

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**IATF EN OVINOS CON SEMEN FRESCO: COMPARACIÓN BIOLÓGICA Y
ECONÓMICA DE PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN ESTRAL**

Por

**Br. Fernando FOSSATI LEÁNIZ
Br. Mario Alfredo MARTINICORENA BENGOCHEA
Br. Martín REGUSCI BRUNNINGHAUSEN**

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
2008**

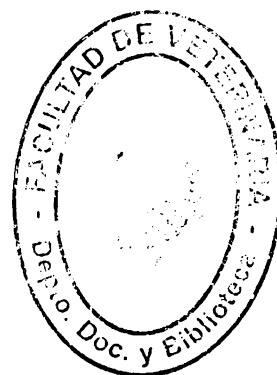
099 TG

IATF en ovinos

Fossati Leániz, Fernando



FV/28010



TESIS DE GRADO aprobado por:

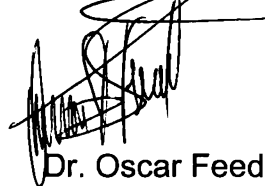
Presidente de Mesa:

Ing. Agr. Daniel Fernández Abella

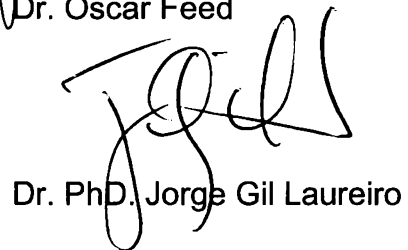
Segundo Miembro (Tutor):


Dr. PhD. Julio Olivera Muzante

Tercer Miembro:


Dr. Oscar Feed

Cotutor:


Dr. PhD. Jorge Gil Laureiro

Fecha:

24 Octubre 2008

Autores:

Br. Fernando FOSSATI LEÁNIZ

Br. Mario Alfredo MARTINICORENA BENGOCHEA

Br. Martín REGUSCI BRUNNINGHAUSEN

AGRADECIMIENTOS:

- ✓ A nuestro tutor y amigo el Dr. Julio Olivera por el tiempo, dedicación y motivación para la realización de éste trabajo.
- ✓ A nuestro cotutor el Dr. Jorge Gil por su invaluable colaboración en la realización de éste trabajo.
- ✓ Los autores de este trabajo quieren agradecer especialmente al Sr. Eduardo Filliol Barreiro y flia., y al personal del establecimiento "Piedra Mora", por su invaluable colaboración para impulsar estos trabajos de investigación-validación al ofrecer desinteresadamente animales, instalaciones y comodidades para el trabajo.
- ✓ A nuestra compañera de trabajo y amiga Milagros Bottaro por su dedicación en la recolección, análisis e interpretación de datos recabados, indispensables para que éste trabajo haya podido realizarse.
- ✓ Al Laboratorio Uruguay S.A. y en especial al Dr. Ignacio Acosta por proporcionar la PGF2 α (SINCRON-DL[®]).
- ✓ A los Drs. Sergio Fierro y Gabriel Duran por facilitar la realización del trabajo ecográfico y por sus opiniones en el diseño del mismo.
- ✓ A la Universidad de la Republica, por la financiación del trabajo (CIDEC 2006 y CSIC I+D 600/6015).
- ✓ Al MGAP-DILAVE "Miguel C. Rubino" por brindar instalaciones y recursos humanos.
- ✓ A Oscar "Coco" Bentancur por su colaboración en el análisis estadístico.
- ✓ Al Ing. Agr. Gonzalo Oliveira por su colaboración en el análisis económico de la tesis.
- ✓ A nuestras familias por el apoyo constante en la realización de éste trabajo.
- ✓ A Patricia Blanc ("Paty") y su familia por su alojamiento en Paysandú.
- ✓ A todo el grupo Producción 2006 por su apoyo en todo momento.
- ✓ A todo el cuerpo docente de la Facultad de Veterinaria de la E.E.M.A.C.
- ✓ A la Dra. Marcela Vilariño y al Dr. Cavestany por sus valiosos aporte en el material bibliográfico.

TABLA DE CONTENIDO

| | Página |
|---|-----------|
| PÁGINA DE APROBACIÓN | 2 |
| AGRADECIMIENTOS | 3 |
| LISTA DE CUADROS, GRÁFICOS Y FIGURAS | 6 |
| 1. RESUMEN | 7 |
| 2. SUMMARY | 8 |
| 3. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DE ESTUDIO | 9 |
| 4. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA | 12 |
| 4.1. RECORDATORIO FISIOLÓGICO: CICLO ESTRAL | 12 |
| 4.1.1. Fase Folicular | 12 |
| 4.1.2. Fase Luteal | 12 |
| 4.2. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL | 13 |
| 4.2.1. <u>Métodos de Inseminación Artificial</u> | 13 |
| 4.2.1.1. Inseminación Cervical | 13 |
| 4.2.1.2. Inseminación Vaginal Profunda | 14 |
| 4.2.1.3. Inseminación Intrauterina | 14 |
| 4.3. SINCRONIZACIÓN E INDUCCIÓN DE CELO EN OVINOS | 14 |
| 4.3.1. <u>Métodos de Inducción de Celo y Ovulación</u> | 15 |
| 4.3.2. <u>Métodos de Sincronización de Celo y Ovulación</u> | 15 |
| 4.3.2.1. Progesterona y/o Progestágenos | 15 |
| 4.3.2.2. Progesterona y/o Progestágenos y Asociaciones | 17 |
| 4.3.2.3. Progesterona y/o Progestágenos Asociados a IATF | 18 |
| 4.3.2.4. Prostaglandina | 18 |
| 4.3.2.5. Sensibilidad del Cuerpo Lúteo y Dispersión del Celo utilizando Prostaglandina | 19 |
| 4.3.2.6. Tratamientos con Prostaglandina | 20 |
| 4.3.2.7. Prostaglandina asociado a IATF: protocolo Synchrovine® | 21 |
| 4.3.2.8. Baja Fertilidad de los Celos sincronizados con Prostaglandina | 22 |
| 4.4. PÉRDIDAS REPRODUCTIVAS ENTRE EL NO RETORNO A SERVICIO Y LA ECOGRAFÍA | 22 |
| 3.4.1. <u>Factores que afectan la mortalidad embrionaria</u> | 23 |
| 4.5. COMPARACIÓN BIOLÓGICA Y ECONÓMICA DE PROTOCOLOS DE IATF | 26 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS | 28 |

| | |
|--|----|
| 6. <u>RESULTADOS</u> | 32 |
| 6.1. EFICIENCIA EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELOS DE LOS PROTOCOLOS SYNCHROVINE® Y CONTROL | 32 |
| 6.2. TASA DE NO RETORNO AL CELO Y PÉRDIDAS REPRODUCTIVAS ENTRE EL NO RETORNO AL CELO Y LA ECOGRAFÍA PARA LOS PROTOCOLOS SYNCHROVINE® Y CONTROL | 32 |
| 6.3. PRECIPITACIONES DEL PERÍODO Y SU RELACIÓN CON EVENTOS DEL EXPERIMENTO | 33 |
| 6.4. COMPARACIÓN REPRODUCTIVA DE MOMENTOS DE IATF CON EL PROTOCOLO SYNCHROVINE® | 34 |
| 6.5. COMPARACIÓN REPRODUCTIVA DEL PROTOCOLO SYNCHROVINE® Y CONTROL AL SERVICIO DE IATF E IATF MAS REPASO | 35 |
| 6.6. COMPARACIÓN ECONÓMICA DEL PROTOCOLO SYNCHROVINE® Y CONTROL A SERVICIO DE IATF E IATF MAS SERVICIO REPASO | 36 |
| 7. <u>DISCUSIÓN</u> | 39 |
| 8. <u>CONCLUSIONES</u> | 42 |
| 9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> | 43 |
| 10. <u>ANEXOS</u> | 55 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Pérdidas reproductivas en IATF vía cervical con semen fresco con el protocolo Synchronvine® o protocolo Control en ovejas multíparas Merino Australiano | 33 |
| Cuadro 2. Comparación de tres momentos de IATF vía cervical con semen fresco con el protocolo Synchronvine® en ovejas multíparas Merino Australiano | 34 |
| Cuadro 3. Comparación en términos reproductivos entre protocolo Synchronvine-48 y Control en servicio de IATF vía cervical con semen fresco en ovejas multíparas..... | 35 |
| Cuadro 4. Comparación en términos reproductivos entre protocolo Synchronvine-48 y Control en IATF+Servicio Repaso vía cervical y semen fresco en ovejas multíparas | 35 |
| Cuadro 5. Análisis comparativo de costos entre protocolos Synchronvine-48 y Control a IATF vía cervical y semen fresco en ovejas multíparas | 36 |
| Cuadro 6. Análisis comparativo de costos entre los protocolos Synchronvine-48 y Control a IATF+Servicio Repaso vía cervical y semen fresco en ovejas multíparas..... | 37 |

LISTA DE GRAFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Distribución del celo espontáneo posterior al inducido para los protocolos Synchronvine® (datos agrupados) y Control..... | 32 |
| Gráfico 2: Comparación de precipitaciones mensuales entre el promedio nacional (INIA, 2008) y las precipitaciones del año de ensayo (mm.)..... | 34 |
| Gráfico 3. Valor de dosis de semen utilizada, costo final por feto e incremento porcentual del costo por feto a servicio IATF mas servicio repaso en protocolo Synchronvine® y Control..... | 38 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Precipitaciones acumuladas durante el experimento y su relación cronológica con las actividades realizadas..... | 33 |
|--|----|

1. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue la comparación en términos biológicos y económicos de dos protocolos de sincronización de celos e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) con semen fresco vía cervical: 1) Synchrovine® (dos dosis de prostaglandina separadas 7 días, Cloprostenol 125 µg) e IATF a las 42, 48 y 54 horas posteriores a la segunda dosis (n=373), y 2) Control (progestágenos y eCG, esponjas de MAP 60 mg durante 13 días más eCG 300 UI a su retiro) e IATF a las 54 horas posteriores (n=105). Se utilizaron ovejas multíparas de raza Merino Australiano en estación reproductiva. Se realizó un servicio repaso (inseminación artificial) a celo natural detectado entre los días 14 a 23 post IATF con semen fresco. Los resultados de fertilidad, prolificidad y fecundidad se evaluaron por medio de ultrasonografía a los 60 días de la IATF. Se produjeron importantes precipitaciones durante el período de trabajo experimental. Se observó una presentación más tardía pero más concentrada en los celos naturales del servicio repaso del grupo Control respecto al grupo Synchrovine®. Las pérdidas reproductivas absolutas entre el no retorno al celo a 23 días y la fertilidad a ecografía fueron menores para el grupo Control que para el Synchrovine® ($P < 0.05$). La fertilidad, prolificidad y fecundidad no difirió entre los grupos Synchrovine® con IATF a las 42, 48 o 54 horas de la segunda prostaglandina ($P > 0.05$). La fertilidad y fecundidad del grupo Control fue mayor que la de los grupos Synchrovine® con IATF a 42, 48 ó 54 horas respectivamente ($P < 0.05$). Comparando la IATF mas el servicio repaso entre el grupo Synchrovine® con IATF a 48 horas y el grupo Control, no se observaron diferencias de fertilidad, prolificidad y fecundidad final ($P < 0.05$). Los resultados económicos para ambos protocolos evidencian ser muy sensibles al valor de la dosis seminal. Para el valor de dosis de semen igual a 3 U\$, el costo por feto obtenido se igualaría entre los protocolos, siendo favorable al protocolo Synchrovine® para valores de semen inferiores. Sin embargo, y por los resultados biológicos obtenidos, en situaciones de alta inversión genética en el servicio de IATF y/o Repaso (valor del semen por ejemplo), la alternativa que mejor optimiza esta inversión sigue siendo hasta el momento el protocolo Control con progestágenos y eCG.

