa ovulatoria		
RET1	1	2	16
RET2	16	0	15
RET0	12	3	16
	16	0	47
	44	3	
CHI R1XR2	0,069632495		1,0212766
	0,297098646		4,35744681
CHI R1XR0	0,069632495		5,74545455
			1,0212766
CHI R2XR0	0,297098646		2,18181818
	0,069632495		4,35744681
			1,0212766
			5,74545455

ANEXO VIII

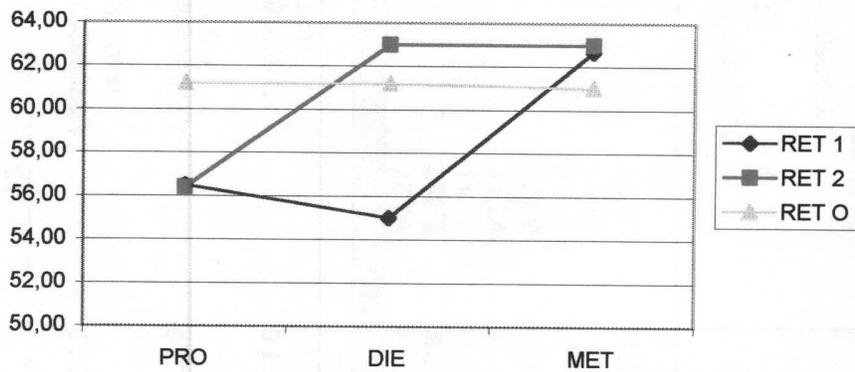
Momento de ovulación por tratamiento de efecto de etapa del ciclo estral según tratamiento de efecto macho



Hora de inicio del celo por tratamiento de efecto de etapa del ciclo estral según tratamiento de efecto macho



Hora de finalización del celo por tratamiento de efecto de etapa del ciclo estral según tratamiento de efecto macho



		≤ 80	
RET1	DS n	65,2 7,95 13	
RET2	DS n	62,2 8,06 12	
RETO	DS n	68,3 7,08 13	
RET 1 X RET 2		1,27086257 ns (0,15)	
RET 2 X RET 0		-2,72693608 0,025	
RET 1 X RET 0		-1,42858278 0,07	

		≤ 80	
RET1	DS n	66,21 8,65 14	
RET2	DS n	62,21 8,06 12	
RETO	DS n	69,14 7,51 14	
RET 1 X RET 2		1,66051371 0,056	
RET 2 X RET 0		-3,08538388 0,0025	
RET 1 X RET 0		-1,30395861 0,1	

		≤ 80	
PRO	X DS n	63,27 6,486 11	
DIE	X DS n	65,54 8,372 14	
MET	X DS n	66,77 8,71 13	
PRO X DIE		-1,02795363 ns	
DIE X MET		-0,50905698 ns	
PRO X MET		-1,51169093 0,0759	

		≤ 80	
PRO	DS n	65,40 7,85 12	
DIE	DS n	66,50 8,89 15	
MET	DS n	66,77 8,71 13	
PRO X DIE		-0,46222618 ns	
DIE X MET		-0,11030447 ns	
PRO X MET		-0,55859187 ns	

		TODAS	
RET1	DS n	68,81 10,76 16	
RET2	DS n	63,73 9,47 13	
RETO	DS n	70,69 8,15 16	
RET 1 X RET 2		1,84256779 0,04	
RET 2 X RET 0		-2,89351216 0,003	
RET 1 X RET 0		-0,76077796 ns	

		TODAS	
PRO	X DS n	67,64 10,55 14	
DIE	X DS n	66,50 8,85 15	
MET	X DS n	69,75 9,06 16	
PRO X DIE		0,43026457 ns	
DIE X MET		-1,38188506 0,09	
PRO X MET		-0,8030519 ns	

ESTA ES LA QUE USAMOS

DS	11,31	5,02	7,56	2,66	7,69	6,25
DIE	n	n	n	n	n	n
DS	42,00	61,20	19,20	26,08	73,30	12,10
DIE	n	n	n	n	n	n
DS	6,16	2,68	4,60	13,08	6,18	5,03
MET	n	n	n	n	n	n
DS	41,00	61,00	20,00	28,20	67,40	7,40
DIE	n	n	n	n	n	n
DS	8,37	4,52	5,51	3,11	8,08	5,41
MET	n	n	n	n	n	n
PRO X DIE	0	0	0	0	0	0
PRO X MET	ns	ns	ns	ns	ns	ns
DIE X MET	0,288672	0,114182	-0,33437	-0,446	1,640481	1,799575
PRO X MET	0,213215	0,088822	-0,256655	-0,04526	-0,30123	-0,40649
PRO	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PRO INICIO	40,00	56,50	16,50	28,67	69,33	12,00
RET1	DS	DS	DS	DS	DS	DS
DS	6,93	3,00	5,74	18,04	10,07	11,14
RET2	n	n	n	n	n	n
DS	35,20	56,40	21,20	25,50	60,70	4,30
RETO	n	n	n	n	n	n
DS	5,93	3,29	3,35	5,87	6,02	5,22
RET1 X RET2	1,392372	0,059459	-1,87104	0,409303	1,801796	1,533127
RET2 X RET0	-1,50609	-0,90688	0,684105	-1,07972	-1,47105	-0,59458
RET1 X RET0	-0,39893	-0,82516	-0,75257	0,066217	0,095	0,095
DIE	ns	ns	ns	ns	ns	ns
DIE INICIO	36,00	55,00	19,00	27,33	63,33	8,33
RET1	DS	DS	DS	DS	DS	DS
DS	7,38	2,45	8,07	8,14	5,13	6,15
RET2	n	n	n	n	n	n
DS	30,00	63,00	33,00	32,75	62,75	-0,25
RET2	n	n	n	n	n	n

