

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**SINCRONIZACIÓN DE ESTROS CON UN ANÁLOGO SINTÉTICO DE
PROSTAGLANDINA F2 α EN OVEJAS MERINO AUSTRALIANO: COMPARACIÓN
DE RESPUESTA ESTRAL Y REPRODUCTIVA DE PROTOCOLOS CON DOS O
TRES DOSIS.**

Por

Lucas Daniel CURBELO MORALES

Agustín Emiliano RODRIGUEZ REY

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
(Orientación Producción Animal)
MODALIDAD Ensayo Experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY

2022

Página de aprobación

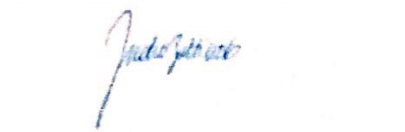
Presidente de mesa


Dr. Sergio Fierro

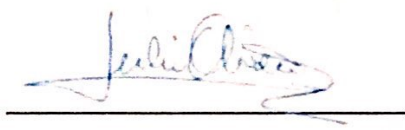
Segundo miembro (Tutor)


Dr. Mauro Minteguiaga

Tercer miembro


Dr. Juan Pedro Bottino

Cuarto miembro


Dr. Julio Olivera-Muzante

Fecha: Paysandú, 4 de julio de 2022

Autores:


Br. Lucas Curbelo
Br. Agustín Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

- Principalmente a nuestro tutor, Dr. Mauro Minteguiaga, quien nos apoyó, orientó y estuvo siempre a las órdenes para realizar el trabajo de campo, así como la escritura en esta gran etapa de nuestra carrera.
- Al Dr. Julio Olivera-Muzante, nuestro co-tutor quien formó parte de todo este proceso siendo importante su apoyo durante la parte práctica, y también guiándonos con la escritura.
- Al Dr. Sergio Fierro, por su importantísima colaboración durante la parte práctica.
- Al Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL), por brindarnos todas las comodidades y poner a nuestro alcance los animales para la realización del experimento en el Centro de Innovación y Capacitación Ovina Mario Azzarini (CICOMA), y al personal de trabajo (Fernando y Toto) que sin ellos no hubiese sido posible.
- A nuestros compañeros y amigos: Romina Coria, Valentina Castro, Mauricio Burutarán, Martín Rosas por el gran apoyo y formar parte de nuestro grupo de trabajo.
- Por último y más importante a nuestras familias y amigos que nos acompañaron en todo este proceso y nos dieron para adelante en todo momento siendo imposible haber llegado a esta etapa sin ellos.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
TABLA DE CONTENIDO.....	iv
INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	v
RESUMEN.....	vi
SUMMARY	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Ciclo estral de las ovejas.....	3
2.2 Control del ciclo estral - sincronización de estros en ovinos	7
2.4 Protocolos en base a PG	12
3. HIPÓTESIS	15
4. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECIFICOS	15
5. MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1 Animales	16
5.2 Manejo sanitario	16
5.3 Manejo nutricional y evaluación del campo natural. Régimen pluviométrico... 16	
5.4 Protocolos de sincronización de estros	17
5.5 Detección de estros y servicios	17
5.6 Determinaciones ecográficas	18
5.7 Análisis estadístico.....	19
6. RESULTADOS	20
7. DISCUSIÓN.....	24
8. CONCLUSIONES.....	27
9. BIBLIOGRAFIA.....	28

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS:

Tabla 1: Frecuencia absoluta, frecuencia relativa, frecuencia relativa acumulada de aparición de estros por momento y frecuencia acumulada de aparición de estros posterior a la última dosis de PG, en relación con la aplicación de la última dosis de PG en ovejas Merino Australiano sincronizada con dos (2PG) o tres (3PG) dosis 21

Tabla 2. TO, NR_D19 y resultados reproductivos de un servicio de inseminación vía cervical de ovejas Merino Australiano sincronizadas con dos (2PG) o tres (3PG) dosis de PG pastoreando campo natural.....23

Tabla 3. TO, NR_D19 y resultados reproductivos de dos servicios (servicio de inseminación y repaso con carneros) de ovejas Merino Australiano sincronizadas con dos (2PG) o tres (3PG) dosis de PG pastoreando campo natural, observados al día 70 por ultrasonografía vía transabdominal.....23

FIGURAS:

Figura 1: Esquema del crecimiento folicular de los ovinos (Adaptado de Fierro, 2010).....5

Figura 2: Representación esquemática del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Adaptado de Baird, 1983).....6

Figura 3: Cronograma experimental.....17

Figura 4: Distribución de la aparición de estros en ovejas Merino Australiano sincronizada con dos (2PG) o tres (3PG) dosis de PG.....22

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar dos protocolos de sincronización de estros usando un análogo sintético de PGF2 α (PG) en la aparición y distribución de estros y en variables reproductivas (tasa ovulatoria, concepción, prolificidad y fecundidad) en ovejas Merino Australiano durante la estación reproductiva. Se utilizaron 212 ovejas multíparas pastoreando campo natural de una majada experimental (CICOMA-SUL). Se conformaron dos grupos experimentales en base a la condición corporal (CC), peso vivo (PV) e historial reproductivo previo y fueron sincronizados con dos dosis de PG (días -15 y 0; 2PG) o tres dosis de PG (días -22, -15 y 0; 3PG). Los estros fueron detectados usando 5% de capones androgenizados desde las 96 h previa hasta las 96 h posteriores a la última dosis de PG, las ovejas en estro fueron inseminadas. Se registró la frecuencia absoluta (número de ovejas/día), y determinó la frecuencia relativa, frecuencia relativa acumulada y frecuencia acumulada de aparición de estros posterior a la última dosis de PG. El día 8 se evaluó la tasa ovulatoria (TO), mediante ecografía transrectal. El servicio de repaso fue a campo, con carneros pintados al 3%, desde el día 14 al 19, se determinó no retorno al servicio al día 19 (NR-D19, ovejas que no retornan al estro/total de ovejas*100). Al día 70 se realizó ecografía transabdominal y se determinó concepción (ovejas gestantes/ovejas inseminadas*100), prolificidad (número de fetos/ovejas gestantes) y fecundidad (número de fetos/ovejas encarneradas*100). Los resultados obtenidos indican que el grupo 3PG tuvo menor frecuencia de aparición de estros previo la última dosis de PG que el grupo 2PG ($P < 0,05$). Paralelamente, en el grupo 3PG hubo una tendencia ($P = 0,058$) a tener mejor respuesta estral posterior a la última dosis de PG respecto al grupo 2PG. No se encontraron diferencias significativas en TO (1,2 vs. 1,1) ni prolificidad (1,05 vs. 1,00); grupos 3PG y 2PG respectivamente; ($P < 0,05$). No se observaron tampoco diferencias significativas en el NR_D19 (71 vs 78%), concepción (78 vs 71) o fecundidad (81 vs 71; 3PG y 2PG respectivamente; $P < 0,05$). Se concluye que, el empleo de este nuevo protocolo de sincronización de estros con tres dosis de PG (días -22, -15 y 0) permitiría una mejor sincronización de los estros pos ultima dosis de PG que un protocolo de solo dos dosis (días -15 y 0).

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate two prostaglandin protocols of oestrus synchronization with a synthetic analogue of PGF₂ α (PG) in oestrus apparition and distribution and on reproductive variables (ovulation rate-TO, conception, prolificacy, and fecundity) in Merino ewes during breeding season. Multiparous Merino ewes (230) grazing native pasture (CICOMA-SUL) were used from an experimental flock. Two experimental groups were formed based in body condition score (CC), live weight (PV) and previous reproductive history and synchronized with two doses of PG (days -15 and 0; 2PG) or three doses (days -22 -15 and 0). Oestrus was detected with 5% androgenized wethers between 96 h before and 96 h after the last PG dose, marked ewes were inseminated at the morning. Absolute frequency (oestrus ewes/day) was recorded, and relative frequency, accumulated relative frequency and accumulated frequency after last PG dose was calculated. On Day 8 the TO was estimated by transrectal ultrasonography. The review service was carried out between Days 14 and 19 using 3% fertile chest painted rams and the non-service return rate on Day 19 (NR-D19; ewes without second service/total ewes*100). Conception (pregnant ewes/inseminated ewes*100), prolificacy (fetuses/pregnant ewes) and fecundity (fetuses/inseminated ewes*100) were estimated on Day 70 by transabdominal ultrasonography. The 3PG group had a lower frequency of oestrus occurrence before the last dose of PG than the 2PG group ($P < 0.05$) and tended to have a better response to the last dose of PG ($P = 0.058$) than the 2PG group. No significant differences in TO were found (1.2 vs 1.1) and prolificacy (1.05 vs 1.00; $P < 0.05$), 3PG and 2PG respectively. No significant differences were observed in NR_D19 (78 vs 71%), conception (78 vs 71) and fertility (81 vs 71; 3PG and 2PG respectively; $P < 0.05$). It is concluded that, the use of this new oestrus synchronization protocol (with three doses of PG; days -22, -15 and 0) would better oestrus synchronization after the last dose of PG than a two-dose protocol (days -15 and 0).

1. INTRODUCCIÓN

Luego de alcanzar un máximo de 26 millones de ovinos en 1991, el stock ovino nacional ha disminuido en forma sostenida, principalmente a raíz de la importante caída de los precios de la lana en la década de los años 90. Los últimos datos oficiales (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, MGAP, 2021) indican que el stock ovino es de 6,1 millones de cabezas, de las cuales 3,3 millones son ovejas de cría. A pesar de lo reducido de las existencias, el rubro vive un período de estabilidad en lo que se refiere a la producción ovina y sus productos, con la aparición de nuevos mercados y mejores valores de exportación tanto para lana como para carne ovina de calidad (SUL, 2017). Se ha identificado que, además de las restricciones debidas a abigeato, predación (MGAP, 2016), la baja tasa reproductiva es una de las principales limitantes para la recomposición del stock (Montossi, 2003).

Con relación al manejo reproductivo que se aplica en las majadas comerciales, los datos disponibles (MGAP, 2011; Fernández Abella y Villegas, 2015) indican que menos del 10% de ovejas de cría son servidas por inseminación artificial (IA), y sólo una menor proporción de ellas mediante inseminación artificial a tiempo fijo (IATF); técnica que además requiere de una alta sincronía de los estros y las ovulaciones (Menchaca y Rubianes, 2004). Varios son los motivos que limitan la aplicación a gran escala de estas tecnologías por parte de los productores ovejeros, entre ellos, la mayor concentración de partos, si el productor va a cuidar los partos es una ventaja porque en pocos días nace gran parte de los mismos, pero si no hay protección o cuidados puede tener una menor supervivencia perinatal de corderos, si nacen bajo clima adversos siendo una desventaja (Fierro, Gil, Viñoles y Olivera-Muzante, 2013). Sin embargo, existen muchos escenarios productivos donde interesa su aplicación.