2. SUMMARY

The aim of the present study was to compare in biologic and reproductive terms two protocols of estrus synchronization and timed artificial insemination (TAI) cervical method with fresh semen: 1) Synchrovine® (two doses of prostaglandin seven days apart, Cloprostenol 125 µg) and TAI 42, 48 and 54 hours following the second dose (n=373), and 2) Control (progestagens and eCG, sponges of MAP 60 mg during 13 days plus eCG 300 IU at their retire) and TAI 54 hours later (n=105). Multiparous Australian Merino ewes were used during the breeding season. Re-insemination was done with fresh semen detecting natural estrus during the days 14 to 23 after TAI. Fertility, prolificacy and fecundity results were measured by ultrasound 60 days after TAI. Important precipitations occurred during the experimental working period. A later but more concentrated estrus presentation was observed in Control group in relation to Synchrovine® group during the re-insemination. The absolute reproductive losses between no return to estrus in 23 days and ultrasound fertility were lower for Control group than for Synchrovine® ($P < 0.05$). Fertility, prolificacy and fecundity between Synchrovine® groups with TAI 42, 48 or 54 hours after the second prostaglandin dose did not differ ($P > 0.05$). Control's group fertility and fecundity was higher than Synchrovine® groups with TAI at 42, 48 or 54 hours ($P < 0.05$). Comparing TAI plus re-insemination between 48 hours TAI Synchrovine® group and Control group, no fertility, prolificacy and final fecundity differences were observed ($P < 0.05$). The economic results for both protocols at TAI service prove to be very sensible to the seminal dose price. When the value of the semen dose reaches the 3 U\$S, the expenses per foetus will equalize for both protocols, being favourable to Synchrovine® protocol when the semen price is lower. However, and because of the biologic results obtained, in situations where a high genetic investment is made at TAI service or TAI plus re-insemination (for example: semen price), the alternative that best optimises this investment is still until now the Control protocol with progestagens and eCG.

3. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DE ESTUDIO

En la última década el stock ovino nacional experimentó un marcado descenso determinado principalmente por una pronunciada y mantenida baja en los precios de la lana a nivel internacional (Salgado, 2004). Sin embargo revertida ésta situación de mercado, los productores hoy en día apuestan a estabilizar y aumentar el stock ovino pasando de 9.7 millones de cabezas en el 2004 a 11 millones en el 2006 (MGAP-DIEA, 2007). En este proceso de recuperación de stock, se destaca una marcada diferencia de precios entre diámetros de lana, donde los micronajes finos y súper finos alcanzan valores muy importantes (SUL, 2008). Esto ha llevado a que productores apuesten a "afinar" sus lanas así como a mejorar sus índices reproductivos que favorezcan procesos de selección en ese sentido. Como consecuencia de este aumento de existencias y mejora de los procreos la producción de lana creció un 26% en las últimas dos zafas (SUL, 2006), mientras que la faena de ovinos lo hizo en un 52% del 2003 al 2005 (DICOSE, 2006).

Si bien la contribución promedio del rubro ovino a nivel de país es proporcionalmente baja, representando el 6% del total de las exportaciones (MGAP-DIEA, 2008), existen predios en los que este rubro tiene una importancia relativa elevada en los ingresos. Es en éstos establecimientos, ubicados fundamentalmente en suelos de Basalto y Cristalino superficial, donde se ha promovido la producción de las "lanas finas y extra finas" por medio de un programa de mejora genética, iniciado en el año 1998 por la Sociedad de Criadores de Merino Australiano del Uruguay entre otras instituciones (Proyecto SCMAU-SUL-INIA; Montossi *et al.*, 1998). Como uno de los requisitos para pertenecer a este proyecto los productores están obligados a realizar inseminación artificial (IA), utilizando padres superiores certificados en al menos un 80% de los vientres seleccionados (Gratarola, 2004). Este proyecto es por tanto un gran difusor de la IA entre los productores, alcanzando gracias a esta técnica un importante impacto económico diferencial (debido al ingreso por lanas finas de carneros superiores), en comparación con productores que dispongan de estos carneros pero solo realicen monta natural (Soares de Lima *et al.*, 2006).

Sin embargo, a pesar del demostrado impacto tecnológico y económico dable de alcanzar con la IA en ovinos, esta técnica no se ha expandido aun en gran forma en nuestro país. No se encuentran registros exactos en cuanto al total de ovejas inseminadas, ni del número de ovejas inseminadas que conciben de este tipo de servicio en el país. De todas formas se estima que solo entre un 2 y 3% de las ovejas adultas son inseminadas artificialmente (Fernández Abella, 2006). Existen varias razones que explicarían esta baja masificación de la técnica. La más aludida razón es la dificultad de canulación del cervix ovino, que determina deposiciones de la dosis en el extremo vaginal del mismo y que conlleva a dosis inseminantes mayores. Por otro lado, el semen ovino presenta características que lo hacen sensible al proceso de congelación, haciendo que la fertilidad se vea perjudicada cuando se utiliza semen congelado por vía cervical, en comparación con el semen fresco (Gil y Olivera, 2005). La complejidad anatómica del cervix de la oveja actúa como una verdadera barrera dificultando hasta el momento su canulación. Una forma de franquear con éxito esta barrera sería implementar la IA intrauterina, que es una técnica más compleja y costosa que requiere de técnicos especializados. Es por esta razón, que la aplicación de la IA en nuestro país se ha limitado a

establecimientos en los que el reproductor "superior" se encuentra disponible en el lugar y su semen se emplea en estado fresco, generalmente sin diluir y por vía cervical (Azzarini, 1992). Por otra parte, debido principalmente a la naturaleza extensiva, al manejo numéricamente masivo y a la escasez de mano de obra en el rubro, la correcta detección de los celos es otra limitante a la implementación exitosa de la técnica de IA (Gil y Olivera, 2005).

El actual desarrollo regional de nuevas alternativas de especialización productiva del rubro ovino: lana fina y súper fina, producción intensiva de carne y leche, así como comercialización de genética en pequeños rumiantes, implican manejos más intensivos incrementando la demanda de las técnicas de reproducción asistida, dentro de las cuales se destaca la IA con sincronización de celos. Esta última facilita en sí misma la utilización de la IA al concentrar el trabajo en unos pocos días. La posibilidad de concentrar los servicios permitiría a su vez la utilización masiva de carneros de alto valor genético en varios establecimientos en una temporada de servicios. La planificación de los servicios posibilitaría por otra parte, una utilización eficiente de los recursos disponibles en un predio: alimentación racional pre-servicio y pre-parto de las ovejas, parición concentrada y controlada, etc., pilares básicos en la mejora de la tasa de señalada. Por último, y de difícil cuantificación es saber, cual es la mejora alcanzada en términos de fecundidad, sanidad y ahorro de mano de obra en una majada que es sometida a un significativo menor tiempo de manejo en los Bretes (Olivera y Gil, 2005).

Si bien la mayoría de las técnicas de reproducción asistida logran inducir el celo en un alto porcentaje de los animales tratados, el grado de sincronización y/o la fertilidad de las mismas podrían ser mejorados aún. Sumado a esto, y por las razones ya mencionadas, en los últimos años se ha incrementado el interés por realizar la IA sin necesidad de detectar celo, es decir la IA a tiempo fijo (IATF). En este sentido la manifestación estral ha pasado a un plano secundario y el objetivo se ha centrado en la sincronización de la ovulación (Menchaca y Rubianes, 2007).

Los tratamientos tradicionales de sincronización se basan en la generación de una fase luteal artificial utilizando dispositivos intravaginales de progestinas (Gordon, 1983), ó en la destrucción del cuerpo lúteo (CL), inyectando agentes luteolíticos como la Prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) (McCracken *et al.*, 1970). A pesar de su gran masificación, hoy en día el uso de dispositivos con progestinas presenta restricciones en la producción animal de Estados Unidos y Unión Europea, donde su uso está cuestionado por ser potenciales contaminantes ambientales (Menchaca y Rubianes, 2004; Gil y Olivera, 2005). Por otra parte, en situaciones donde se dificulta la aplicación de los tratamientos con progesterona y gonadotropina coriónica equina (eCG) por formación de anticuerpos anti eCG, debido al uso reiterado de esta hormona (Roy *et al.*, 1999; Maurel *et al.*, 2003) y su consecuente depresión en la fertilidad (Baril *et al.*, 1996; Drion *et al.*, 2002), el desarrollo de tratamientos de sincronización en base a PGF_{2α} podría ser de amplia adopción al no generar inmunidad, ser mas económicos y no ser contaminantes. Mejoraría la ecuación de costos si se inseminara el celo siguiente al inducido aprovechando la alta concentración de retornos y la mejor fertilidad del celo natural.

Enmarcado en un panorama favorable para la producción ovina en zonas muy específicas del país, y teniendo presente las crecientes dificultades de personal y

tiempo disponible del mismo en los predios, es que determinadas biotecnologías (sincronización de celos, IATF) podrían tener su aplicación en los sistemas productivos. Esto motiva una mayor investigación y posterior conocimiento de éstas técnicas con el objetivo de maximizar sus beneficios. No se reportan ensayos hasta el momento que comparen, en condiciones controladas (mismo semen, majada, inseminador y día) los protocolos de sincronización e IATF con Progestágenos-eCG y PGF2 mencionados.]

En este contexto se definen los **objetivos generales y específicos** del trabajo.

El objetivo **general** de este ensayo fue la comparación en términos biológicos y económicos en ovejas de raza Merino Australiano de dos protocolos de sincronización de celos e IATF con semen fresco vía cervical: un protocolo nuevo en base a PGF2 α (Synchrovine®) y un protocolo tradicional en base a Progestágenos-eCG (Control).

Los objetivos **específicos** del trabajo fueron:

- A. Estudiar la eficiencia en la sincronización de celos alcanzada con los protocolos Synchrovine® y Control.
- B. Cuantificar pérdidas reproductivas entre el no retorno a servicio y ecografía a los 60 días, en los grupos de sincronización e IATF comparados (protocolos Synchrovine® y Control).
- C. Comparar en términos de fecundidad final 3 momentos de IATF vía cervical con semen fresco (42, 48 ó 54 horas), en ovejas multíparas Merino Australiano con celo inducido con el protocolo de PGF2 α (Synchrovine®).
- D. Realizar un estudio comparativo en *términos reproductivos* entre el protocolo de IATF Synchrovine® y el protocolo Control. Evaluar el resultado reproductivo final del servicio IATF + servicio repaso para ambos protocolos.
- E. Realizar un estudio comparativo en *términos económicos* entre el mejor de los tres momentos de IATF en el protocolo Synchrovine® y el protocolo Control, teniendo en cuenta los resultados de fecundidad obtenidos en el ensayo para el 1^{er} y 1^{er}+ 2^{do} servicio juntos.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. RECORDATORIO FISIOLÓGICO: CICLO ESTRAL

El ciclo estral es un conjunto de eventos que se repiten sucesivamente. En la oveja tiene una duración de 17 ± 2 días y se divide en una fase luteal y una folicular (Rubianes *et al.*, 1999). La fase luteal se extiende desde el día 2-3 (celo= día 0) del ciclo, hasta el día 13 aproximadamente. La fase folicular comprende desde la luteólisis (regresión del CL), que se produce el día 13-14 hasta el día 2 (Ungerfeld, 2002).