DS		DS		DS		DS		DS		DS		DS		DS		DS				
RET 1 X RET 2																				
3,27	10,89	12,91	14,36	12,58	2,06	42,00	59,20	19,20	26,08	73,30	12,10	6,16	6,54	4,60	6,18	5,03	3,40			
4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5			
DS	DS	DS	DS	DS	DS	RETO	RETO	RETO	RETO	RETO	RETO	DS	DS	DS	DS	DS	DS			
RET 1 X RET 2	RET 2 X RET 0	RET 1 X RET 0																		
2,102397	-2,026666	-2,6009	-0,92872	0,12075	3,741676	-4,5524	0,791349	2,664083	0,908518	-1,99148	-6,01143	-1,87246	-1,80474	0,06459	-3,72396	-1,42353	0,0027			
0,042	0,037	0,015	ns	ns	0,0042	0,017	ns	0,017	ns	0,042	<0,0005	0,057	0,05	0,0024	0,099	0,0024	0,0024			
MET																				
37,33	62,67	25,33	28,20	67,80	3,40	13,95	10,01	5,61	3,56	11,69	4,83	44,00	63,00	19,00	23,33	64,00	2,00			
6	6	6	5	5	5	6	6	6	5	5	5	4	4	4	3	3	3	5		
DS																				
RET 1 X RET 2	RET 2 X RET 0	RET 1 X RET 0																		
-1,11705	-0,07998	2,025652	2,541127	0,708383	0,577183	0,669384	0,753041	-0,32231	-2,73414	-0,82752	-2,05974	-0,71338	0,480826	2,143482	0,079614	-1,56	0,038	0,038		
ns	ns	0,037	0,021	ns	ns	ns	ns	ns	0,017	ns	ns	ns	ns	0,03	ns	-1,56	0,085	0,085		
MET																				
8,37	4,52	5,51	3,11	8,08	5,41	41,00	61,00	20,00	28,20	67,40	7,40	8,37	4,52	5,51	3,11	8,08	5,41	7,40	5,41	
6	6	6	5	5	5	6	6	6	5	5	5	6	6	6	5	5	5	5	5	5
DS																				
RET 1 X RET 2	RET 2 X RET 0	RET 1 X RET 0																		
-1,11705	-0,07998	2,025652	2,541127	0,708383	0,577183	0,669384	0,753041	-0,32231	-2,73414	-0,82752	-2,05974	-0,71338	0,480826	2,143482	0,079614	-1,56	0,038	0,038	0,038	0,038
ns	ns	0,037	0,021	ns	ns	ns	ns	ns	0,017	ns	ns	ns	ns	0,03	ns	-1,56	0,085	0,085	0,085	0,085

INICIO RET 2		DURACIÓN RET 2	
Prueba F para varianzas de dos muestras		Prueba F para varianzas de dos muestras	
	<i>DIE</i>	<i>MET</i>	
Media	30	44	Media
Varianza	10,66666667	90,66666667	Varianza
Observaciones	4	4	Observaciones
Grados de libertad	3	3	Grados de libertad
F	0,117647059		F
P(F<=f) una cola	0,056111239		P(F<=f) una cola
Valor crítico para F (una cola)	0,107798215		Valor crítico para F (una cola)
PRO X DIE ns		PRO X MET ns	
PRO X MET ns		DIE X MET ns	
INICIO RET 0		DURACIÓN RET 0	
TODOS SON ns		TODOS SON ns	

OVULACIÓN PRO				
dos muestras		LOS TRES ns		
<i>RET 2</i>	<i>RET 0</i>			
21,2	19,2			
11,2	57,2			
5	5			
4	4			
0,195804196				
0,071654576				
0,156537894				
OVULACIÓN DIE				
dos muestras		Prueba F para varianzas de dos muestras		
<i>RET 2</i>	<i>RET 0</i>	<i>RET 1</i>	<i>RET 2</i>	
33	19,2	Media	63,33333333	62,75
166,6666667	21,2	Varianza	26,26666667	158,25
4	5	Observaciones	6	4
3	4	Grados de libertad	5	3
7,86163522		F	0,165982096	
0,037464867		P(F<=f) una cola	0,040922538	
6,591392321		Valor crítico para F (una cola)	0,184861904	
RET 2 X RET 0 ns				
RET 1 X RET 0 ns				
OVULACIÓN MET				
▶ TODOS SON ns				
OVULACIÓN RET 1				
Prueba F para varianzas de dos muestras				
		<i>PRO</i>	<i>DIE</i>	
		Media	69,33333333	63,33333333
		Varianza	101,3333333	26,26666667
		Observaciones	3	6
		Grados de libertad	2	5
		F	3,85786802	
		P(F<=f) una cola	0,096955232	
		Valor crítico para F (una cola)	5,786148449	
Prueba F para varianzas de dos muestras				
		<i>DIE</i>	<i>MET</i>	
		Media	63,33333333	70,66666667
		Varianza	26,26666667	158,6666667
		Observaciones	6	6
		Grados de libertad	5	5