Los protocolos que se han desarrollado para la sincronización de estros e IATF en ovinos son aquellos que emplean dispositivos con progestágenos sintéticos asociados a gonadotrofinas (P4-eCG) -que simulan la acción del cuerpo lúteo (CL)-, o los que emplean análogos sintéticos de prostaglandina F2 α (PG), los cuales generan luteólisis del CL (McCracken, Glew y Scaramuzzi, 1970). Las PG ofrecen, en comparación con los protocolos en base a P4-eCG, ventajas en su utilización, como la facilidad de aplicación (inyección intramuscular), una aceptable respuesta estral (Fierro et al., 2013), no dejar residuos tisulares (Piper, Vane, y Wyllie, 1970), y un

significativo menor costo (Olivera-Muzante, 2018). El intervalo de separación entre dosis dará lugar a protocolos denominados “cortos”, “medios” o “largos”. El intervalo mínimo entre las dosis de PG que generaría adecuada respuesta estral es de siete días (protocolo “corto”; Synchronovine®; Rubianes, Menchaca, Gil y Olivera-Muzante, 2004), pero a pesar de una muy buena sincronización de estros y ovulaciones, este protocolo ha evidenciado bajos resultados reproductivos al igual que los protocolos de dos dosis de PG con separación de entre 10 y 13 días (protocolos “medios”; Gordon, 1983; Fierro, Olivera-Muzante, Gil y Viñoles, 2011; Menchaca et al., 2004; Olivera-Muzante, Fierro, López y Gil, 2011). Estos bajos resultados reproductivos han sido asociados fundamentalmente a una baja concentración plasmática de progesterona durante la fase de crecimiento de los folículos preovulatorios, lo cual determinaría ovocitos de inferior calidad, menor fertilidad y prolificidad observada respecto a un estro espontáneo (Fierro, Viñoles y Olivera-Muzante, 2016). La extensión del intervalo entre dosis de PG a entre 14 y 16 días (protocolos “largos”), aumentaría el período de tiempo de fase lútea en el que se desarrollan los folículos preovulatorios con concentraciones de progesterona adecuadas, evidenciando tasas de concepción comparables a lo que ocurre con el uso de protocolos basados en P4-eCG (Fierro y Olivera-Muzante, 2017). Aun así, se ha reportado que con el protocolo de dos dosis de PG con intervalo de 15 días (2PG), al momento de la IATF, entre el 15 y el 20% de las ovejas se encuentran fuera del momento óptimo de servicio (Olivera-Muzante, Fierro y Minteguiaga, 2020). En otras palabras, esto disminuiría la probabilidad de que esas ovejas queden preñadas en ese servicio. Es de interés por tanto explorar si la aplicación de un nuevo protocolo basado en el uso de tres dosis de PG (días -22 -15 y 0; día 0= última dosis de PG; 3PG), produce una mayor sincronía de los estros después de la última dosis de PG y mejora la fertilidad al servicio de IATF.

2. REVISION BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciclo estral de las ovejas

La oveja es una especie poliéstrica estacional de día corto. Su estación de cría comienza cuando las horas luz disminuyen (Ungerfeld, 2002), para la mayoría de las razas ovinas esto ocurre a fines de verano y otoño (Castro, Menchaca y Rubianes, 2007). La duración del ciclo estral es de 17 días en promedio, observándose un rango que oscila entre 14 y 19 días (Abecia y Forcada, 2010; Duran del Campo, 1980). Según las estructuras presentes en el ovario, se puede dividir en una fase luteal y una fase folicular (Ungerfeld, 2002). La fase folicular dura aproximadamente cuatro días y está comprendida por dos etapas, el proestro y el estro, y se extiende desde la luteólisis (regresión del -CL-) que se produce entre los días 13 y 14 hasta el día 2 (Ungerfeld, 2002; estro= día 0). Por su parte el estro (período en que la hembra acepta el macho) dura en promedio 22 h (rango 18 a 48 h) y la ovulación ocurre generalmente antes de finalizar el estro (Castro et al., 2007). La fase luteal tiene una duración de entre 12 y 14 días, y se extiende desde el día 2 a 3 del ciclo hasta el día 13 aproximadamente, en la cual hay dos etapas, el metaestro y el diestro. En el metaestro las células del folículo preovulatorio dan lugar a la formación del CL, y en el diestro hay presencia de un CL activo, que produce y secreta altos niveles de progesterona (Bartlewski et al., 1999). El diestro da paso al proestro, período durante el cual aumenta el crecimiento folicular y se produce la regresión del CL del ciclo anterior (Ungerfeld, 2002).

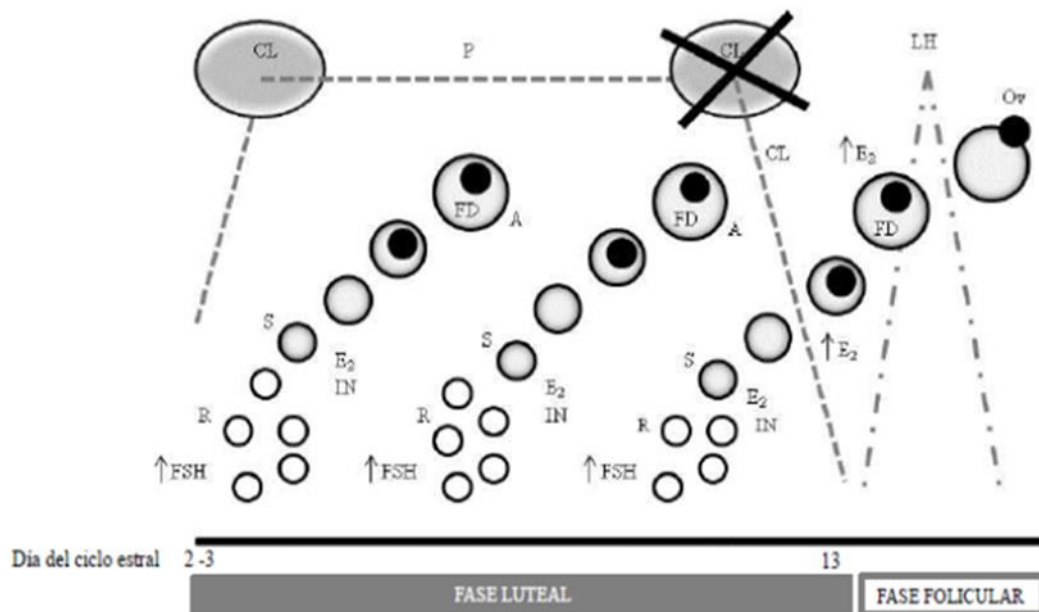
Dinámica Folicular en ovejas

El desarrollo folicular en ovejas ocurre bajo un patrón organizado en forma de ondas foliculares de crecimiento y regresión (Evans, 2003). Se ha determinado que la oveja presenta un desarrollo folicular en ondas, de 2 a 5 ondas por ciclo estal, siendo el promedio de 3 ondas foliculares (Ginther, Kot y Wiltbank, 1995; Bartlewsky et al., 1999; Viñoles, Banchemo y Rubianes, 1999, Evans, Duffy, Hynes y Boland, 2000). Existe una relación entre la nutrición y la dinámica folicular, teniendo las ovejas con buena (CC) mayor número de ondas por ciclo que aquellas con una (CC) baja (Viñoles, Forsberg, Banchemo y Rubianes, 2002).

El desarrollo de una onda folicular está diferenciado en tres etapas: reclutamiento, selección y dominancia folicular. Cada onda folicular surge por un aumento de la hormona folículo estimulante (FSH), (Ginther et al., 1995; Souza, Campbell y Baird, 1997) dando lugar al “*reclutamiento folicular*” de aquellos folículos primordiales (Ungerfeld, 2002). Los folículos reclutados continúan creciendo, la LH pasa a ser determinante para que se seleccione un folículo, fenómeno denominado “*selección folicular*”, donde un folículo (el “*folículo dominante*”) continúa su crecimiento a una tasa de 1 mm/día, alcanzando su máximo tamaño tres días luego de la selección (Viñoles, Forsberg, Banchero y Rubianes, 2001, Ginther, 2000), ese folículo sigue creciendo y si esto ocurre en un ambiente con altos niveles de P4, se inhibe la LH, inhibiendo también la liberación de GnRH en ese entonces el folículo finaliza su dominancia y ocurre la atresia folicular. La FSH aumenta nuevamente estimulando la emergencia de una nueva onda folicular “*recambio folicular*” (Ginther et al., 1995). Luego de ocurrida la luteolisis (día 12 o 14 del ciclo estral) el *folículo dominante* continua su crecimiento y producción de E2 a partir de los pulsos de LH, se produce el pico preovulatorio de LH, dando lugar a la ovulación del folículo preovulatorio (Baird, 1978).

En la oveja existe el fenómeno de codominancia lo que determina la posibilidad de que existan ovulaciones múltiples (Scaramuzzi et al., 1993). En la mayoría de los casos en que ocurre la ovulación de más de un folículo, los mismos pertenecen a la misma onda folicular, y las ovulaciones ocurren en un intervalo menor a 12 horas (Menchaca y Rubianes, 2012).

Figura 1: Esquema del crecimiento folicular de los ovinos (Adaptado de Fierro, 2010).



CL: cuerpo lúteo; P: progesterona; FSH: hormona folículo estimulante; LH: hormona luteinizante; R: reclutamiento S: selección folicular; FD: folículo dominante; A: atresia de los folículos en presencia de P4, IN: inhibina; E2: 17 β – estradiol; Ov: ovulación del o los FD.

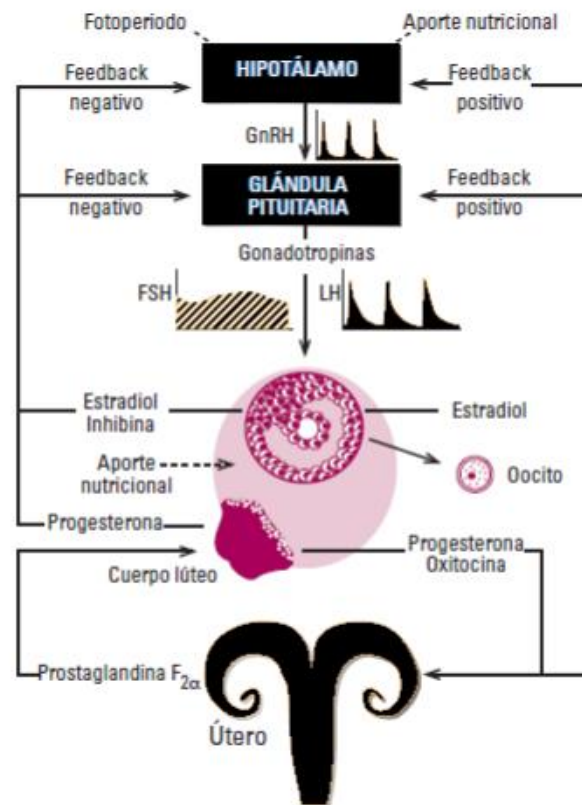
Regulación neuro-endocrina del ciclo estral

En el ciclo estral ocurre una secuencia de eventos endócrinos regulados por el hipotálamo a través de la secreción de GnRH (hormona liberadora de gonadotropina), la glándula pituitaria con su secreción de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH), el folículo (secreta esteroides e inhibina), el CL (que secreta progesterona y oxitocina) y el útero (responsable de la producción de PG). La GnRH hipotalámica estimula la secreción de LH de la hipófisis anterior, que va a producir la ovulación de un folículo dominante y estimula la luteinización del resto de los folículos (Ungerfeld, 2002).