Debido a que el ciclo resulta de la coordinación de 4 órganos (cerebro, hipófisis, ovarios y útero), la comunicación se realiza principalmente por hormonas, aunque no exclusivamente. Las principales involucradas son: la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la hormona luteinizante (LH), la hormona folículo estimulante (FSH), el estradiol, la inhibina y la progesterona. Otras de duración relativamente breve son la prolactina y los andrógenos (Ungerfeld, 2002a).

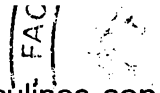
4.1.1. Fase Folicular

Esta fase comprende el desarrollo folicular final, la ovulación e inicio de la transición de la estructura folicular remanente hacia un CL. La ovulación es espontánea y se desencadena tras el pico de LH, consecuencia de mecanismos endocrinos endógenos. El pico de LH tiene lugar luego de reiterados incrementos respecto a su nivel basal. El proceso ovulatorio se desencadena a partir del mismo, produciendo el estallido del folículo preovulatorio y por ende, se libera el ovocito. En la oveja esto tiene lugar 24 a 30 horas luego de iniciado el celo. Ante la caída de la concentración de progesterona, por cada pulso de GnRH, la hipófisis dará lugar a un pulso de LH. Este último estimulará a nivel del folículo la producción de estrógenos, produciéndose un feed-back positivo LH-estrógenos, a la vez que el estradiol estimula al hipotálamo para la liberación de GnRH. Los niveles de estrógenos caerán cuando el pico de LH finalmente provoque la luteinización, siendo que es el propio folículo quien desencadena los mecanismos que lo llevan a la misma. Previamente al pico de LH, se incrementa la concentración de FSH únicamente como consecuencia de la estimulación de los estrógenos sobre el hipotálamo (Ungerfeld., 2002a).

4.1.2. Fase Luteal

Se consolida la formación del CL o cuerpo amarillo, en la cual sus células de la granulosa se hipertrofian y se produce luteína que es la responsable de su color amarillo anaranjado. Conforme se desarrolla el CL aumentan los niveles de progesterona producidos por sus células pequeñas, sensibles a la acción de LH, y por sus células grandes independientes de la acción de dicha hormona (Ungerfeld, 2002a).

4.2. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL



La IA es un método de reproducción en el que los gametos masculinos son transportados al tracto genital femenino a través de medios mecánicos, que sustituyen los órganos especializados del macho (Duran del Campo, 1980b).

La IA en la oveja presenta como dificultad el atravesar el cervix con la cánula de inseminación y alcanzar la luz uterina por vía transcervical como se realiza en la vaca. Esto se debe al menor tamaño corporal y a las particularidades anatómicas del tracto reproductivo en esta especie. El cervix de la oveja presenta 4-7 anillos y varios pliegues que obstaculizan el pasaje, actuando como barrera entre la vagina y el útero. La permeabilidad del cervix a la canulación motivó una serie de estudios encontrándose un proporción de ovejas con facilidad a la canulación sin traumas, y que este carácter era repetible entre años (y pariciones) además de ser heredable (Alberio, 1994, citado por Gil, 2003). Tras los sucesivos partos la apertura del cervix se haya rodeada de varias papilas en forma de "flecós". En algunas ovejas es indefinible la ubicación de la abertura que tras la disección se observa en una especie de hendidura en el piso vaginal (Cavestany *et al.*, 1987).

Cuando se trata de borregas surge otra limitante que es la amplitud reducida a nivel del vestíbulo vaginal, ello dificulta la introducción del vaginoscopio y supone un mayor estrés (Gil, 2003).

4.2.1. Métodos de IA:

En cuanto a las técnicas de IA en ovinos es importante recalcar que todavía se siguen estudiando y analizando resultados, con el propósito de lograr mayores beneficios biológicos y económicos. Los métodos difieren en cuanto a su complejidad y expectativas de éxito.

4.2.1.1. Inseminación cervical

Es la técnica más difundida, sencilla en su aplicación y muy económica si se consideran sus resultados (Gil, 2003). Los resultados obtenidos reflejados en el porcentaje de preñez dependen del tipo de preservación seminal. El equipo necesario es simple, y si se dispone de personal suficiente, el número de animales que se insemina en poco tiempo es muy grande. Cuando se realiza con semen fresco da por resultado una alta fertilidad, comparable a la que se obtiene con monta natural (Evans y Maxwell, 1990). Este es el método generalmente recomendado de IA cuando se utiliza semen fresco diluido o sin diluir.

Mediante esta técnica el semen es depositado próximo a la entrada del cervix con el uso de un vaginoscopio y la pistola de inseminación. El sitio de deposición tiene importancia por que existe una alta correlación entre la profundidad del cervix donde es depositado el semen y el índice de concepción obtenido, logrando los mejores resultados cuando se logra atravesar el cervix y dejar el semen en la luz del útero. Por lo tanto aumentando la profundidad de la inseminación aumentamos la fertilidad en la oveja (Salamon y Lightfoot, 1970). Esto cuando se trata de semen preservado es una realidad, para semen fresco no existen grandes diferencias entre la deposición intracervical y la vaginal a ciegas (shoot in the "dark").

El porcentaje de preñez obtenido con esta técnica utilizando semen congelado va desde 10% (Azzarini y Valledor, 1988), 17.8% (Gamarra *et al.*, 2006), 20% (Gil *et al.*, 2002), 30% (Gil *et al.*, 2003) o hasta 60% (Andersen Berg, 1999, citado por Gil 2003; Söderquist *et al.*, 1999). Utilizando semen fresco los resultados pueden ser satisfactorios alcanzando una fertilidad entorno al 70% (Durán del Campo *et al.*, 1993; Fierro *et al.*, 2005). Los resultados con semen preservado líquido por mas de 24 horas varían entre 20 y 60% (Fierro *et al.*, 2005).

4.2.1.2. Inseminación vaginal profunda

Otra técnica similar a la anterior es la inseminación vaginal profunda o a ciegas, más sencilla todavía que la anterior pero la mayoría de los trabajos describen menores resultados que la IA cervical (Durán del Campo *et al.*, 1993). Consiste en la deposición de la dosis del semen cranealmente en la vagina, sin intentar ubicar el cervix. La mayor ventaja es que es la técnica más sencilla de todas, rápida de realizar y requiere menos instrumentos que la cervical. Algunas veces es la técnica de elección al no ser posible el pasaje del vaginoscopio para la localización del cervix, aumentando la dosis dos o tres veces para incrementar la probabilidad de fecundación (Fernández Abella y Villegas, 1995).

4.2.1.3. Inseminación Intrauterina

Por último está la IA intrauterina, más compleja y costosa que las anteriores, puede realizarse por vía quirúrgica (laparotomía), la cual es lenta y requiere conocimientos de cirugía; por laparoscopia, es una intervención menor y se logran resultados similares a la IA cervical con semen fresco; o por vía transcervical que requiere de entrenamiento especial. La IA intrauterina permite el abordaje del útero y la deposición del semen directamente en la luz de los cuernos. Así se evita el pasaje de los espermatozoides por el cervix adquiriendo mayor importancia cuando se utiliza semen congelado, también permite reducir el número de espermatozoides por dosis (Ungerfeld, 2003).

4.3. SINCRONIZACIÓN E INDUCCIÓN DE CELOS EN OVINOS

El término inducción de celo hace referencia al desencadenamiento de una fase folicular que asociado a la manifestación estral, finaliza con la ovulación. Por otra parte la sincronización de celo hace mención a la simultaneidad de dichos eventos inducidos en un grupo de animales tratados (Rubianes *et al.*, 1999). Algunos de los métodos que se emplean logran inducir el celo en gran porcentaje pero el grado de sincronización y/o fertilización no es bueno. Otros tienen el inconveniente de ser costosos o difícil en su aplicación (Menchaca *et al.*, 2003a).

Una técnica de sincronización de celos efectiva debe inducir una respuesta estral fértil y altamente sincronizada en un número importante de animales tratados. Para poder evaluar los resultados de un programa de sincronización se toman en cuenta varios parámetros tales como: respuesta estral (% de hembras en celo/hembras tratadas), tasa de concepción (% de hembras preñadas/hembras inseminadas o servidas) y tasa de preñez (% de hembras preñadas/hembras tratadas). Cuando

estos programas incluyen inseminación a tiempo fijo (IATF) se tiene en cuenta también la distribución de los celos.

4.3.1. Métodos de inducción de celo y ovulación

Al existir en la especie ovina un periodo de reposo sexual (anestro) y variable según las razas e individuos, por diferentes métodos se logra provocar la ovulación fuera de la estación de cría o reproductiva. La inducción puede ser realizada por métodos hormonales o de bioestimulación. Algunas de las hormonas gonadotrópicas utilizadas son la eCG, gonadotropina coriónica humana (hCG), FSH, LH y GnRH. Otra hormona empleada para la inducción es la melatonina (Fernandez Abella, 1995).

Por último dentro de los bioestimuladores se destaca el efecto macho el cual consiste en la introducción de carneros a una majada de ovejas en anestro que estuvieron separadas de los mismos previamente lo que lleva a que muchas de ellas ovulen, manifiesten el celo y puedan quedar preñadas a pesar de encontrarse fuera de estación reproductiva (Ungerfeld, 2003).

4.3.2. Métodos de sincronización de celo y ovulación:

4.3.2.1. Progesterona y/o Progestágenos

La progesterona es un esteroide gonadal por lo que es una molécula derivada del colesterol, un lípido derivado del acetato producido en muchos tejidos del organismo (Ungerfeld, 2002b).

Durante la fase luteal del ciclo estral, se describen 4 acciones de la progesterona. Por un lado, actúa sobre centros comportamentales del cerebro de manera tal que el posterior aumento de estrógenos correspondiente a la fase folicular, desencadenará el comportamiento de celo. Además, son responsables de que los folículos se desarrollen de forma adecuada para dar lugar a un cuerpo CL normal en el siguiente pico de LH. Otra acción consiste en la inhibición de la secreción de PGF2 α por parte del útero en los primeros días de la fase luteal. Por último se encargan de inhibir la secreción tónica de LH mediante la supresión de la frecuencia de pulsos de GnRH (Rubianes *et al.*, 1999).

Este método de sincronización estral se fundamenta en la colocación intravaginal de esponjas o siliconas conteniendo progesterona o alguna otra progestina durante varios días (12-14 días en tratamientos largos y 5-7 días en tratamientos cortos), inhibiendo así la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, con retiro en forma simultánea en todo el lote. Se logra así que deje de actuar el mecanismo inhibitor en todas las hembras a la vez, de esta forma se sincroniza el comienzo de la fase folicular que conduce al celo y ovulación (Rubianes *et al.*, 2003).

Cuando se colocan éstos dispositivos se induce un rápido incremento en la concentración plasmática de ésta hormona que se mantiene durante los primeros 3 o 4 días, siendo similar a los valores máximos observados durante la fase luteal media-tardía fisiológica. Luego comienza a descender y después de 6 días de

tratamiento la concentración es cercana a valores subluteales (~1 ng/ml), permaneciendo baja hasta el retiro del dispositivo a los 12-14 días. Similares variaciones farmacocinéticas se han observado usando medroxiprogesterona (Greyling *et al.*, 1994), o fluorogestona en ovejas (Gaston-Parry *et al.*, 1988). Por consiguiente, las concentraciones plasmáticas de progesterona inducidas por éstos tratamientos son opuestas a las observadas durante el ciclo estral donde se incrementan lentamente al inicio del ciclo, alcanzan valores máximos hacia el final de la fase luteal y luego muestran una caída rápida durante la luteólisis. Esta diferencia entre los niveles de progesterona inducidos por éstos tratamientos largos y los niveles fisiológicos durante la fase luteal podría tener implicancias sobre la fertilidad finalmente obtenida (Menchaca y Rubianes, 2007).

Existen varias marcas de esponjas en el mercado con diferencias en el progestágeno que poseen, siendo la MAP (medroxiprogesterona) y la FGA (acetato de fluorogestona), en dosis de 60 y 30 a 40 mg respectivamente los mas usados. La utilización de esponjas presenta ciertos inconvenientes de manejo como ser un cierto porcentaje de pérdidas de la mismas (normalmente no supera el 2-3%) y adherencias y/o vaginitis (Suárez *et al.*, 2001, citado por Menchaca *et al.*, 2003a). El uso de otros dispositivos que contienen Norgestomet o progesterona natural (CIDR) ha sido también difundido y ha mostrado respuestas aceptables (Freitas *et al.*, 1997; Ungerfeld y Rubianes, 2002; Romano, 2004; Motlomelo *et al.*, 2004).

En lo que refiere a los diferentes progestágenos, MAP y CIDR, no existen diferencias en cuanto al porcentaje de ovejas en celo y fertilidad cuando son aplicados en tratamientos largos de 12 días (Azzarini, 1995). Esta diferencia tampoco existe cuando se emplean (MAP, FGA o CIDR) en tratamientos cortos (Ungerfeld y Rubianes, 2002).

Las esponjas intravaginales impregnadas con MAP utilizadas en forma comercial en Uruguay contienen 60 mg si se emplean con menores cantidades (40 o 50 mg) los resultados obtenidos son similares en cuanto a la presentación y distribución de los celos (Simonetti *et al.*, 1999).

Al utilizar esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos (MAP) por 14 días, los celos ocurren entre las 24 y 88 horas después de la remoción de los pesarios, siendo en promedio a las 57 ± 14 horas (Simonetti *et al.*, 1999). Los tratamientos superiores a los 14 días tienen un efecto desfavorable sobre la fertilidad del celo inducido según algunos autores (Roberts, 1966; Cognié y Mauleón, 1983). Es por esto que un tratamiento con progestágenos debería tener una duración similar a la fase luteal, para permitir controlar el momento del celo y ovulación del total de los animales, ya que no se sabe en que momento del ciclo se encuentran (Fernández Abella, 1995; Corteel *et al.*, 1988; Gordon, 1983). Este tratamiento puede ser reducido hasta 10 días sin alterar los resultados (Cognié y Mauleón, 1983).

Existen tratamientos Cortos los cuales consisten en sólo 5-7 días de exposición a la progesterona teniendo como objetivo evitar concentraciones subluteales por períodos prolongados, y por el contrario asegurar niveles adecuados que permitan la ovulación de folículos jóvenes. El tiempo mínimo de exposición a la progesterona que permite obtener un porcentaje de ovejas en celo similar a los

tratamientos largos es de 6 días (Rubianes *et al.*, 1999). Para la realización de estos tratamientos cortos es necesario asegurar la regresión luteal mediante el uso de una dosis de PGF2 α al momento de colocar los dispositivos (Beck *et al.*, 1993).

En un ensayo con esponjas asociado a PGF2 α observaron que los tratamientos cortos son igual de efectivos que los tratamientos largos tradicionales, tanto en sincronización de celos como en fertilidad (Farfán *et al.*, 2004). Ibarra *et al.*, (1999), concluyeron que para el manejo reproductivo el tratamiento largo resulta ser el más eficiente en lo que refiere a porcentaje de celos acumulados, tasas de fertilidad y preñez. Los protocolos de corta duración se encuentran todavía en estudio siendo los tratamientos largos los internacionalmente validados, y por ende fueron los de elección para éste trabajo.

4.3.2.2. Progesterona y/o progestágenos y asociaciones

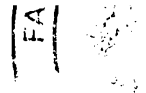
Tanto en anestro como en estación reproductiva los métodos de sincronización e inducción de celos que utilizan progesterona y/o progestágenos suelen asociarse con tratamientos gonadotróficos al momento de retirar los dispositivos intravaginales. La GnRH o la eCG son dos de las hormonas mayoritariamente empleadas. Estos protocolos logran una gran sincronización de las ovulaciones que permiten la inseminación sin detección de celo o IATF.

Cuando se incluye GnRH a protocolos con progesterona, ésta actúa aumentando la secreción de gonadotropinas de tal manera que aumenta la secreción de LH en mayor medida que la de la FSH. Por consiguiente se produce una rápida maduración de folículos, que desencadena ovulación y formación de CLs (luteinización).

En cuanto a la eCG, ésta se administra por vía intramuscular aunque también puede ser suministrada intravenoso o subcutáneo. La fertilidad obtenida es mayor cuando se la aplica durante las 24 horas posteriores al retiro del progestágeno (Moore y Holst, 1967). Por razones prácticas se la administra en el mismo momento del retiro de los pesarios. Si se inyecta de forma tardía la eCG, se retrasa el comienzo del celo, disminuyendo la fertilidad (Shelton y Moore, 1967; Colas, 1975; Boland *et al.*, 1978).

La eCG mejora la sincronización del celo y de la ovulación (Menchaca y Rubianes, 2004), lo cual repercute en la fertilidad obtenida cuando se realiza IATF (Allison y Robinson, 1970; Gordon, 1971; Colas *et al.*, 1973; Langford *et al.*, 1983). Cuando se utilizan dosis para inducir y sincronizar la ovulación, provocan una pequeña superovulación lo cual mejora la prolificidad y la fertilidad (Gordon, 1963; Newton y Betts, 1966; Evans y Robinson, 1980). A su vez también incrementa las contracciones uterinas mejorando el transporte espermático y disminuyendo la mortalidad embrionaria (Langford *et al.*, 1983; Prud'homme y Pele, 1984). Sin embargo, dosis elevadas de eCG pueden tener inconvenientes, al provocar hiperestimulación folicular que lleva a superovulaciones excesivas, especialmente en otoño en razas prolíficas, que pueden incrementar muertes embrionarias y neonatales (Cognié, 1990, citado por Fernández Abella 1995).

4.3.2.3. Progesterona y/o progestágenos asociado a IATF



Los protocolos de IATF tradicionales internacionalmente validados se basan en el uso de la progesterona o un análogo sintético asociado a la eCG. Esta hormona es suministrada hacia el final del tratamiento resultando en tasas de preñez altas, pero variables. De esta manera se adelanta el inicio del celo pasando de 60,7 ±11,8 (Azzarini, 1995) a 40 horas en promedio cuando se asocia la eCG (Faure *et al.*, 1983). Sabiendo que la ovulación se da generalmente 24 horas después del pico de LH (Cumming *et al.*, 1973), y que el inicio del celo está asociado al mismo (Quirke *et al.*, 1981; Ainsworth *et al.*, 1992), la ovulación ocurriría alrededor de las 60 horas de retiradas las esponjas (Maxwell, 1986). Por ello la IATF se realiza a las 55 ±1 horas después de retirada la esponja en ovejas adultas, y 52 ±1 horas en borregas (Colas, 1983). Olivera *et al.* (2006b), obtuvieron porcentajes de fecundidad de 64 y 81% para borregas y ovejas respectivamente, con IATF cervical usando semen fresco a las 51±2 horas promedio de retiradas las esponjas (FGA 30 mg) e inyección de 300 UI de eCG.

4.3.2.4. Prostaglandinas

Las prostaglandinas constituyen un grupo de ácidos grasos esenciales poliinsaturados de 20 carbonos, con pesos moleculares de 300 a 400. Hay quienes no las consideran hormonas en un sentido estricto, utilizando los términos de "parahormona" u "hormona local" para describirlas más adecuadamente. Esto es debido a que las prostaglandinas no son secretadas por ninguna glándula en particular y tiene una vida media muy corta que solo le permite tener acciones locales. Los precursores de las prostaglandinas son los ácidos grasos poliinsaturados. El ácido araquidónico (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico), es el precursor de las prostaglandinas que intervienen en los procesos reproductivos. El precursor del mismo es un componente de las membranas en la forma esterificada de los fosfolípidos. Cuando comienza la síntesis de prostaglandinas el precursor es liberado por la acción de la fosfolipasa. Prácticamente todos los tipos celulares del organismo tienen la capacidad de convertir ácidos grasos en prostaglandinas como respuesta a muchos estímulos diferentes conocidos como activadores de fosfolipasas, por ejemplo endocrinos, nerviosos, mecánicos y químicos. Las prostaglandinas son clasificadas en cuatro grupos básicos, A, B, E y F, que difieren en los sustituyentes del anillo de ciclopentano y en los dobles enlaces de la molécula. Son fuertes estimulantes del músculo liso. En general, las prostaglandinas E relajan y las F contraen el músculo liso (Ungerfeld, 2002b).

Desde el punto de vista reproductivo las prostaglandinas de mayor importancia son las PGF_{2α} y la prostaglandina E₂. La PGF_{2α} es liberada por el útero y juega un rol importante en regular la vida media del CL en las especies domesticas. La regresión del CL es el evento clave responsable de la ciclicidad ovárica en la oveja. La remoción del útero en la oveja así como en la vaca, cerda y yegua, durante la fase luteal resulta en la prolongación de la fase luteal. El útero sintetiza PGF_{2α} que induce la regresión del CL. En la oveja la liberación de PGF_{2α} es producida en pulsos y la misma inhibe la secreción de progesterona por parte del CL evitando la producción de AMP cíclico estimulada por la LH. También tiene un rol importante en el parto causando luteólisis (caída de la progesterona) en la oveja,

incrementando la contractilidad miométrial que inicia la salida del feto (Ungerfeld, 2002b).

La potente actividad de la PGF2 α como factor luteolítico llevó a la producción de análogos de la misma. Estos son más económicos que la PGF2 α natural y se logra el efecto luteolítico con dosis menores (Menchaca y Rubianes, 2007). La PGF2 α se utiliza por vía intramuscular, pero también se la ha utilizado intradermovulvar con dosis mas bajas y con resultados variables (Menchaca *et al.*, 2003).

4.3.2.5 Sensibilidad del CL y dispersión del celo utilizando prostaglandina

Cuando se administra PGF2 α a todos los animales de una majada el porcentaje de ovejas que responde con celo dentro de los siguientes 3-4 días será del 60-70% (Menchaca *et al.*, 2003a). La eficacia parece depender del estado funcional del CL entre otros *factores*. Algunos autores citan que durante los primeros días del ciclo la PGF2 α es inefectiva ya que el CL esta en proceso de formación y no es receptivo a la misma. Acritopoulou y Haresign (1980), afirman que solo es efectiva entre los días 5 y 14 del ciclo estral. En otra publicación posterior, Wiltbank y Niswender (1992) coinciden con este concepto como extrapolación de los estudios realizados en bovinos. Sin embargo Rubianes *et al.* (2003), lograron inducir la luteólisis a los 2,5-3 días posteriores a la ovulación (~3.5 a 4 días postcelo; Día 0: día del celo). Este trabajo demuestra que la PGF2 α es lúteolítica en la fase luteal temprana (Día 3) en la oveja.