A medida que se desarrolla el CL, las concentraciones de progesterona comienzan a aumentar y permanecen elevada durante la fase lútea. La luteólisis marca el comienzo de la fase folicular, con la disminución de niveles de progesterona que conduce a un aumento en la frecuencia del pulso de LH y la estimulación de la secreción de estradiol del folículo preovulatorio para provocar tanto el estro como el

pico de LH (Baird y Scaramuzzi, 1976; Karsch, Legan, Ryan y Foster, 1980). Este a su vez, termina la secreción de estradiol al inducir la ovulación y la luteinización para que el siguiente ciclo pueda comenzar.

Figura 2: Representación esquemática del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Adaptado de Baird, 1983).



FSH: hormona folículo estimulante; LH: hormona luteinizante; GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas.

Fase Folicular

Predominan los estrógenos (E2), responsables del comportamiento estral de las hembras (Evans y Maxwell, 1987), en esta fase ocurre el desarrollo folicular final, ovulación y la formación de un nuevo CL (Ungerfeld, 2002). Los E2 actúan sobre la hipófisis, y según los niveles de progesterona circulantes, provocan una retroalimentación positiva o negativa en la liberación de LH o FSH (Noakes, Parkinson, England, 2001). Cuando ocurre la caída de la progesterona, se produce una retroalimentación positiva presentándose un pulso de LH por cada pulso de GnRH, y de E2 secretados por el folículo como respuesta a la LH, determinando que se

produzca rápidamente un nuevo pulso de LH (Ungerfeld, 2002). Cuando el nivel de estrógenos es elevado, se dispara la LH, que produce la ruptura del folículo y la liberación del ovocito (Evans y Maxwell, 1987) 24 a 30 h luego de iniciado el estro (Ungerfeld, 2002).

Fase Luteal

A medida que el CL se desarrolla, aumentan los niveles sanguíneos de progesterona (Ungerfeld, 2002), la cual va a inhibir la frecuencia de pulsos de LH, permitiendo un incremento en la FSH, estimulando la emergencia de una nueva onda folicular (Ginther et al. 1995). Sobre el final de la fase luteal (en el día 12-14 del ciclo estral), y en caso de que no haya ocurrido concepción, el útero libera PG promoviendo la luteólisis (Ungerfeld, 2002).

2.2 Control del ciclo estral - sincronización de estros en ovinos

La IA tradicional en ovinos, con servicios no sincronizados tiene una duración de al menos 34 días (dos servicios), dando a cada oveja dos oportunidades de fecundación. En cambio, la sincronización de estro permite realizar los dos servicios en un periodo más corto (Durán del Campo, 1996). También existen otras ventajas, como la disminución de la frecuencia con que la majada es conducida a los corrales, minimizando la pérdida de condición corporal (CC) y estatus sanitario que genera el manejo en la IA tradicional (Menchaca y Rubianes, 2004; Olivera y Gil, 2005). Además de facilitar el uso de carneros comprados o alquilados, que puedan ser genéticamente superiores (Olivera y Gil, 2005). Facilita además el empleo de otras tecnologías, tales como la suplementación focalizada pre-servicio y pre-parto (Banchero, Ganzábal, Montossi, De Barbieri y Quintans, 2012). Del mismo modo, esta medida de manejo reproductivo determina un período de parición de menor duración, lo cual simplifica y mejora su atención al productor que cuide de los mismos (Fierro, Viñoles y Olivera-Muzante, 2017).

2.3 Métodos farmacológicos para la sincronización de estros y ovulación

Progesterona y/o Progestágenos

La progesterona es secretada por el CL, pero también por la placenta de algunas especies, en la oveja lo hace a partir del día 45 de preñez (Ungerfeld, 2002). El mecanismo de acción de ésta consiste en provocar una inhibición de la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, a través de la inhibición de la secreción de GnRH (Abecia, Forcada, González-Bulnes, 2012) y en consecuencia la inhibición de la producción de FSH y LH (Durán, 1993; Rubianes, Ungerfeld, De Castro, 1999; Rubianes, Menchaca y Carbajal, 2003).

Tradicionalmente los protocolos de sincronización de estros en ovinos se han asociado al uso de progestágenos sintéticos (P4, administrados en forma de dispositivos vaginales, oral o inyectable). Los P4 usados con más frecuencia son los intravaginales, y estos consisten en la colocación de un dispositivo intravaginal impregnado en progestágeno de liberación lenta, simulando la acción de la progesterona natural producida en el cuerpo lúteo después de la ovulación (Hansel y Convey, 1983), con una duración igual a la vida efectiva del CL (12 a 14 días), aunque se han validado también el uso de dispositivos por tiempo más corto con similares resultados (protocolos de 6 a 7 días; Menchaca y Rubianes, 2004; Vilariño, Rubianes, Van Lier y Menchaca, 2010) suprimiendo la liberación de las gonadotropinas hipofisarias, no constatándose estro ni ovulación mientras estén colocados (Evans y Maxwell, 1987).

La concentración plasmática de progesterona aumenta rápidamente después de la inserción del dispositivo, alcanzando la concentración más altas tres días después de la inserción y para luego disminuir gradualmente (Wheaton, Carlson, Windels y Johnston, 1993). Al retirar el dispositivo, los valores de progesterona decaen, permitiendo el crecimiento del folículo dominante hasta la ovulación, la aparición del estro ocurrirá en un 80-95% de las ovejas dentro de las 48 h siguientes (Durán del Campo, 1993), lo cual permite la realización de IATF. Esta se recomienda implementar entre las 48 a 60 h de retirado el dispositivo de P4, dependiendo de la vía de IA: desde las 47 (intrauterina) a las 55 h (intracervical) después de la extracción del dispositivo (Gordon, 1996).

En el momento de remoción de las esponjas, se les administra gonadotrofina coriónica equina (eCG o PMSG), una hormona glicoproteíca placentaria preparada a partir del suero de yeguas preñadas. La eCG tiene actividades similares a FSH y LH

simultáneas (Powell, Kaps, Lamberson y Keisler, 1996), estimulando y concentrando la ovulación, aumentando en diferentes grados la prolificidad y así, mejorando la fertilidad del estro inducido y permitiendo la IATF (Durán del Campo, 1993; Gibbons, Casas y Cueto, 2010). En la raza Merino, se recomiendan 200 UI por oveja para inducir la ovulación. Las formas comerciales más utilizadas de los progestágenos son acetato de fluorogestona (20 mg/ esponja) y acetato de medroxiprogesterona (60 mg/ esponja).

La utilización de esponjas de P4 y la eCG se ha limitado en algunos países debido a problemas como ser adherencias y/o pérdidas, vaginitis, uso de antibióticos para evitarlas, tiempos de espera por residuos en carne y/ o leche (Fierro et al., 2013). Aunque resulten ser efectivos (50 a 60% de fertilidad con semen fresco y vía cervical de inseminación), son económicamente costosos en nuestros sistemas de producción y conllevan mano de obra más especializada (Olivera y Gil, 2005). También se ha observado que el uso repetido de eCG se asocia con una respuesta inmune humoral en ovejas (Roy et al., 1999), y desarrollo de quistes foliculares ováricos (Viñoles et al., 2001), seguido de bajas tasas de preñez (Olivera-Muzante, Gil, Fierro, Menchaca y Rubianes, 2011).

Prostaglandina F2 α y análogos sintéticos

Las PG constituyen un grupo de ácidos grasos esenciales poli-insaturados, siendo el ácido araquidónico el precursor de aquellas que intervienen en los procesos reproductivos. Clasificadas en cuatro grupos básicos, A, B, E y F, siendo la PG y la PGE2 las de mayor importancia desde el punto de vista reproductivo (Ungerfeld, 2002). La PG es el factor luteolítico en rumiantes (Weems et al., 1999). Es sintetizada por el útero, y su principal papel es regular la vida del CL (Ungerfeld, 2002).

El período en el cual la PG puede actuar induciendo la luteólisis y posterior ovulación en las ovejas va desde el día 3 al 14 del ciclo estral (Acritopoulou y Haresign, 1980; Fierro et al., 2013; Rubianes et al, 1999; Rubianes et al., 2003). En los primeros días del ciclo los CL serían refractarios a la PG debido a que este está en proceso de formación, mientras que en las ovejas que se encuentren entre los días 15 y 17 del ciclo estral, la luteólisis se daría de forma natural (Acritopoulou y Haresign, 1980; Gibbons y Cueto, 1995). La progesterona facilita la luteólisis al estimular al endometrio

a incrementar las reservas de fosfolípidos, principal fuente de ácido araquidónico, precursor de las PG (Eggleston et al., 1990).

La luteólisis involucra una muerte progresiva de células luteales, que se acompaña de la caída de los niveles de progesterona (Ungerlfed, 2002). La progesterona reduce la expresión uterina de los receptores para estrógenos (McCracken, Schramm y Okulicz, 1984) y oxitocina (Vallet, Lamming y Batten, 1990), pero, además, la de sus propios receptores hormonales (Milgrom, Thi, Atger y Baulieu, 1973). A medida que avanza la fase luteal la progesterona disminuye, y por tanto el tiempo en que la progesterona está inhibiendo la síntesis de sus receptores, reduce sus propios efectos, incrementándose así la expresión de los receptores de estrógenos y oxitocina (Ungerlfed, 2002). El aumento de estradiol que se produce, asociado con el desarrollo folicular induce un aumento en el número de receptores uterinos de oxitocina (Hixon y Flint, 1987). A su vez, la oxitocina hipofisaria provoca un aumento en la producción de PG por parte del útero (Ungerlfed, 2002). Durante ese período, el CL responde a cada pulso de PG secretando oxitocina, a su vez la oxitocina genera una respuesta del endometrio, secretando pulsos de PG (Hooper, Watkins y Thorburn, 1986).

Diversos análogos sintéticos han sido desarrollados de manera de retrasar la rápida degradación de la PG (Baird y Scaramuzzi, 1975; Fierro et al., 2013). El más ampliamente utilizado es el Cloprostenol, que es 100 veces más potente que la PG natural (Binder et al., 1974). Estos análogos no dejan residuos en el animal y en sus productos finales (lana y carne), rápidamente son casi totalmente metabolizados en los pulmones (99%; Davis, Fleet, Harrison y Walker, 1980; Light, Silvia y Reid 1994; Piper et al., 1970), y los residuos de aplicación (frascos, jeringas y agujas) son de fácil eliminación (Fierro, 2010). Son de bajo costo respecto a los protocolos en base a P4-eCG (Fierro et al., 2017). Tampoco producen problemas por vaginitis o adherencias como si presentan otros protocolos (Fierro et al., 2013). Su principal ventaja es la fácil administración por inyección intramuscular (Abecia et al., 2012).

Como desventajas el primer inconveniente de utilizar PG es que está restringido a la estación reproductiva (con ovejas ciclando y con un CL activo; McCracken et al., 1970), limitándose su uso a los meses de marzo a mayo para la mayoría de las razas existentes en Uruguay (Fierro et al., 2017). Otra desventaja al momento de la

aplicación es que en ovejas con preñeces de menos de 35-40 genera interrupción de esa gestación (Fierro et al., 2017).

La aplicación de una sola inyección de PG (Acritopoulou, Haresing y Foster, 1977), producirá que entre el 60 a 70% de las hembras tratadas respondan con estro dentro de los siguientes 3 o 4 días de su administración (Menchaca, Gil, Olivera-Muzante y Rubianes 2003; Rubianes et al., 1999). La variabilidad de días es debido a que las ovejas se encuentran en distintas etapas del ciclo estral. Si al momento de la dosis de PG el folículo dominante se encuentra en fase de crecimiento, se producirá la ovulación en un corto periodo de tiempo. Pero si al momento de la dosis de PG el folículo se encuentra en regresión, tendrá que emerger una nueva onda folicular, ocurriendo la ovulación en forma más tardía (Viñoles y Rubianes, 1998). Por lo tanto, la aplicación de una sola dosis de PG se debe aplicar para realizar IA asociado a la detección de estros y no para IATF (Fierro et al., 2013).

Luego de la luteólisis inducida por la administración de PG exógena, la caída de la progesterona circulante es más pronunciada y la regresión luteal es más rápida que en la luteólisis natural. La regresión lútea completa se logra más rápidamente cuando es inducida (6 a 24 h), mientras que la luteólisis natural se produce en unas 72 h (Haresign y Acritopoulou-Fourcroy, 1978). Asimismo, en el ciclo estral posterior a una luteólisis inducida se pueden presentar diferencias con relación a un ciclo estral natural, como por ejemplo en la descarga de LH (un segundo pico a las 7-10 h post inyección; Bindon, Blanc, Pelletier, Terqui y Thimonier, 1979), los folículos preovulatorios son más chicos, pero de crecimiento más rápido (Fierro et al., 2013), a mayor edad del CL la respuesta en horas desde la inyección de la PG al comienzo del estro será más tardía (Houghton et al., 1995).

Dicho esto, y basados en el hallazgo de que el CL ovino es sensible a la PG desde los 3 días de edad (Rubianes et al., 2003), y para asegurarse que todas las ovejas respondan al tratamiento y estén en la etapa sensible del ciclo estral (Acritopoulou y Haresign, 1980), algunos autores consideraron necesario utilizar dos dosis de PG (Abecia et al., 2012). En ese sentido, para que la IATF sea posible es necesario la agrupación de ovulaciones con al menos dos dosis; el intervalo entre ambas dará lugar a protocolos “cortos”, “medios” y “largos”.

2.4 Protocolos en base a PG

Protocolo corto (Synchrovine® siete días)

Al administrar una dosis de PG se observa que aquellas ovejas que se encuentran en fase lútea o folicular temprana o tardía no responden al tratamiento, por lo que Rubianes et al. (2003), desarrollaron un protocolo de sincronización de estros con la administración de dos dosis de PG separadas siete días (Synchrovine®), luego de la administración de la segunda dosis más ovejas responderían a la misma (ovejas que ya respondieron a la primera y que se encuentran en la primera onda de desarrollo folicular y tendrían CLs de tres a cinco días de edad; Fierro, 2010), y ovejas que no tenían CL al momento de la administración de la primera dosis. El uso de este protocolo sincronizó el 78% de las ovejas entre las 24 y 48 h, y las ovulaciones entre las 48 y 72 h de administrada la segunda dosis de PG (Menchaca et al. 2004). Rubianes et al. (2004), comparó por un lado dos dosis de PGF2 α con siete días de diferencia e IA tras la detección del estro (grupo control); y por otro lado dos dosis de PGF2 α con el mismo intervalo e IATF (Synchrovine®). La inseminación para el grupo control se realizó 12 h después de la detección del estro y para el protocolo (Synchrovine®) 42 h después de la segunda dosis de PGF2 α , no encontrando diferencias significativas en términos de concepción, fertilidad, prolificidad y fecundidad entre ambos protocolos.

En cambio, si se observan diferencias cuando se compara con el protocolo convencional de P4-eCG, cuando Synchrovine® se asocia a IATF (IA a las 42,48 y 54 pos última PG; Fierro et al., 2011, 2017; Menchaca et al., 2004; Olivera-Muzante, Fierro et al., 2011). Estos bajos resultados de Synchrovine® al compararlo con el protocolo convencional han sido asociados fundamentalmente a un perfil alterado de bajas concentración plasmática de P4 durante la fase de crecimiento de los folículos preovulatorios (fase luteal), y/o alteraciones en la función esteroideogénica de los folículos pre-ovulatorios (Coleman y Dailey, 1983; Fierro et al., 2016), lo cual podría afectar el desarrollo y transporte de los ovocitos, la tasa de fertilización y el desarrollo embrionario temprano (Fierro et al., 2011). Esto determinaría la menor fertilidad, TO y prolificidad observada respecto a un estro espontáneo (Fierro et al., 2011, 2016).

Protocolos medios (9 a 13 días)

Es por eso por lo que una de las alternativas para mejorar los resultados obtenidos con *Synchrovine*® sería ampliar el intervalo entre las dosis de PG (Olivera et al., 2007). Intervalos de más días entre las dosis de PG demuestran la posibilidad de mejorar los resultados (Gibbons et al., 2010). Fue así como surgieron protocolos con dos dosis de PG separadas de 9 a 13 días.

El uso de protocolos en base a dos dosis de PG separadas de 9 a 13 días presentan algunos inconvenientes. Por un lado, una gran dispersión en la manifestación de estros (24 a 120 h). Esta dispersión en la manifestación de estros limitó durante mucho tiempo su uso en protocolos de IATF. Otro inconveniente reportado es la baja fertilidad de estos estros comparados con protocolos en base a P4-eCG (Durán del Campo y Cash Stirling, 1982; Hackett, Langford y Robertson, 1981; Loubser y Van Niekerk, 1981). La fertilidad observada con estos protocolos es de aproximadamente 50% (Fierro et al., 2017), significativamente más bajo que los tratamientos con progestágenos y los servicios naturales (Boland, Gordon y Kelleher, 1978; Godfrey, Collins, Hensley y Wheaton, 1999). En resumen, se han observado similares resultados que con los protocolos cortos *Synchrovine*®; (Gordon, 1983; Menchaca & Rubianes, 2004; Olivera-Muzante, Fierro et al., 2011). Ello también podría estar explicado por las bajas concentraciones de P4 observada (fases lúteas aún cortas), dado que existe una correlación positiva entre la duración de esta y las concentraciones de E2, lo cual daría ovocitos de menor calidad (Fierro et al., 2016).

Protocolos largos (14 a 16 días)

Al extender el intervalo entre los tiempos de administración de PG hasta 14 a 16 días entre dosis, se observa existen diferencias en la respuesta estral y en el desarrollo folicular ovárico, que produjeron mayor cantidad de estradiol (Fierro et al., 2016). El crecimiento final del folículo está relacionado con la frecuencia de pulsos de LH, la cual es negativamente regulada por la P4 (Ginther et al., 1995). En estos protocolos largos se observaron diferencias en la concentración de progesterona en comparación con los cortos o medios (Olivera-Muzante, 2018). Las concentraciones de progesterona fueron mayores en protocolos largos (PG14; PG16) desde 8 a 4 días antes del estro en comparación con protocolos medios (PG10; PG12), el número de

días con P4 por encima de 3,18 nmol/L fue similar entre protocolos largos PG14 ($10,6 \pm 1,3$ d) y PG16 ($12,5 \pm 0,8$ d) y fueron mayores en comparación con protocolos medios PG10 ($4,3 \pm 1,6$ d) y PG12 ($6,8 \pm 2,6$ d), esto conllevó a tener mejores resultados reproductivos (fertilidad, fecundidad) al servicio de IATF que intervalos de menor duración (Fierro et al., 2016; 2017), y similares a protocolos basados en P4-eCG (Fierro y Olivera-Muzante, 2017; Olivera-Muzante et al., 2018).

En un trabajo previo, usando un protocolo de dos dosis de PG separadas 15 días (Mallada y Rocha, 2019), reportan que más del 90% de ovejas entraron en estro entre las 24 y 72 h posteriores a la última dosis de PG. Otros experimentos demostraron que, dos PG separadas 15 o 16 días obtuvieron a la IATF (con semen fresco), una fertilidad de entre 57 y 65% y una fecundidad de entre 71 y 81% (Fierro et al., 2017; Fierro y Olivera-Muzante, 2017; Olivera-Muzante, 2018; Olivera-Muzante et al., 2020). Estos resultados son promisorios, ya que se obtienen similares resultados a los obtenidos con IATF a partir de protocolos en base a P4-eCG (fertilidad 62%, fecundidad 86%; Fierro et al., 2017), constituyéndose así en alternativas de sincronización de estros e IATF vía cervical con semen fresco más “limpias, verdes y éticas”, y menos onerosas que las tradicionales de P4-eCG (Martin et al., 2004).

Experimentos recientes han demostrado que protocolos largos como dos PG separadas 15 días no modificarían la TO y la prolificidad observada respecto a ovejas en estro espontáneo (Olivera-Muzante et al., 2020). Sin embargo, se ha observado con este protocolo que al momento de la IATF a 56 h pos segunda dosis de PG, entre el 15 y el 20% de las ovejas se encuentran fuera del momento óptimo de servicio (Olivera-Muzante et al., 2020), disminuyendo así la probabilidad de quedar gestantes a la IATF. Es por eso que, resulta de mucho interés explorar si la aplicación de un nuevo protocolo en base a tres dosis de PG (días -22 -15 y 0), que combine la capacidad del Synchronvine® de concentrar estros y ovulaciones, y del dos PG separadas 15 días, con su alta concentración de progesterona, genera un mayor número de ovejas en fase luteal al momento de la última dosis de PG, y por lo tanto, una mayor respuesta y concentración de estros posterior a esta, repercutiendo favorablemente en los resultados reproductivos a un servicio de IATF.