El intervalo entre la administración de PGF2 α y la observación del celo inducido es bastante variable, lo que se relaciona con el día del ciclo en que el animal es inyectado (Houghton *et al.*, 1995). Cuanto mas desarrollado este el CL mas demorara la luteólisis y por lo tanto la aparición del celo. Ni la duración del celo ni la tasa ovulatoria se ven modificadas por el día de administración de la PGF2 α . Esto indica que la dispersión observada en la presentación de los celos cuando se trabaja con una majada sincronizada con PGF2 α es debida en parte a que las hembras se encuentran en distintos momentos del ciclo. En otro estudio se evaluó la relación entre el tiempo que demora la luteólisis y el desarrollo folicular y luteal subsiguiente (Wiley *et al.*, 1997). Cuando la luteólisis es muy rápida, se acorta el intervalo entre la administración de PGF2 α y el inicio del celo, fundamentalmente a expensas del tiempo que demoran en caer los niveles de progesterona circulantes a valores de 0.2 ng/mL.

Por otra parte, estudios mediante ultrasonografía transrectal vinculados a dinámica folicular han evaluado el origen del folículo preovulatorio luego de administrar una dosis de PGF2 α el día 5 o 9 luego de la ovulación (Viñoles y Rubianes, 1998). Este trabajo determinó que en todos los animales inyectados el día 9, el folículo preovulatorio se originó en la segunda onda folicular. En cambio, cuando la PGF2 α se administró al día 5, se observaron dos tipos de respuestas: a) si el folículo dominante estaba aun en su fase de crecimiento o estática al momento del tratamiento, continuó su desarrollo y ovuló; b) si ya había iniciado su fase de regresión, entonces se desarrolló un nuevo folículo de la siguiente onda folicular y finalmente ovuló. Rubianes *et al.* (2003), confirman esto y observan que para esta segunda situación la ovulación se vio atrasada (ocurrió a las 72 horas luego de la

inyección de PGF2 α), debido a que fue necesario la emergencia de una nueva onda y que el folículo haya logrado el tamaño adecuado para culminar con la ovulación. En contraste, observó que si el folículo de mayor tamaño se encuentra en fase de crecimiento la ovulación se daba a las 60,8 \pm 1,8 horas en promedio de la inyección de PGF2 α .

4.3.2.6. Tratamientos con PGF2 α

Tradicionalmente la sincronización con PGF2 α en la oveja se utilizó en forma de una única dosis o en dos dosis separadas 9-14 días (Gordon 1983; Evans y Maxwell 1990; Durán Hontou, 1993). Cuando aplicamos una sola dosis de PGF2 α sin conocer el momento del ciclo de la majada, una alta proporción de la misma ovulará entre los dos y cuatro días luego del tratamiento. Esto permitiría inseminar detectando celo durante esos días, reduciendo los días de inseminación comparado con un programa tradicional de detección de celo durante 19 días. Sin embargo, este tratamiento no permite una respuesta mayor al 60-70% de ovejas en celo durante los 4-5 días siguientes a la administración de la PGF2 α . Este método tiene como desventaja agregada que el celo inducido es de muy baja fertilidad, siendo la retención de ovejas inseminadas del orden de 25-30%.

Una alternativa para incrementar la proporción de ovejas inseminadas es comenzar a detectar celo e IA sin tratamiento alguno por 5-6 días, entonces administrar una dosis de PGF2 α a las ovejas que no han demostrado celo y continuar inseminando por otros 5 días (protocolo similar al de bovinos). Comparado con un esquema de detección de celo e IA por 19 días (sin sincronización), este programa reduce a 10 días el periodo necesario para que toda la majada tenga un servicio por inseminación. Otra opción en el uso de una única dosis de PGF2 α es administrar la hormona a toda la majada y comenzar la detección de celo e IA en el ciclo siguiente luego de la sincronización (celo espontáneo posterior al inducido, pre-sincronización). Esta opción se considera promisoría ya que el celo sincronizado con PGF2 α es de menor fertilidad que un celo espontáneo o natural (Durán del Campo y Cash Stirling, 1982). La dispersión de los celos alcanza los 8 días de IA (Olivera *et al.*, 2003).

Para mejorar la sincronización obtenida con el uso del protocolo de una única dosis de PGF2 α anteriormente descrito, se puede utilizar dos dosis de PGF2 α separadas por 10-14 días y luego detección de celo e IA durante 4-5 días. Cuando se administra la primera dosis a todos los animales, aquellos que poseen CL sensible responderán con una ovulación en 4-5 días y formación de un nuevo CL. Cuando se administra la segunda dosis, tanto los animales que respondieron a la primera como aquellos que no lo hicieron tendrán un CL sensible. En este caso más del 90% de los animales tendrán respuesta estral, siendo necesario detectar celo e inseminar por 5 días.

El uso de la PGF2 α o sus análogos sintéticos no ha sido recomendada para programas de IATF (Gordon, 1983; Evans y Maxwell, 1990; Durán Hontou, 1993), dada la gran variabilidad en el momento del celo y ovulación que se ha observado (Acritopoulou *et al.*, 1978). Sin embargo, si se lograra que una alta proporción de la majada se encuentre con un folículo en su fase de crecimiento, la ovulación podría ocurrir de manera más sincronizada en todas esas ovejas. La primera onda folicular

en la oveja emerge muy próxima a la ovulación (Día 1, siendo el Día 0= día del celo). En este momento se inicia la Onda 1 y el folículo dominante continúa su desarrollo por unos 5 días desde la ovulación. Con el objetivo de lograr un alto porcentaje de ovejas con un folículo dominante en su fase de crecimiento es que se ha propuesto un nuevo protocolo llamado Synchrovine® (Rubianes *et al.*, 2004).

4.3.2.7. Prostaglandina asociado a IATF: protocolo Synchrovine®

Este protocolo consiste en dos dosis elevadas de PGF2 α separadas 7 días. De ésta manera cuando se administra la segunda dosis de PGF2 α se ha observado que se obtiene una alta sincronización de los celos y de las ovulaciones. La baja variabilidad observada en la respuesta estral habilitaría a desarrollar protocolos de IATF.

Los diferentes análogos de PGF2 α han sido comparados con el objetivo de determinar si se obtienen diferencias en los resultados de sincronización de celos, respuesta estral y porcentaje de preñez cuando son utilizados en el protocolo Synchrovine®. Bonifacino y Aragunde (1981) observaron que la dosis mínima luteolítica es de 35 μ g de Delprostenate trabajando con ovejas Corriedale de 45 kg. Cuando se compararon los análogos Delprostenate (160 μ g dosis, Glandinex®, Universal Lab) vs. DL Cloprostenol (125 μ g dosis, SINCRON-DL®, Laboratorio Uruguay) no se observaron diferencias significativas en lo que respecta a sincronización de celos, respuesta estral y tasa de preñez. Así mismo utilizando DL Cloprostenol (125 μ g, SINCRON-DL®, Laboratorio Uruguay) vs. D Cloprostenol (75 μ g, Ciclase®, Laboratorio Syntex SA) no se observaron diferencias significativas en lo referente a tasa de preñez (Olivera *et al.*, 2006b). Olivera *et al.* (2004), han observado diferencias significativas al utilizar el análogo Delprostenate a dosis de 160 y 80 μ g en lo que refiere a la tasa de preñez aplicando el protocolo Synchrovine® (40.63% y 23.8% respectivamente, $P < 0.05$). Esto lleva a pensar que la dosis recomendada para la aplicación de éste nuevo protocolo sobre CLs jóvenes debe ser mas elevada que lo aceptado por la bibliografía (Bonifacino y Aragunde, 1981).

Si partiéramos del concepto tradicional que suponía que la PGF2 α era ineficaz durante los primeros 5 días de vida del CL, este protocolo no seria viable ya que las ovejas estarían al momento de la segunda inyección en el día 3 a 5 pos ovulatorio (CL de 3 a 5 días). Sin embargo, la demostración de que la PGF2 α induce luteólisis tan temprano como al día 3 pos ovulatorio, nos asegura que la segunda dosis administrada entre los 6 y 8 días de la primera induce luteólisis en todas las ovejas. De esta manera cuando se administra la segunda dosis de PGF2 α , el folículo dominante de la Onda 1 esta aún en crecimiento y se produciría rápidamente la ovulación del mismo. Por lo tanto, al tratar un lote de ovejas que presentan folículos entre 3-5 días de edad, la ovulación ocurriría entre las 48 y 72 horas de la segunda dosis aproximadamente (Rubianes *et al.*, 2004). Se ha observado que más del 80% de las ovejas entra en celo entre las 25 y 48 horas de la PGF2 α , ovulando en promedio a las 60 horas lo que permitiría alcanzar, en forma teórica, una aceptable tasa de preñez realizando una IATF.

En cuanto a los días entre la primera y segunda dosis de PGF2 α , Olivera *et al.*, (2007c) han demostrado que en ovejas Merino Australiano el protocolo

Synchrovine® se comporta mejor con 7 días de intervalo entre dosis que 8 días. Los menores valores de fecundidad obtenidos en ese trabajo para 8 días de intervalo, es probable que se deban a una respuesta ovulatoria más dispersa, quizás por que existan ya en esa etapa de la fase luteal ovejas ovulando folículos generados en la primer y segunda onda folicular (Rubianes *et al.*, 2003; citado por Olivera *et al.*, 2007c).

En los últimos cinco años una serie importante de experimentos han sido realizados para desarrollar y evaluar éste protocolo que todavía se encuentra en proceso de validación (Olivera *et al.*, 2006a). Algunos trabajos demuestran que la manifestación estral fue altamente sincronizada con un 93% de las ovejas en celo durante las 72 horas siguientes a la segunda dosis de PGF2 α (Menchaca *et al.*, 2004). El 80% de éstos celos se inició entre las 25 y 48 horas lo que muestra una elevada respuesta a dicho protocolo. En este mismo ensayo comparando diferentes momentos de IATF (42, 48 y 54 horas) se obtuvo una mejor tasa de concepción (38%) a las 42 horas. En trabajos posteriores se alcanzaron resultados de tasa de concepción usando Synchrovine® con IATF a las 42 horas de 49.5% (Rubianes *et al.*, 2004). Estos resultados fueron similares a los obtenidos con sincronización e IA a celo visto utilizando este protocolo, e incluso fueron cercanos a la concepción del celo natural (Forichi *et al.*, 2004). Sin embargo, esta información fue obtenida en ovejas con gran variedad de biotipos raciales (cruzas Corriedale x razas carniceras: Texel, Ile de France y Milchschaf). Un reciente ensayo realizado sobre ovejas Merino Australiano parece ubicar el mejor momento de IATF cercano a las 48 horas (Olivera *et al.*, 2007c). Por tanto, se desprende que aun no se conoce con certeza cual sería el momento que optimiza la IATF de este protocolo y que quizás dependa, entre otras cosas, del biotipo racial usado.

4.3.2.8. Baja fertilidad de los celos sincronizados con PGF2 α

Cuando se sincronizan los celos mediante el uso de PGF2 α la fertilidad de los mismos ha sido consistentemente menor en relación al celo natural o espontáneo (Durán del Campo y Cash Stirling, 1982). Esto ha sido atribuido por algunos autores a un transporte espermático afectado dentro del tracto femenino (Hawk y Conley, 1983). La PGF2 α aumentaría la motilidad del tracto reproductivo y esto podría impedir a los espermatozoides transitar desde el útero hacia el oviducto. Viñoles *et al.*, (2007) expresa que al aplicar tratamientos de sincronización con PGF2 α la baja fertilidad obtenida se podría deber también a modificaciones en las características del mucus vaginal, que alteran el transporte espermático hacia el sitio de fertilización. Otros factores como los eventos hormonales alrededor de la ovulación y su sincronización podrían jugar además un papel importante (Viñoles *et al.*, 2007).