3. HIPÓTESIS

La sincronización de estros en ovejas con un protocolo en base a tres dosis de PG (días -22, -15 y 0), produce una mayor respuesta y sincronía de estros posterior a la última dosis, contribuyendo a mejores resultados reproductivos en comparación a un protocolo de dos dosis de PG separadas 15 días.

4. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECIFICOS

Objetivo general

El objetivo del experimento fue la comparación de dos protocolos de sincronización de estros con PG en ovejas Merino Australiano: 3PG (tres dosis de PG, días -22 -15 y 0) o 2PG (dos dosis de PG, días -15 y 0).

Objetivos específicos

- a- Comparar la respuesta y distribución de estros en torno a la última dosis de PG.
- b- Evaluar y comparar variables reproductivas tales como la TO, el no retorno al estro al día 19 pos-servicio (NR_D19), la concepción y la prolificidad, con inseminación a estro detectado.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado durante la estación reproductiva (marzo/ abril) en el Centro de Innovación y Capacitación Ovina Mario Azzarini (CICOMA) perteneciente al Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL); 31° 03' 19" S 57° 13' 26" O (Colonia Lavalleja; Departamento de Salto, Uruguay). Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por la Comisión de Ética en el Uso de Animales – (CEUA) – de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay (CEUA-FVet. Protocolo N° 1043). La secuencia de actividades y evaluaciones realizadas se presenta en la Figura 3.

5.1 Animales

De un total de 500 ovejas multíparas Merino Australiano, se seleccionaron 212 aptas para el servicio (luego de un examen de aptitud reproductiva de ojos, boca, ubre, vulva y aparato locomotor), con peso vivo inicial (PV- Balanza Tru-test®; modelo ID 5000) promedio de $45,0 \pm 4,2$ Kg (media $\pm$ DE) y condición corporal (CC- Russel et al., 1969; escala 1 al 5) de $3,01 \pm 0,1$ (media $\pm$ DE). Para el servicio se utilizaron dos carneros raza Merino Australiano, a los cuales se les realizó un examen de aptitud reproductiva y examen macroscópico de semen (motilidad masal, concentración y volumen; Evans y Maxwell, 1987).

5.2 Manejo sanitario

Previo al experimento, los animales se inmunizaron contra enfermedades clostridiales (Clostrisan 9+T®, subcutánea 2 ml/ animal, Laboratorio Santa Elena, Montevideo, Uruguay). Se controló una vez al mes la evolución de la carga parasitaria (muestreos de HPG en materia fecal), y vigilancia constante por aparición de afecciones pódicas durante el periodo experimental.

5.3 Manejo nutricional y evaluación del campo natural. Régimen pluviométrico.

Todas las ovejas se mantuvieron bajo las mismas condiciones de manejo, en el mismo potrero y pastoreando campo natural (PC: 7,35%, FDA: 42,4%, FDN: 70,5%) a razón de 4 ovejas/hectárea (0,60 UG), y con acceso de agua *ad libitum*. Se determinó la disponibilidad de la pastura (1200 kg/MS/Ha) promedio mediante la técnica de doble muestreo, descrita por Haydock y Shaw (1975). La muestra fue secada en microondas a temperatura constante (12 m), y analizada en el Laboratorio de Nutrición Animal de INIA La Estanzuela. Se midieron las precipitaciones

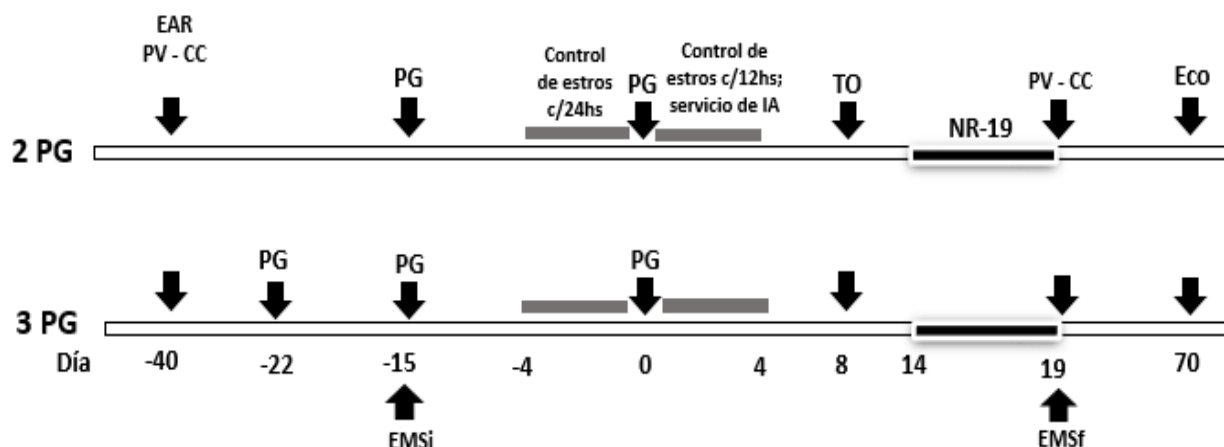
diariamente con pluviómetro Walmur®, las precipitaciones acumuladas en el período experimental (marzo-abril) fueron de 122 mm.

5.4 Protocolos de sincronización de estros

Un mes antes de comenzar el experimento se conformaron dos grupos experimentales en función de CC, PV e historial reproductivo previo de las ovejas; grupo **3PG** (n= 107; CC= 3,01 ± 0,1; PV= 45,4 ± 3,9) y grupo **2PG** (n= 105; CC= 3,01 ± 0,1; PV= 44,8 ± 4,2).

Los estros de las ovejas del grupo 3PG fueron sincronizadas con tres inyecciones (días -22, -15 y 0), de un análogo de PG (160 µg de Delprostenate por dosis, vía IM con jeringa de insulina de 1 ml; Glandinex®, Universal Lab, Uruguay). Comparado con dos inyecciones (2PG) del mismo análogo y misma dosis separadas quince días (días -15 y 0), se definió como día y hora 0 el día y hora de la administración de última PG.

Figura 3: Cronograma experimental.



EAR: Evaluación de aptitud reproductiva. EMSi: Evaluación de Materia Seca inicial. EMSf: Evaluación de Materia Seca final. PV: peso vivo; CC: condición corporal; PG: inyección de un análogo sintético de prostaglandina F2α. TO: tasa ovulatoria; NR_D19: tasa de no retorno al estro al día 19 pos-servicio. Eco: diagnóstico de gestación y carga fetal por ecografía transabdominal.

5.5 Detección de estros y servicios

Los estros fueron detectados con capones androgenizados al 5%. El protocolo de androgenización implicó la administración de 300 mg/ capón de

Ciclopentilpropionato de testosterona (Testosterona Ultra Lenta Fuerte®; Laboratorio Dispert, Uruguay; distribuidas en dos dosis de 200 y 100 mg con separación semanal). Al iniciar la detección los capones fueron pintados con tierra de color -Nortesur®- y agua en la región ventral cercana al prepucio. Desde cuatro días antes de la última dosis de PG (-96 h) se detectó estro una vez por día (durante la noche), con capones pintados de amarillo. A partir de la administración de la última dosis de PG (Hora= 0) se incrementó la frecuencia de detección (dos veces al día) con capones pintados de rojo. La detección finalizó a las 96 h después de la última PG. El número de ovejas en estro por día se denominó frecuencia absoluta. Se estimó la frecuencia relativa (ovejas que aparecen en estro del día/ total de ovejas en servicio* 100), la frecuencia relativa acumulada (ovejas que aparecieron en estro hasta el momento/ total de ovejas en servicio* 100), y se calculó la frecuencia acumulada de aparición de estros posterior a la última dosis de PG. En las ovejas que entraron en estro antes de la última dosis de PG (-96 a 0 hora) y que luego responden al tratamiento no se tuvo en cuenta el estro previo.

La IA se realizó una vez al día, inseminando ovejas en estro detectadas desde la noche anterior hasta esa mañana con semen fresco, puro e individual y por la vía cervical según la técnica descrita por Durán del Campo (1980). La dosis inseminante fue de 100 millones de espermatozoides vivos/ oveja. El servicio de repaso se realizó a campo, a partir del día 14 y hasta el día 19, ingresando un 3% de carneros Merino Australiano, pintados cada dos días en la zona prepucial con grasa y tierra de color verde. Finalizado el repaso se estimó el NR_D19 (ovejas que no retornan al estro al día 19/ total de ovejas inseminadas*100), la CC y el PV final.

5.6 Determinaciones ecográficas

Al día 8 se realizó ecografía ovárica por vía transrectal (Aloka® 500, Overseas Monitor Corp. Ltd., Richmond, BC, Canadá; con transductor lineal de 7,5 MHz Aloka®, Tokyo, Japan) según Viñoles, Gonzalez-Bulnes, Martin, Sales y Sale, (2010) para visualización de CLs y determinar TO (CLs/ oveja ovulada del grupo). Al día 70 pos-inseminación se realizó ecografía transabdominal según Viñoles et al. (2010), determinando concepción (gestante o no gestante), carga fetal (número de fetos por ovejas) para determinar prolificidad (número de fetos/ oveja gestante) y fecundidad (número de fetos/ oveja encarnerada)

5.7 Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico INFOSTAT®. Las variables categóricas (respuesta estral y distribución de estros, TO, NR_D19, concepción, prolificidad y fecundidad) fueron evaluadas por Chi Cuadrado o test de Brown (Brown, 1987). Las curvas que describen la aparición de estros de cada tratamiento fue comparada mediante la prueba de Kolmogórov-Smirnov. Para todas las variables el nivel de significancia fue $P < 0,05$.