4.4. PÉRDIDAS REPRODUCTIVAS ENTRE EL NO RETORNO A SERVICIO Y LA ECOGRAFÍA.

La fertilidad final (ovejas gestantes/ovejas servidas) obtenida al momento del diagnóstico ecográfico en una majada servida por servicio natural o IA, es el resultado de diferentes eventos: ovejas en que hubo fertilización, reconocimiento materno de él o los embriones e implantación exitosa de los mismos (no retorno al servicio y presencia de los embriones al diagnóstico ecográfico), u ovejas que retornan al servicio entre los días 14 y 21 posterior al mismo: no fertilización o

fertilización sin reconocimiento materno de los embriones (mortalidad embrionaria precoz). Y por último, aquellas ovejas en las que cuando hay fertilización y reconocimiento materno de los embriones, pero ocurren pérdidas embrionarias posteriores al mismo (mortalidad embrionaria tardía). En este caso las ovejas no retornan al servicio o lo hacen luego del día 21 pos-servicio (extensión del ciclo estral), y al diagnóstico por ecografía evidencian ausencia embrionaria o fetal (Duran del Campo, 1980a, Olivera *et al.*, 2007a).

De lo antes mencionado, se desprende la hipótesis de que las diferencias observadas entre el número de ovejas que no retornan al servicio en los días esperados (días 14 a 21 pos-IA) y el número de ovejas gestantes al momento del diagnóstico ecográfico, pueden deberse a fallas en la detección de celos y/o a pérdidas embrionarias totales posteriores al reconocimiento materno. Es dable asumir de que las fallas en la detección de celos (para igual ambiente, majada y manejo) son similares para diferentes tecnologías de IA utilizadas, por tanto, las diferencias de fertilidad observadas entre el no retorno al servicio a 21 días (NR) y el diagnóstico ecográfico podrían deberse en un mismo ambiente de manejo a la diferente "viabilidad" embrionaria de las tecnologías aplicadas (Olivera *et al.*, 2007a).

4.4.1. Factores que afectan la mortalidad embrionaria

La mortalidad embrionaria puede ser provocada por muchos factores teniendo una incidencia estimada por diversos investigadores en cifras que van de 10 al 25% (Knight *et al.*, 1975; Wilkins y Croker, 1990; Fernandez Abella *et al.*, 2007). El solo hecho de sincronizar ovejas con hormonas exógenas produciría mayores pérdidas reproductivas que ovejas no sincronizadas, debido principalmente a fallas en la fertilización y una mayor mortalidad embrionaria (Lunstra y Christenson, 1981). Esto puede atribuirse a una asincronía en los tiempos de presentación de celos, ovulación y fertilización (Lunstra y Christenson, 1981). El comienzo de la estación sexual y la multi-ovulación provocada, han sido señaladas también como agentes de mortalidad embrionaria. El estado de los gametos (edad de los mismos), espermatozoides u óvulos envejecidos, así como espermatozoides dañados (caso de semen preservado), son todos factores que pueden afectar la vida del embrión (revisado por Durán del Campo, 1980a).

La glándula pituitaria a través de la prolactina actúa a nivel de sus receptores en el epitelio glandular uterino regulando la adenogénesis endometrial (desarrollo de las glándulas). La secreción de las glándulas endometriales es esencial para la supervivencia y desarrollo embrionario durante el período de peri implantación. Defectos en la morfogénesis de las glándulas endometriales durante el crecimiento y desarrollo uterino pueden causar inexplicables altas tasas de mortalidad embrionaria (Spencer y Bazer, 2004).

Las pérdidas embrionarias ocurridas durante las primeras tres semanas post concepción son proporcionalmente las mayores pérdidas reproductivas en ovejas Merino (Wilkins y Croker, 1990). Ese período de tres semanas son críticas ya que entre otros hechos ocurre el reconocimiento materno, necesario para mantener niveles altos de progesterona, fundamentales para mantener la preñez (Viñoles *et al.*, 2006).

Los factores ambientales afectan directa e indirectamente la reproducción (Durán del Campo, 1980a). Si bien el **estrés por calor** podría afectar considerablemente la mortalidad embrionaria, las condiciones que pueden darse normalmente en nuestras condiciones de campo no parecen ser tan extremas como para aparejar grandes pérdidas. De cualquier manera es lógico pensar que en servicio natural, durante los picos de calor del verano y otoño uruguayo, y aún a pesar de la disminución de la temperatura nocturna, podría verse afectada la fertilidad de las majadas. Esto podría ocurrir por crearse condiciones anormales en los genitales de las ovejas antes del servicio, durante y en los primeros días de gestación (Durán del Campo, 1980a). Algunos trabajos (Kleemann y Walker, 2005), evidencian que el NR a servicio y la fertilidad se verían disminuidos según aumenta el número de días con temperaturas mayores a 32 °C durante la encarnerada, indicando que altas temperaturas ambiente pueden reducir la supervivencia embrionaria. El problema del estrés por calor se incrementa cuando se trata de un servicio por IA. En efecto, en la monta natural, la mayor parte de los servicios se realizan durante las horas frescas y luego las ovejas permanecen muy estáticas. En cambio, la IA en ovinos se realiza normalmente cuando ya la temperatura diurna ha comenzado a incrementarse, y las ovejas son a veces conducidas varios kilómetros pos servicio, con la consecuente elevación de la temperatura corporal (Durán del Campo, 1980a).

Las altas **precipitaciones** impiden la manifestación del celo e incrementarían las pérdidas embrionarias. En días de trabajo de IA donde hay tormentas y temporales no se justifica levantar celo, ni traer los animales a los bretes ni corrales, ya que los pocos animales que manifiesten celo tendrán una fertilidad muy baja. A partir de una lluvia superior de 40 mm. por día se producen muertes embrionarias (meses de otoño). Cuando se producen temporales y las ovejas se encuentran sincronizadas, las pérdidas pueden ser muy elevadas (mayores a 50%) (Fernández Abella, 2006). Fernández Abella *et al.* (2007) en un trabajo donde las precipitaciones se presentaron en un 97% por encima del promedio histórico nacional para la época, registraron pérdidas embrionarias que oscilaron entre el 31 al 36% por efecto de las mismas. Precipitaciones fuertes bloquean el celo, reducen la tasa ovulatoria e incrementan la mortalidad embrionaria precoz (Doney *et al.*, 1973; Gun y Doney, 1973). Cuando existen lluvias intensas en los últimos 5 o 6 días previos al servicio la tasa ovulatoria se reduce considerablemente, así como también aumenta la mortalidad embrionaria cuando las mismas ocurren 3 días luego del mismo (Doney y Gun, 1972 citado por Durán del Campo 1980a). Si las mismas van acompañadas de bajas temperaturas, se incrementa el estrés, lo cual lleva a aumentar las pérdidas (Braden y Moule, 1964; Griffiths *et al.*, 1970).

La **nutrición** ha sido también estudiada experimentalmente, pudiendo afectar la vida embrionaria a través de cambios rápidos en niveles nutricionales o de cambios lentos en el peso vivo animal (Durán del Campo, 1980a). En general puede decirse que largos períodos de restricción alimenticia (Kleemann y Walker, 2005) y/o muy intensos al comienzo de la gestación, pueden provocar aumentos en la mortalidad embrionaria (Durán del Campo, 1980a) (Parr, 1992, citado por Viñoles *et al.*, 2006). Comparando diferentes niveles nutricionales, ovejas que cubren los requerimientos de mantenimiento y ovejas que no, éstas últimas tienen mayores niveles de progesterona circulantes (circulación periférica) pero la acción de la progesterona a nivel uterino está disminuida (Sosa *et al.*, 2004, citado por Viñoles *et*

al., 2006) y el desarrollo embrionario se ve alterado (Abecia *et al.*, 1997, citado por Viñoles *et al.*, 2006) (Abecia *et al.*, 2006). La subnutrición reduce la sensibilidad del endometrio a la progesterona alterando el ambiente uterino en detrimento de la supervivencia embrionaria (Abecia *et al.*, 2006). La sobrealimentación puede también reducir la supervivencia embrionaria porque reduce la concentración de progesterona circulante (Parr, 1992, citado por Viñoles *et al.*, 2006). Estos conceptos son útiles al momento de realizar un “flushing” alimentario, debiéndose bajar los niveles de alimentación post concepción (Viñoles *et al.*, 2006).

Otros trabajos han demostrado que la **estado corporal (EC)** de las ovejas determina su desempeño reproductivo (Fernández Abella y Formoso, 2007). Cuando las ovejas presentaron una EC mayor a 3 (escala 1 a 5, Rusell *et al.*, 1969), la mayor tasa ovulatoria explicó la buena fecundidad y fertilidad obtenida. Mientras que con una EC menor a 2.5, la menor fertilidad observada se explicaría por un importante incremento de pérdidas embrionarias (22.7 %). En éste trabajo también se observó que la calidad y composición de la pastura incidirían sobre las tasas ovulatoria, fertilización, y de concepción. Asimismo la disponibilidad de forraje afectó negativamente estos parámetros reproductivos. Las altas dotaciones redujeron el nivel ovulatorio (número de CLs por el total de ovejas) e incrementaron la mortalidad embrionaria (Fernández Abella y Formoso, 2007). Menchaca *et al.* (2003b), también observaron diferencias en el comportamiento reproductivo de las ovejas según la EC al momento del servicio. Ovejas inseminadas con una EC por debajo de 2.75 tuvieron igual manifestación porcentual de celos, pero una tasa de concepción y fecundidad final menor que ovejas con una EC mayor a 3.5. Kleemann y Walker (2005), también encontraron una correlación positiva entre la EC y peso vivo, y la manifestación de celo y tasa ovulatoria.

El estrés, ha sido definido por Fraser y otros investigadores ingleses (citado por Durán del Campo, 1980a), como el esfuerzo requerido por un animal para contrabalancear o ajustar su comportamiento o estado fisiológico a situaciones adversas ambientales o de manejo. En éste sentido el déficit nutricional, el calor y la fiebre pueden considerarse un estrés. Pero el estrés al que se refieren estos investigadores es aquel producido por el manejo intensivo de la majada, el arreo, los gritos, el ruido, la presencia de perros y sus ladridos, el encierre en corrales, la sujeción de la misma oveja, lo cual se da preferentemente durante las tareas de IA. A éste tipo de estrés se le denomina “**estrés emocional**”, y podría influir en la mortalidad embrionaria a través de sus efectos en la corteza adrenal y el aumento circulante de las hormonas cortico-adrenales correspondientes (Durán del Campo, 1980a). La Universidad de Australia Occidental viene seleccionado ovejas Merino por sus reacciones a la presencia humana estableciendo líneas de ovejas “calmas” y “nerviosas”. Los resultados observados muestran que la selección por el tipo calmo tiene un impacto positivo sobre el desempeño reproductivo de éstas ovejas ya que buscan más activamente a los carneros (Gelez *et al.*, 2003), y tienen mejor comportamiento materno y mejor capacidad para criar sus corderos (Murphy, 1999; citado por van Lier *et al.*, 2007). Además, la tasa mellicera ha resultado mayor en las ovejas calmas que en las nerviosas (Blache *et al.*, 2006), Van Lier *et al.* (2007), observaron que solo la tasa ovulatoria se vio afectada por el temperamento de las ovejas, siendo las ovejas calmas las que tienen mayor tasa ovulatoria.

Los **problemas sanitarios** en general afectan indirectamente la tasa ovulatoria a través de las pérdidas de peso o EC (Nari y Cardozo, 1987). Las parasitosis internas incidirían además sobre el consumo voluntario animal. Fernández Abella *et al.* (2006), demostraron un efecto marcado del nivel de parasitosis (evaluada a través de hpg) sobre la tasa ovulatoria, siendo ésta un 15 y 21% inferior, con niveles Medio y Alto de hpg en los animales respectivamente. Las pérdidas embrionarias evaluadas en ovejas con Bajo hpg fueron de solo 5.6%, consideradas por la literatura como valor piso en la especie ovina (Edey, 1969; 1976; Wilkins y Crocker, 1990). Con niveles Medio hpg fueron de 12.5% y con niveles Alto hpg de 20%, presentando una estrecha relación entre las pérdidas embrionarias y el grado de parasitosis. La fertilidad resultó inferior en los grupos de Alto hpg y Medio hpg, por ende también se afectó la fecundidad en estos grupos de parasitosis (99.4, 81.3 y 75.0%, para Bajo, Medio y Alto hpg respectivamente). Bajo las condiciones del Uruguay, este importante efecto de la carga parasitaria en los parámetros reproductivos analizados, explicaría parte de las diferencias en fertilidad, prolificidad y fecundidad observadas entre años secos y años lluviosos.

Las **enfermedades febriles** son factores importantes actuando fundamentalmente a través del aumento de la temperatura corporal, un ejemplo claro de éstas enfermedades son los **problemas podales**, especialmente el Foot-rot. En el año 2000 se realizó un relevamiento donde se determinó que el índice de prevalencia de Pietín en la población ovina del Uruguay era de 6% y que la enfermedad se encontraba presente en un 70% de los predios productores de ovinos (Bonino *et al.*, 2000; citado por Mederos *et al.*, 2001). Las pérdidas más importantes causadas por el Foot-rot son la clara disminución del peso vivo y la EC. Estas pérdidas fueron más marcadas de acuerdo a la estación del año y gravedad de las lesiones, siendo el otoño la época del año donde se produjeron mayores pérdidas en ambos parámetros productivos (Mederos *et al.*, 2001). Dichas pérdidas (EC y peso vivo) afectan la mortalidad embrionaria como se ha mencionado anteriormente.

4.5. COMPARACIÓN BIOLÓGICA Y ECONÓMICA DE PROTOCOLOS DE IATF

Para medir eficiencia reproductiva, ya sea por monta natural o IA, se utilizan indicadores reproductivos. La **tasa reproductiva**, es uno de los principales factores determinantes de la eficiencia económica y biológica de los sistemas de producción animal (Azzarini, 1992). Esta tasa evaluada al momento de la ecografía, parto o al destete se puede expresar como el producto de: fertilidad (ovejas preñadas o paridas/ovejas encarneradas o inseminadas), prolificidad (número de corderos a la ecografía o nacidos/ovejas preñadas o paridas), lo que es igual a fecundidad (fertilidad x prolificidad: número de corderos a la ecografía o nacidos/ovejas encarneradas o inseminadas), y supervivencia (número de corderos señalados o destetados/corderos nacidos). La prolificidad es el componente que tiene mayores posibilidades de ser mejorado ya que la fertilidad y la supervivencia no pueden ser mayores a uno. Por otra parte, existen otros factores como son la edad al primer parto, la frecuencia de los partos y la edad de descarte que contribuyen en gran medida con la determinación de la eficiencia reproductiva global del sistema (Azzarini, 1992). Para lograr maximizar esta eficiencia se deben contemplar otros aspectos generales, tales como el efecto del periodo del año sobre la reproducción y la sanidad de los animales, entre otros.

En cuanto a la comparación económica de varias alternativas propuestas, se puede decir que los **presupuestos** constituyen técnicas informales que permiten evaluar las implicancias económicas de las decisiones en la organización de una explotación agropecuaria (Nin y Freiría, 1993). Algunos autores no consideran a los presupuestos como verdaderos métodos de programación, sino una ayuda para la planificación de la empresa. A su vez no garantizan el óptimo resultado de la empresa, pero permiten comparar las distintas opciones entre las que se va a decidir y elegir la mejor de entre ellas. Es posible definir la presupuestación como la enunciación cuantitativa detallada de una opción considerada en un problema de toma de decisiones y el pronóstico de su resultado económico, o del efecto de esta opción sobre el resultado económico. Existen dos métodos de presupuestación parcial y global (Nin y Freiría, 1993) El método de Presupuestación Parcial es definido como cómputo anticipado de los Costos y Productos de una actividad o de un rubro (Rivera, 2002). La presupuestación parcial se utiliza cuando la decisión a tomar no afecta en forma sustancial el conjunto de recursos y/o actividades de la empresa. La mayor parte de los costos e ingresos de la explotación no se modifican y el método no los tiene en cuenta, el método mide los cambios que la actividad evaluada en el problema de decisión, determina en costos e ingresos. El método cumple con todos los pasos del proceso de decisión. Esté fue el método de evaluación económica de elección para comparar los distintos protocolos de IATF en éste trabajo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación:

El ensayo se realizó en el establecimiento "Piedra Mora", propiedad de la familia Filliol y Barreiro, ubicado en el departamento de Paysandú, en la ruta 26 km. 100 paraje Guarapirú (latitud Sur 32° 05', longitud Oeste 57° 10'), sobre suelos de basalto superficial (40%) y profundo (60%). Se llevó a cabo durante la estación reproductiva, entre los meses de marzo y junio del año 2007. La IATF se realizó el 12 de Abril del 2007 y el Servicio Repaso se llevo a cabo del 26 de Abril al 3 de Mayo del mismo año.

Animales:

Se utilizó un total de 450 ovejas multíparas de raza Merino Australiano con una EC promedio de 3.2 ± 0.3 (escala 1 a 5, Rusell *et al.*, 1969). Previo al ensayo (15 días), tanto a machos como a hembras, se les realizó una dosificación con un endectocida combinado (Ivermectina 0.2 gr., Triclabendazole 10 gr. y Levamisol clorhidrato 8 gr. cada 100 ml de producto; 1 ml/10 kg. PV; Triplemic® Microsules S.A.; Montevideo, Uruguay), y un tratamiento preventivo contra ectoparásitos de baño de inmersión (Pirimifós; Elimix®, Laboratorio Coopers; Montevideo, Uruguay). Conjuntamente con las dosificaciones antihelmínticas se vacunaron todos los animales en forma preventiva contra clostridiosis (Ultravac®; Laboratorio Merial, Montevideo, Uruguay) y se realizo un baño podal preventivo con sulfato del zinc al 10% durante 15 minutos.

Las ovejas permanecieron antes, durante y después del ensayo pastoreando sobre campo natural con buena disponibilidad de forraje (mayor a 800 kg de MS/ha), el suministro de agua fue "ad libitum". A los efectos de comprobar que la majada se encontraba reproductivamente apta para el ensayo se realizó un examen ecográfico transrectal en los días previos al comienzo del mismo (Aloka® 500, 5.0 Mhz; Japón), para descartar posibles gestaciones o patologías.

Tratamientos:

Las ovejas fueron asignadas aleatoriamente a 2 protocolos de sincronización de celos e IATF: Progestágenos-eCG (protocolo Control) y PGF2 α (Synchrovine®, o protocolo tratamiento).

El protocolo "**Control**": esponjas intravaginales de acetato de medroxiprogesterona por 13 días (MAP 60 mg; Laboratorio Syntex, Buenos Aires, Argentina) impregnadas con penicilina-estreptomina (Multicilina®, Laboratorio Dispert; Montevideo, Uruguay), mas eCG a su extracción (300 UI/oveja i/m; NOVORMON 5000®, Laboratorio Syntex. Buenos Aires, Argentina).

El protocolo **Synchrovine®**: 2 dosis de PGF2 α separadas 7 días (125 μ g/dosis, Cloprostenol-DL; SINCRON-DL®, Laboratorio Uruguay. Montevideo, Uruguay). Este protocolo fue a su vez comparado en tres momentos de IATF, generando así un total de 4 lotes de ovejas. Por diferentes motivos (pérdida de

registros o identificación, problemas sanitarios etc.), algunas ovejas que inicialmente conformaban los lotes debieron ser retiradas del ensayo.

Lote 1: **“Control”**: esponjas de medroxiprogesterona + eCG e IATF a las 54 horas de la retirada de la esponja (n=105).

Lote 2: **“Synchrovine-42”**: protocolo Synchrovine® e IATF a las 42 horas de la segunda PGF2 α (n=82).

Lote 3: **“Synchrovine-48”**: protocolo Synchrovine® e IATF a las 48 horas de la segunda PGF2 α (n=96).

Lote 4: **“Synchrovine-54”**: protocolo Synchrovine® e IATF a las 54 horas de la segunda PGF2 α (n=90).

Carneros:

Para la producción del material seminal se utilizaron 12 carneros adultos (mayores a 1 año) de raza Merino Australiano, los cuales se mantuvieron en un régimen de alimentación en base a pasturas mejoradas (Lotus y Trébol Blanco) y ración (1,5 Kg/animal/día de ración para carneros; CADYL. Río Negro, Uruguay), permaneciendo estabulados durante la noche. Con el objetivo de evaluar la aptitud reproductiva de los carneros, se realizó durante las semanas previas al ensayo un examen clínico completo de los mismos con extracción y evaluación de su semen.

El semen fue colectado mediante la técnica de vagina artificial (Durán del Campo *et al.*, 1993). El semen de cada carnero se evaluó macro y microscópicamente inmediatamente de colectado. Para la aceptación del eyaculado de un carnero la evaluación macroscópica tuvo en cuenta motilidad de masa (> a 3, escala 1 a 5; Maxwell y Evans, 1987), volumen (\geq a 0.75 ml), color (\geq a DD, escala D a DDD; Maxwell y Evans, 1987) y pureza (sin orina, sangre, contaminación externa, etc.). La evaluación microscópica incluyó motilidad espermática subjetiva (\geq 70% de células con movimiento rectilíneo uniforme), utilizando un microscopio binocular (Wild®, Alemania), y concentración espermática (\geq 0.0 $\times 10^9$), utilizando un espectrofotómetro (Spermacue®, Minitüb, Tiefenbach, Alemania).

Se obtuvieron dos eyaculados por carnero, con una frecuencia de 10 a 15 minutos, que una vez aceptados fueron unificados y manejados como uno solo, a los efectos de minimizar el efecto eyaculado dentro de un mismo carnero (Windsor, 1997). El pool de eyaculados de cada carnero fue a su vez pooleado con los demás carneros para minimizar el factor carnero en la fertilidad (Windsor, 1997). El semen pool fue diluido a continuación en forma progresiva en baño María a 30°C con el diluyente Piedra Mora® (2008) (Fierro *et al.*, 2005; leche UHT descremada, 5% yema de huevo de gallina, 2% glicerol; 100.000 UI de penicilina y 0,1 g de estreptomina/100 ml), hasta alcanzar la concentración y volumen definidos. La dosis inseminante por oveja fue de 0.2 ml (relación 1+5 semen mas diluyente, aproximadamente) conteniendo 150 millones de espermatozoides totales.