6. RESULTADOS

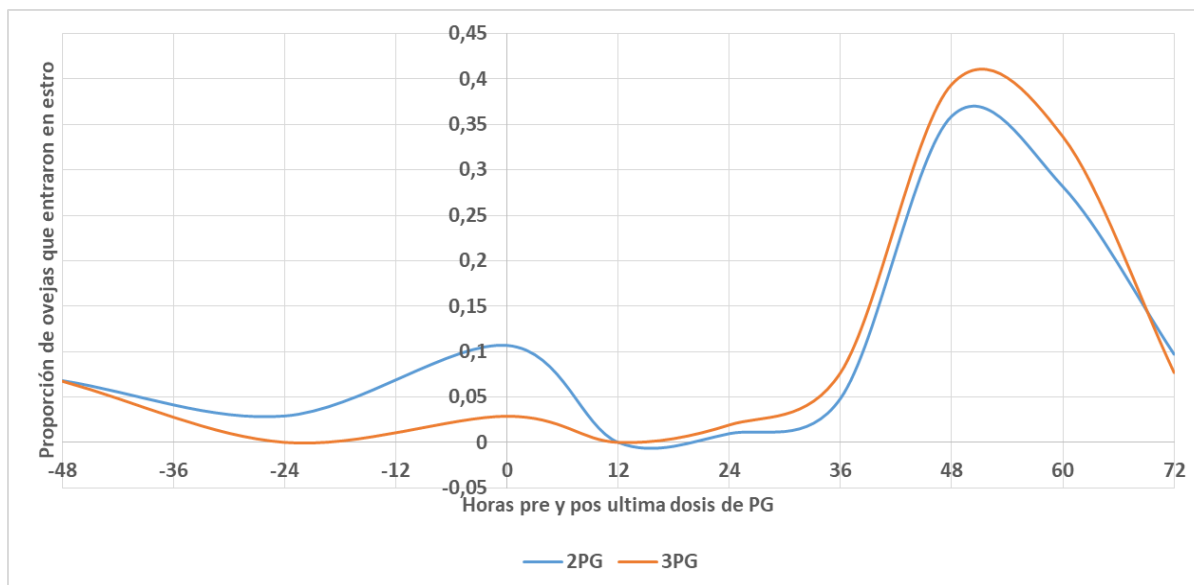
En la Tabla 1 y Figura 4 se muestran los resultados de frecuencia absoluta, frecuencia relativa, frecuencia relativa acumulada de aparición de estros por grupo, y frecuencia relativa acumulada de aparición de estros posterior a la última dosis de PG. Dentro de las 96 h previas a la última dosis de PG, el 19,8% de las ovejas del grupo 2PG manifestaron estro, mientras que solo el 9,3% del grupo 3PG lo hicieron (frecuencia relativa acumulada hasta la hora 0). Se observó además diferencias significativas ($P < 0,05$) en el porcentaje de ovejas que, habiendo manifestado estro en las 96 h previas a la última dosis de PG, responden a ésta (15 vs 30%, 2PG y 3PG, respectivamente). Esto conlleva a que se observen diferencias significativas en la frecuencia relativa y acumulada en la aparición de estros entre la hora 0 y la hora 24 ($P < 0,05$), aunque a partir de la hora 36 ya no se observan diferencias significativas entre los grupos. Las frecuencias relativas tuvieron una distribución bimodal (Figura 4), donde el principal pico se observa entre las 36 y 60 h para los dos protocolos, el pico secundario (primer pico) entre la hora -12 y 12. En este primer pico se observan diferencias significativas en la frecuencia relativa y acumulada de la aparición de estros ($P < 0,05$).

Tabla 1: Frecuencia absoluta, frecuencia relativa, frecuencia relativa acumulada de aparición de estros por momento y frecuencia acumulada de aparición de estros posterior a la última dosis de PG, en relación con la aplicación de la última dosis de PG en ovejas Merino Australiano sincronizada con dos (2PG) o tres (3PG) dosis.

Hora	2 PG (n=105)				3PG (n=107)				P
	n	f (%)	F (%)	F1 (%)	n	f (%)	F (%)	F1 (%)	
-48	7	6,6	6,6		7	6,5	6,5		<0,05
-24	3	2,8	9,4		0	0	6,5		
0	11	10,4	19,8		3	2,8	9,3		
12	0	0	19,8	0	0	0	9,3	0	
24	1	0,9	20,7	0,9	2	1,8	11,1	1,8	
36	5	4,7	25,4	5,7	8	7,4	18,5	9,3	
48	37	35,2	60,6	40,9	41	38,3	56,8	47,6	
60	29	27,6	88,2	68,5	35	32,7	89,5	80,3	
72	10	9,5	97,7	78,0	8	7,4	96,9	87,8	
Total		97,7				96,9			

Hora: hora de aparición de estro con relación a la última dosis de PG. 2PG: ovejas inyectadas con dos dosis de un análogo sintético de Prostaglandina F_{2α} (días -15 y 0), 3PG: ovejas inyectadas con tres dosis de análogo sintético de Prostaglandina F_{2α} (días -22; -15 y 0). n: frecuencia absoluta (número de ovejas); f: frecuencia relativa (%); F: frecuencia relativa acumulada (%); F1: frecuencia acumulada de aparición de estros posterior a la última dosis de PG (%). Día u hora 0= última dosis de PG. Diferentes letras en la misma fila: P< 0,05.

Figura 4: Distribución de la aparición de estros en ovejas Merino Australiano sincronizada con dos (2PG) o tres (3PG) dosis de PG.



2PG: ovejas inyectadas con dos dosis de un análogo sintético de Prostaglandina F2 α (días -15 y 0), 3PG: ovejas inyectadas con tres dosis de análogo sintético de Prostaglandina F2 α (días -22; -15 y 0). Día u hora 0: administración de última dosis de PG.

La respuesta estral acumulada total fue similar entre los grupos 2PG y 3PG (97,7 y 96,9% respectivamente), no encontrándose diferencias significativas ($P > 0,05$). Sin embargo, existió una diferencia en el número de ovejas que manifiestan estro posterior a la última dosis de PG (88% vs 78%, 3PG y 2PG respectivamente) 2PG encontrándose una tendencia estadística en estos valores ($P = 0,058$).

En la Tabla 2 se muestran los resultados reproductivos de solo un servicio de inseminación cervical de ovejas Merino Australiano sincronizados con dos (2PG) o tres (3PG) dosis de PG. No encontrándose diferencias significativas para ninguna de las variables en estudio ($P > 0,05$). El porcentaje de pérdidas reproductivas entre el NR-D19 y la concepción a los 70 días fueron muy bajas (ovejas que no retornan al estro y que se encuentran no gestantes en la ecografía), y no diferentes entre grupos ($P > 0,05$).

Tabla 2. TO, NR_D19 y resultados reproductivos de un servicio de inseminación vía cervical de ovejas Merino Australiano sincronizadas con dos (2PG) o tres (3PG) dosis de PG pastoreando campo natural.

Grupo (n)	TO	NR_D19 (%)	Concepción (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
2 PG (105)	1,1 ± 0,4 ^a	71 ^a	71% ^a	1,00 ± 0,31 ^a	71,0 ^a
3 PG (107)	1,2 ± 0,4 ^a	78 ^a	78% ^a	1,05 ± 0,37 ^a	81,9 ^a

2PG: ovejas inyectadas con dos dosis de un análogo sintético de Prostaglandina F2α (día -15 y 0), 3PG: ovejas inyectadas con tres dosis de un análogo sintético de Prostaglandina F2α (día -22; -15 y 0). TO: Tasa ovulatoria (número de cuerpos lúteos/ oveja ovulada) observados al día 8. NR_D19: no retorno al estro al día 19 del servicio (ovejas que no retornan al estro/ total de ovejas inseminadas*100). Concepción (ovejas gestantes/ inseminadas*100). Prolificidad (número de fetos/ ovejas gestantes). Fecundidad (número de fetos/ ovejas encarnadas*100). Letras diferentes en la misma columna (P< 0,05).

En la Tabla 3 se muestran los resultados reproductivos finales para ambos grupos después de dos servicios (inseminación + repaso con carneros). No se observan diferencias significativas en ninguna de las variables reproductivas consideradas (P> 0,05).

Tabla 3. TO, NR_D19 y resultados reproductivos de dos servicios (servicio de inseminación y repaso con carneros) de ovejas Merino Australiano sincronizadas con dos (2PG) o tres (3PG) dosis de PG pastoreando campo natural, observados al día 70 por ultrasonografía vía transabdominal.

Grupo (n)	TO	NR_D19 (%)	Concepción (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
2 PG (105)	1,1 ± 0,4 ^a	71 ^a	97,1% ^a	1,00 ± 0,31 ^a	95,2 ^a
3 PG (107)	1,2 ± 0,4 ^a	78 ^a	98,1% ^a	1,05 ± 0,37 ^a	100,1 ^a

2PG: ovejas inyectadas con dos dosis de un análogo sintético de Prostaglandina F2α (día -15 y 0), 3PG: ovejas inyectadas con tres dosis de un análogo sintético de Prostaglandina F2α (día -22; -15 y 0). TO: Tasa ovulatoria (número de cuerpos lúteos/ oveja ovulada) observados al día 8. NR_D19: no retorno al estro al día 19 del servicio (ovejas que no retornan al estro/ total de ovejas inseminadas*100). Concepción (ovejas gestantes/ inseminadas*100). Prolificidad (número de fetos/ ovejas gestantes). Fecundidad (número de fetos/ ovejas encarnadas*100). Letras diferentes en la misma columna (P< 0,05).

7. DISCUSIÓN

Los resultados de este experimento confirman la hipótesis planteada: el nuevo protocolo en base a tres dosis de PG produjo una mayor sincronía de estros, y una mejor respuesta estral acumulada después de la última dosis de PG en comparación con el protocolo en base a dos dosis de PG.

La respuesta estral del grupo 2PG fue algo menor en relación con trabajos previos realizados en la raza Corriedale (Mallada y Rocha, 2019), en donde el 92% de las ovejas sincronizadas con dos dosis de PG separadas 15 días respondieron, y con Dutra da Silveira y Soler (2013), donde el 94% de las ovejas en un protocolo de dos dosis de PG separadas 14 días evidenciaron estro. Sin embargo, se obtuvieron similares frecuencias relativas acumuladas a las obtenidas por Dutra da Silveira y Soler (2013), con un protocolo de dos dosis de PG separadas 16 días, donde el 73% de las ovejas manifestaron estro. Es difícil explicar esta diferencia en el porcentaje de ovejas que responden a la PG, ya que salvo la raza utilizada (Corriedale o Merino Australiano), en todos los trabajos reportados se usó la misma dosis de PG y las ovejas fueron tratadas en similar momento de la estación reproductiva. Sin embargo, la aplicación de tres dosis de PG eleva la cantidad de ovejas que responden, por lo que las diferencias no estarían tan relacionadas a la raza, sino a la proporción de ovejas que estén en condiciones de responder a la última dosis de PG, en este sentido, el protocolo 3PG parecería fue más eficaz en sincronizar los ciclos estrales.

En el presente experimento, el número de ovejas que manifiestan estro antes de la última dosis de PG se redujo a la mitad en el protocolo de 3PG con respecto al 2PG. Los porcentajes de ovejas que manifiestan estro antes de la última dosis de PG han sido variables en los diferentes estudios previos. Dutra da Silveira y Soler (2013) reportan que 24% de las ovejas de un protocolo de dos dosis de PG separadas 16 días manifestaron estro previo a la última dosis de PG, mientras que Mallada y Rocha (2019) reportan que sólo el 8% de las ovejas lo hacen con 15 días de separación. Menores porcentajes de aparición de estros antes de la última dosis de PG y similares respuestas estrales indican una mayor sincronía de los estros posteriormente (y por ende de las ovulaciones). En nuestro experimento, el nuevo protocolo es capaz de producir una mayor agrupación de los estros; no solo hay un menor porcentaje de

ovejas que entran en estro antes de la última dosis de PG, sino que se observa una mayor proporción de estas respondiendo a la última dosis.

La distribución de los estros en nuestro experimento se concentró fundamentalmente entre las 48 y 60 h para ambos grupos. En otros experimentos previos (Dutra da Silveira y Soler, 2013; Mallada y Rocha, 2019) se reportan que, para un protocolo con 15 o 16 días de separación entre dosis de PG la aparición del pico de estros se concentró entre las 36 y 48 h de aplicación de la última dosis de PG, a diferencia de lo ocurrido en el presente experimento. Una explicación de la dispersión de los estros es el estado de la población folicular de cada individuo. La variabilidad de días depende de, si al momento de la inyección de PG el folículo dominante se encuentra en fase de crecimiento o no. Si es así, se producirá el estro y la ovulación en un corto periodo de tiempo, mientras que, si ese folículo se encuentra en fase estática o en regresión, tendrá que emerger una nueva onda folicular ocurriendo el estro y la ovulación en forma más tardía (Viñoles y Rubianes, 1998). En resumen, protocolos más largos (16 días entre dosis de PG, por ej.) podrían estar determinando que algunas ovejas presenten luteólisis natural, ya que las mismas se encontraban en fase folicular en lugar de fase lútea al momento de la inyección de la última PG (Olivera-Muzante, 2018), determinando otra de las causas de variabilidad de días en la manifestación de estros dando un acortamiento en h de manifestación de estro pos ultima PG, no ocurriendo con el nuevo protocolo (3PG).

El promedio de aparición de estros (inicio del estro) en el grupo 2PG fue de 48 h, mientras que en el grupo 3PG fue 51 h. En tal sentido, y de cara a una IATF (sin detección de estro), es necesario contemplar esta diferencia, por lo que el momento óptimo para una IATF en el grupo 2PG sería a las 63 h de la última dosis de PG y para el grupo 3PG a las 66 h. Para este cálculo se toma en cuenta el tiempo necesario para la llegada y capacitación de los espermatozoides a la trompa uterina, que la ovulación en la oveja se produce 25-30 h posteriores al inicio del estro, y que la inseminación se debe realizar 12 h antes de la ovulación (Evans y Maxwell, 1987). Sin embargo, se debe considerar que en los protocolos 2PG un alto porcentaje de ovejas tendrán su estro antes, quedando alejadas de ese momento. Una doble IATF quizás contemplaría esta situación.

En lo referente a la TO y prolificidad, no se encuentran diferencias significativas entre ambos protocolos. En concepción el resultado fue alentador para ambos protocolos con IA a estro visto: el nuevo protocolo superó un 7% al 2PG y ambos grupos alcanzan casi a un 100% de concepción al considerar el repaso con carneros, en fecundidad la diferencia numérica es más grande, 3PG se situó un 10% encima del 2PG, pero sin diferencias significativas en ambas variables ($P < 0,05$). Tampoco se encontraron diferencias en el variables reproductivas por semen de carnero utilizado ($P < 0,05$) no observándose el efecto padre. Contabilizando solo los resultados del primer servicio de IA esos valores resultaron superiores a los reportados por Dutra y Soler (2013), quienes usaron protocolos de doble dosis de PG separadas 14 y 16 días e inseminación a estro visto. También fueron superiores a los reportados por Mallada y Rocha (2019), donde también se usó un protocolo con dos dosis de PG, pero separadas 15 días, pero a diferencia de nuestro experimento, el servicio en este reporte fue IATF a las 56 h de la última dosis de PG, y que al momento del servicio un porcentaje de entre el 15 y el 20% de las ovejas se encontraron fuera del momento óptimo de servicio (por observación de mucus vaginal) Olivera-Muzante et al., (2020), puede ser la explicación de ese bajo resultado.

8. CONCLUSIONES

Se concluye que, el empleo de este nuevo protocolo de sincronización de estros (con tres dosis de PG; días -22, -15 y 0) permitiría una mejor sincronización de los estros pos ultima dosis de PG que un protocolo de dos dosis (días -15 y 0), aunque implica una dosis de PG extra. Presentando también resultados reproductivos levemente superiores en cuanto a concepción, fecundidad y NR_D19. El porcentaje de concepción obtenido a partir de la detección de estros hace pensar que el protocolo sea una alternativa viable en esta eventual IATF, la mayoría de los estros se concentran entre las 48 y 60 h pos última PG, lo que permitiría la realización de IATF a las 66 h posteriores a la última dosis de PG.

9. BIBLIOGRAFIA

- Abecia, A., y Forcada, F. (2010). *Manejo Reproductivo en Ganado Ovino*. Zaragoza: Servet.
- Abecia, J., Forcada, F., y González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130, 173-179.
- Acritopoulou, S., Haresign, W., y Foster, J. (1977). Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injection of an analogue of prostaglandin F-2 α . *Journal of Reproduction and Fertility*, 49, 337-340.
- Acritopoulou, S., y Haresign, W. (1980). Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF2 α given at different stages of oestrus cycle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 58, 219-223.
- Banchero, G., Ganzábal, A., Montossi, F., De Barbieri, I., y Quintans, G. (2012). Aportes de la investigación para el aumento de la producción de corderos. *Veterinaria*, 72(48, supl. 1), 13-18.
- Bartlewsky, P., Beard, A., Cook, S., Chandolia, R., Honaramooz, A., y Rawlings, N., (1999). Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility*, 115, 111-124.
- Baird, D.T., y Scaramuzzi, R.J. (1975). Prostaglandin F2 α and luteal regression in the ewe: comparison with 16 aryloxyprostaglandin (I.C.I. 80, 996). *Annales de biologie animale, biochimie, biophysique*, 15, 161-174.
- Baird, D.T. y Scaramuzzi, R.J. (1976). The source of ovarian oestradiol and androstenedione in the sheep during the luteal phase. *Acta Endocrinologica (Copenhagen)*, 83, 402-409.
- Baird, D.T. (1978). Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biology Reproduction* 18:359-364.

- Baird, D.T. (1983). Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human. *Journal of Reproduction and Fertility*, 69, 343-352.
- Binder, D., Bowler, J., Brown, E., Crossley, N., Hutton, J., y Senior, M. (1974). 16-aryloxy prostaglandins: a new class of potent luteolytic agent. *Prostaglandins*, 6, 87-90.
- Bindon B.M., Blanc M.R., Pelletier J., Terqui M., y Thimonier J. (1979). Preovulatory gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *Journal of Reproduction and Fertility*, 55,15–25.
- Boland, M., Gordon, I., y Kelleher, D. (1978). The effect of treatment by prostaglandin analogue (ICI-80996) or progestagen (SC-9880) on ovulation and fertilization in cyclic ewes. *Journal of Agricultural Sciences*, 91, 727–730.
- Castro, T., Menchaca, A., y Rubianes, E. (2007). Fisiología reproductiva y control del desarrollo folicular en ovejas y cabras. En *Fisiología y manejo reproductivo en pequeños rumiantes* (pp. 8-19). Instituto de Reproducción Animal del Uruguay, Curso de posgrado de Reproducción en Rumiantes, Montevideo.
- Coleman, D., y Dailey, R. (1983). Effects of repeated removal of large ovarian follicles and treatment with progestin on ovarian function in the ewe. *Biology of Reproduction*, 29, 586-593.
- Davis, A., Fleet, I., Harrison, F., y Walker, F. (1980). Pulmonary metabolism of prostaglandin F2a in the conscious non pregnant ewe and sow. *Journal of Physiology*, 301, 86.
- Durán del Campo, A. (1980). *Anatomía, fisiología de la reproducción e inseminación artificial en ovinos*. Montevideo: Hemisferio Sur.
- Durán del Campo, A., y Cash Stirling, R. (1982). Sincronización de celos en ovinos mediante el uso de prostaglandina. En *Resúmenes del III Congreso Nacional de Veterinaria* (pp. 345-353). Montevideo: Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay.
- Durán del Campo, A. (1993). Inseminación artificial. En *Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos* (Vol. 3, pp. 43-45). Montevideo: Hemisferio Sur.

Durán del Campo, A. (1996). *Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos*. Montevideo: Hemisferio Sur.

Dutra da Silveira, R., y Soler, D. (2013). *Respuesta Reproductiva en ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina F2 alfa administradas a diferentes intervalos de tiempo* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, Udelar, Montevideo.

Eggleston, D., Wilken, C., Van Kirk, E., Slaughter, R., Ji, T., y Murdoch, W. (1990). Progesterone induces expression of endometrial messenger RNA encoding for cyclooxygenase (sheep). *Prostaglandins*, 39, 675-683.

Evans, G., y Maxwell, W. (1987). Collection of semen; Handling and examination of semen. En *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats* (pp. 85-104). Sydney: Butterworth's.

Evans, A.C.O., Duffy, P., Hynes, N., y Boland, M. (2000). Waves of follicle development during the estrous cycle in the sheep. *Theriogenology* 53:699-715.

Evans, A.C.O. (2003). Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal Reproduction Science* 78:289-306.

Fernández Abella, D., y Villegas, N. (2015). Inseminación Artificial en ovinos. En *Tecnologías reproductivas bovinas y ovinas* (pp. 127-151). Montevideo: Hemisferio Sur.

Fierro, S. (2010). *Perdidas reproductivas en ovejas sincronizadas con prostaglandina* (Tesis de maestría). Facultad de Veterinaria, Udelar, Montevideo.

Fierro, S., Olivera, J., Gil, J., y Viñoles, C. (2011). Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology*, 76, 630-639.

Fierro, S., Gil, J., Viñoles, C., y Olivera-Muzante, J. (2013). The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology*, 79, 399-408.

- Fierro, S., Viñoles, C., y Olivera-Muzante, J. (2016). Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized with different prostaglandin-based protocols. *Animal Reproduction Science*, 167, 74-82.
- Fierro, S., Viñoles, C., y Olivera-Muzante, J. (2017). Long term prostaglandin based protocols improve the reproductive performance after timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 90, 109-113.
- Fierro, S., y Olivera-Muzante, J. (2017). Long interval prostaglandin as an alternative to progesterone-eCG based protocols for timed AI in sheep. *Animal Reproduction Science*, 180, 78-84.
- Gibbons, A., y Cueto, M. (1995). *Manual de inseminación artificial en la especie ovina*. Recuperado de <http://www.inta.gov.ar/bariloche/info/documentos/animal/reproduc/pa281.htm>
- Gibbons, A., Casas, N., y Cueto, M. (2010). Fertilidad en ovinos inseminados a tiempo fijo después de la sincronización de la ovulación con diferentes dosis de cloprostenol. *Revista Argentina de Producción Animal*, 30(1), RF/SP 16.
- Ginther, O., Kot, K., y Wiltbank, M. (1995). Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology*, 43, 689-703.
- Ginther, O.J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 61-79.
- Godfrey, R., Collins, J., Hensley, E., y Wheaton, J. (1999). Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep in the tropics. *Theriogenology*, 51, 985–997.
- Gordon, I. (1983). Fixed-time sheep artificial insemination. En *Controlled Breeding in Farms Animals* (pp.197-208). Oxford: Pergamon.

- Gordon, I. (1996). *Controlled Reproduction in Sheep and Goats*. Oxford: CAB International.
- Hackett, A., Langford, G., y Robertson, H. (1981). Fertility of ewes after synchronization of estrus with prostaglandin F2 α and artificial insemination. *Theriogenology*, 15, 599-603.
- Haydock, K.P., y Shaw, N.H. (1975). The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 15(76), 663–670.
- Hansel, W., y Convey, E.M. (1983). Physiology of the estrous cycle. *Journal Animal Science*, 57, 404–424.
- Haresign, W., y Acritopoulou-Fourcroy, S. (1978). Controlled breeding in sheep using the prostaglandin analogue, ICI 80996. *Livestock Production Science*, 5, 313-319.
- Hixon, J., y Flint, A. (1987). Effects of a luteolytic dose of oestradiol benzoate on uterine oxytocin receptor concentrations, phosphoinositide turnover and prostaglandin F-2 α secretion in sheep. *Journal Reproduction Fertility*, 79, 457-467.
- Hooper, S., Watkins, W., y Thorburn, G. (1986). Oxytocin, oxytocin associated neurophysin, and prostaglandin F2 α concentrations in the utero-ovarian vein of pregnant and non pregnant sheep. *Endocrinology*, 119, 2590-2597.
- Houghton, J., Liberati, N., Schrick, F., Townsend, E., Dailey, R., y Inskeep, E. (1995). Day of estrous cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *Journal Animal Science*, 73, 2094-2101.
- Karsch, F.J., Legan, S.J., Ryan, K.D., y Foster, D.L. (1980). Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behavior during the sheep estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 23, 404-413.
- Light, J., Silvia, W., y Reid, R. (1994). Luteolytic effect of prostaglandin F2 α and two metabolites in ewes. *Journal Animal Science*, 72, 2718-2721.

- Loubser, P., y Van Niekerk, C. (1981). Oestrus synchronization in sheep with progesterone-impregnated (MAP) intravaginal sponges and a prostaglandin analogue. *Theriogenology*, 15(6), 547-552.
- Mallada, B., y Rocha, V. (2019). Efecto del estro inducido con PGF2a sobre la tasa ovulatoria, prolificidad y fertilidad de ovejas corriedale (Tesis de grado). Técnico en Producción Agrícola Ganadera, La Carolina, Flores.
- Martin, G.B., Milton, J., Davidson, R., Banchero-Hunzicker, G., Lindsay, D., y Blache, D. (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 82, 231-246.
- Montossi, F. (2003). *Auditoría de calidad de la cadena cárnica ovina del Uruguay*. Montevideo: INIA.
- McCracken, J., Schramm, W., y Okulicz, W. (1984). Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF2 α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Animal Reproduction Science*, 7, 31-55.
- McCracken, J.A., Glew, M.E., y Scaramuzzi, R.J. (1970). Corpus luteum regression by prostaglandin F2 α . *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 30(4), 544-546.
- Menchaca, A., Gil, J., Olivera, J., y Rubianes, E. (2003). Effect of body condition score at time of service on fertility and fecundity in artificially inseminated ewes. En H. Tríbulo y G. Bo (Eds), *Proceedings of the V International Symposium on Animal Reproduction* (p. 404). Córdoba: ISABR.
- Menchaca, A., Miller, V., Gil, J., Pinczak, A., Laca, M., y Rubianes, E. (2004). Prostaglandin F2 α treatments associated with Timed Artificial Insemination in ewes. *Reproduction Domestic Animal*, 39, 352-355.
- Menchaca, A., y Rubianes, E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, 16(4), 403-413.

- Menchaca, A., y Rubianes, E. (2012). Avances en el control ovárico en la oveja. Reunión Bianual Sobre Reproducción Animal 2012. Temascaltepec de González, México; del 4 al 5 de Octubre de 2012. PP 76-83.
- Milgrom, E., Thi, L., Atger, M., y Baulieu, E. (1973). Mechanisms regulating the concentration and the conformation of progesterone receptor(s) in the uterus. *Journal of Biological Chemistry*, 248, 6366-6374.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2011). *Censo General Agropecuario*. Disponible en <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/politicas-y-gestion/censo-general-agropecuario-2011>
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2016). *Resultados de la Encuesta Ganadera Nacional 2016*. Disponible en <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/resultados-encuesta-ganadera-nacional-2016>
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2021). *Datos Preliminares basados en la Declaración Jurada de Existencias DICOSE – SNIG 2020*. Disponible en <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/datos/datos-preliminares-basados-declaracion-jurada-existencias-dicose-snig-2020>
- Noakes, D., Parkinson, T., y England, G. (2001). Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. En D.E. Noakes, T.J. Parkinson, G.C.W. England, *Arthur's Veterinary reproduction and obstetrics* (8ª ed., pp.1-53). London: Sanders.
- Olivera, J., y Gil, J. (2005). Estudio de diferentes alternativas para la sincronización de celos en ovinos: descripción y valorización económica. Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornadas de Buiatría* (Vol. XXXIII, pp 195-196). Paysandú: Centro Médico Veterinario de Paysandú.
- Olivera, J., Gil, J., Fierro, S., Araujo, A., Filliol, E., y Stoletniy, G. (2007). Sincronización de celos en ovinos: efecto del intervalo entre dosis de PGF2 α y del momento de IA a Tiempo Fijo con el protocolo Synchrovine®. Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornadas de Buiatría* (Vol. XV, pp. 330-333) Paysandú: Centro Médico Veterinario de Paysandú.

- Olivera-Muzante, J., Fierro, S., López, V., y Gil, J. (2011). Comparison of prostaglandin- and progesterone-based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 75, 1232-1238.
- Olivera-Muzante, J., Gil, J., Fierro, S., Menchaca, A., y Rubianes, E. (2011). Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 76, 1501-1507.
- Olivera-Muzante, J. (2018). *Inseminación artificial cervical a tiempo fijo en ovinos empleando análogos de Prostaglandina*. Montevideo: INIA.
- Olivera-Muzante, J., Fierro, S., y Minteguiaga, M.A. (2020). Long-term prostaglandin-based treatment regimens do not affect ovulation rates or prolificacy in multiparous ewes after fixed-time cervical AI. *Animal Reproduction Science*, 218, 106482.
- Piper, P., Vane, J., y Wyllie, J. (1970). Inactivation of prostaglandins by the lungs. *Nature*, 225, 600-604.
- Powell, M., Kaps, M., Lamberson, W., y Keisler, D. (1996). Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. *Journal Animal Science*, 74, 2292–2302.
- Roy, F., Combes, B., Vaiman, D., Cribiu, EP., Pobel, T., Deletang, F., ... Maurel, MC. (1999). Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. *Biology Reproduction*, 61, 209-218.
- Rubianes, E., Ungerfeld, R., y De Castro, T. (1999). Inducción y sincronización de celo en ovejas y cabras. *III Simposio de Reproducción Animal* (pp 109-131), Carlos Paz, Argentina.
- Rubianes, E., Menchaca, A., y Carbajal, B. (2003). Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin F2a. *Animal Reproduction Science*, 78, 47-55.

- Rubianes, E., Menchaca, A., Gil, J., y Olivera-Muzante, J. (2004). Reproductive performance of a new Timed Artificial Insemination protocol (Synchrovine®) in sheep. *Reproduction Fertility and Development*, 16(4), 508.
- Russel, A., Doney, JM., y Gunn, R. (1969). Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 72, 451-454.
- Scaramuzzi, R.J., Adams, N.R., Baird, D.T., Campbell, B.K., Downing, J.A., Findlay, J.K., Henderson, K.M., Martin, G.B., McNatty, K.P., McNielly, A.S., y Tsonis, C.G. (1993). A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction Fertility and Development* 5:459-478.
- Secretariado Uruguayo de la Lana. (2017). *Boletín Mensual de Exportaciones del Rubro Ovino*. Recuperado de boletín_de_exportaciones@sul.org.uy.
- Souza, C.J., Campbell, B.K., y Baird, D.T. (1997). Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology Reproduction*, 56, 483-488.
- Ungerfeld, R. (2002). Control endócrino del ciclo estral. En R. Ungerfeld, *Reproducción en los animales domésticos* (Vol. 1, pp. 41-55). Montevideo: Melibea.
- Vallet, J., Lamming, G., y Batten, M. (1990). Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and oestradiol in the ewe. *Journal of Reproduction Fertility*, 90, 625-634.
- Vilariño, M., Rubianes, E., van Lier, E., y Menchaca, A. (2010). Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO®) in sheep. *Small Ruminant Research*, 91, 219-224.
- Viñoles, C., y Rubianes, E. (1998). Origin of the preovulatory follicle after induced luteolysis during the early luteal face in ewes. Canadian. *Journal Animal Science*, 78, 429-431.

- Viñoles, C., Banchero, G., y Rubianes, E. (1999). Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cyclings ewes with high and low body condition score. *Theriogenology* 51:437.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G., y Rubianes, E. (2001). Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55(4), 993-1004.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G., y Rubianes, E. (2002) Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Animal Science* 74:539-545.
- Viñoles, C., González de Bulnes, A., Martin, G.B., Sales, F., y Sale, S. (2010). Sheep and Goats. En L. DesCoteaux, J. Colloton, y G. Gnemi (Eds.), *Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography* (pp.181-210). Ames: Wiley-Blackwell.
- Weems, Y., Bridges, P., Lea Master, B., Sasser, R., Vincent, D., y Weems, C. (1999). Secreton of progesterone, estradiol-17 β , PGE, PGF2 α , and pregnancy-specific protein B by 90-day intact and ovariectomized pregnant ewes. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 58(2),139-148.
- Wheaton, J., Carlson, K., Windels, H., y Johnston, L. (1993). CIDR: a new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 33, 127–141.