IATF y Repaso:

La técnica de inseminación a emplear fue la cervical (Durán del Campo *et al.*, 1993), utilizando un vaginoscopio tubular con luz propia y una pistola de inseminación multidosis (Walmur® Instrumentos Veterinarios; Montevideo, Uruguay). Las ovejas se inseminaron usando el método de sujeción manual “patas hacia arriba” (“over the rail”), elevando el tren posterior y apoyando la pelvis ventralmente en el borde del tubo. Los 4 lotes permanecieron juntos durante todo el ensayo. Las ovejas fueron identificadas en forma individual (caravana) y para facilitar apartes se marcaron en forma diferencial con pintura de color. Todos los grupos de ovejas fueron inseminados a la misma hora promedio (desvío: ± 2 horas), entrando a los bretes en forma aleatoria.

El segundo servicio de las ovejas (servicio repaso sobre celo natural) fue realizado entre los días 14 y 23 posteriores a la IATF, para ambos protocolos. La detección de celos se hizo usando capones androgenizados como marcadores, de la raza Merino Australiano, utilizados al 3%. Los mismos fueron introducidos a la majada por la tarde y retirados por la mañana (12 horas de detección). La androgenización consistió en tres inyecciones de un análogo sintético de la testosterona (100 mg/dosis, Ciclopentilpropionato de Testosterona i/m; Testosterona Ultra Lenta®; Laboratorio Dispert; Montevideo, Uruguay), separadas siete días cada una, siendo la última el día previo a la introducción de los mismos a la majada. Los capones fueron mantenidos bajo las mismas condiciones de sanidad y alimentación que las ovejas. El segundo servicio se realizó en igualdad de condiciones que la IATF con la diferencia que se utilizó semen fresco sin diluir.

Parámetros a medir:

Se registraron las precipitaciones acontecidas en el período de trabajo (del 1 de marzo al 15 de mayo del 2006). Para ello se utilizó la base de datos de la Unidad Experimental “Glencoe” del INIA Tacuarembó, muy próximo al establecimiento Piedra Mora. Para el análisis y comparación de los resultados se tomó en cuenta los promedios mensuales registrados por el INIA en las Estaciones Experimentales de Las Brujas (años 1972-2008), La Estanzuela (años 1963-2008), Treinta y Tres (años 1972-2008), Tacuarembó (años 1986-2008) y Salto Grande (años 1970-2008) (Fuente: INIA, 2008).

La comparación biológica de los protocolos de sincronización de celos e IATF comparados se realizó a través de los siguientes parámetros: 1) eficiencia en la sincronización de celos evaluada indirectamente a través de la duración promedio (días), rango (días) y distribución de frecuencias acumuladas del periodo IATF-repetición de servicio para ovejas que repiten celo (%); 2) tasa de no retorno al celo a 23 días (ovejas que no presentan celo hasta los 23 días pos IATF/ total ovejas tratadas*100, NR; %); 3) pérdidas reproductivas absolutas entre el no retorno al celo a 23 días y la fertilidad por ecografía a 60 días (NR-Fertilidad, %); 4) tasa de fertilidad (ovejas preñadas a ecografía a 60 días/ovejas inseminadas) (%), 5) prolificidad (número de embriones ó fetos a ecografía a 60 días/oveja preñada) y 6) fecundidad (número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja inseminada; tasa de fertilidad*prolificidad), para el servicio de IATF y servicio repaso, a partir de

ultrasonografía transabdominal (sonda sectorial de 5 Mhz de frecuencia; Animal Profi Draminski; Interfarmtech, New Zealand) realizada a 60 días de la IATF.

Las diferencias observadas entre la tasa de NR y la tasa de fertilidad al diagnóstico ecográfico (60 días) (pérdidas NR-Fertilidad), se deben a fallas en la detección de celos y/o a pérdidas embrionarias totales posteriores al reconocimiento materno. Se asumirá que las fallas en la detección de celos son similares para los diferentes protocolos de IATF comparados, por tanto, las diferencias en pérdidas NR-Fertilidad se podrían deber a la diferente "viabilidad" embrionaria de los protocolos aplicados.

El análisis económico comparativo de los protocolos de sincronización e IATF planteados se realizó mediante el método de Presupuestación Parcial, definido como el cómputo anticipado de los Costos y Productos de una actividad o de un rubro (Rivera, 2002). El método considera por un lado las ventajas de la alternativa evaluada y por otro lado las desventajas. El criterio de decisión es, cuando las ventajas superan a las desventajas, la alternativa evaluada es viable. Cabe destacar que no se tomaron en cuenta para los cálculos realizados costos de asesoramiento técnico, mano de obra y tiempo de dedicación ya que estos se asumen como iguales para ambos protocolos. Los costos utilizados son aquellos que difieren en los dos protocolos, básicamente hormonas y materiales. Se usaron como supuestos precios a agosto del 2008 de productos comerciales en plaza (Veterinaria "Lasplaces", Uruguay). Se plantea además, un estudio del punto de equilibrio entre ambos protocolos respecto al valor de la dosis de semen utilizada, para la variable costo total por feto obtenido a la IATF e IATF mas el servicio repaso.

Análisis estadístico:

La comparación de distribución de frecuencias acumuladas en la duración del periodo IATF-repetición de servicio se evaluó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov (SAS, 2000). La comparación de protocolos de sincronización e IATF en las variables tasa de NR, pérdidas NR-Fertilidad y fertilidad fue analizada mediante el test de Chi cuadrado con corrección de Fisher-Yates (Sigel, 1956). La prolificidad y fecundidad se analizó con el test de Brown (Brown, 1988).

6. RESULTADOS

6.1. EFICIENCIA EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELOS DE LOS PROTOCOLOS SYNCHROVINE® Y CONTROL

La distribución de los celos espontáneos posteriores al inducido en ovejas que repitieron servicio, para los protocolos Synchronvine® (datos agrupados) y Control, se presentan en el Gráfico 1 (histograma de frecuencias).

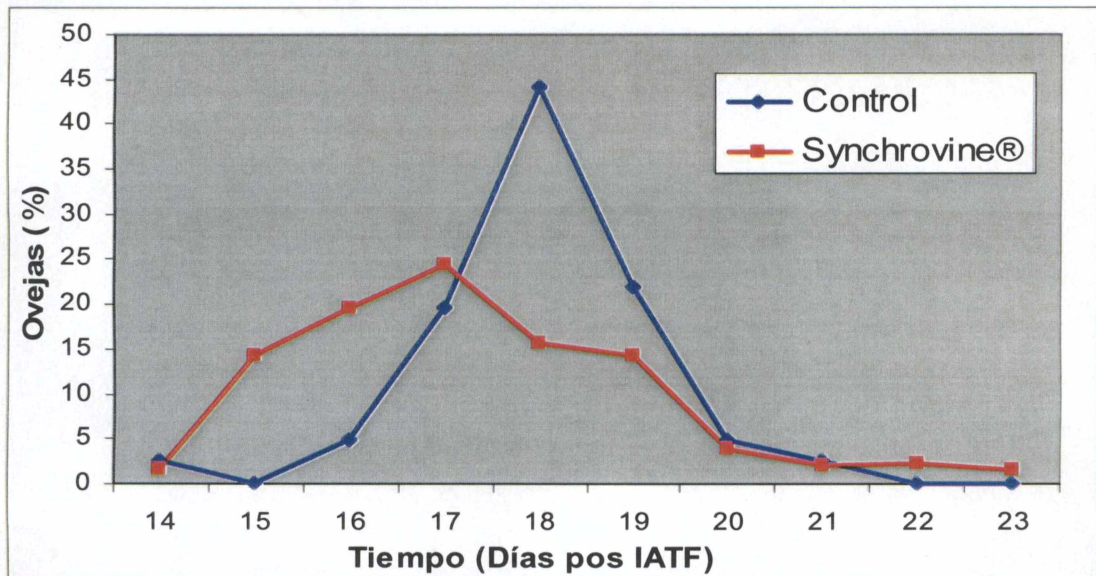


Gráfico 1. Distribución del celo espontáneo posterior al inducido para los protocolos Synchronvine® (datos agrupados) y Control

La duración promedio y rango del período IATF-repetición de servicio fue de $17,3 \pm 1,8$ y $18 \pm 1,2$ días, 14 a 23 y 14 a 21 días, para protocolo Synchronvine® y Control respectivamente. Se observaron diferencias significativas en la distribución de frecuencias de los celos del grupo Synchronvine® y Control ($P < 0,05$). En resumen, se aprecia una presentación más tardía y más concentrada en los celos del retorno del grupo Control.

6.2. TASA DE NO RETORNO AL CELO Y PÉRDIDAS REPRODUCTIVAS ENTRE EL NO RETORNO AL CELO Y LA ECOGRAFÍA PARA PROTOCOLOS SYNCHROVINE® Y CONTROL

Los resultados de estas variables se resumen en el Cuadro 1. En términos generales la tasa de NR de la IATF fue 20% mayor que la fertilidad promedio de todo el ensayo obtenida por ecografía (54% vs. 34%, $P < 0,05$).

En cuanto a la tasa NR, no se observaron diferencias significativas entre los distintos momentos de IATF en el protocolo Synchronvine® ($P > 0,05$). Se observaron diferencias significativas solo entre la tasa NR del protocolo Control y Synchronvine-48 ($P < 0,05$), pero no entre el protocolo Control y el promedio de grupos Synchronvine® ($P > 0,05$).

Las pérdidas NR-Fertilidad fueron significativamente inferiores en el grupo Control respecto a grupos Synchronvine-42, Synchronvine-54 y promedio de grupos Synchronvine® ($P < 0,05$).

Cuadro 1. Pérdidas reproductivas en IATF vía cervical con semen fresco con el protocolo Synchrovine® o protocolo Control en ovejas multíparas Merino Australiano

| Protocolo | Nº | NR (%) | Fertilidad (%) | NR-Fertilidad (%) |
|----------------|-----|------------------|-----------------|-------------------|
| Control | 105 | 61 ^a | 48 ^a | 22 ^a |
| Synchrovine-42 | 82 | 51 ^{ab} | 27 ^b | 47 ^{bc} |
| Synchrovine-48 | 96 | 46 ^b | 31 ^b | 32 ^{ab} |
| Synchrovine-54 | 90 | 57 ^{ab} | 26 ^b | 55 ^c |
| Synchrovine® | 268 | 51 ^{ab} | 28 ^b | 45 ^{bc} |

Control: celo inducido con esponjas MAP 60 mg 14 días + 300 UI eCG e IATF a 54 horas; **Synchrovine-42:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 42 horas de segunda dosis PGF2a; **Synchrovine-48:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 48 horas de segunda dosis PGF2a; **Synchrovine-54:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 54 horas de segunda dosis PGF2a; **Synchrovine®:** promedio de grupos **Synchrovine-42**, **Synchrovine-48** y **Synchrovine-54**; **NR:** % de ovejas que no retornan a servicio a 23 días pos-IA; **Fertilidad:** ovejas preñadas/ovejas inseminadas evaluada por ecografía a 60 días; **NR-Fertilidad:** diferencia porcentual absoluta entre el valor de no retorno al servicio y el valor de fertilidad a ecografía a 60 días

Letras diferentes igual columna expresan diferencias significativas (P<0.05)

6.3. PRECIPITACIONES DEL PERÍODO Y SU RELACIÓN CON EVENTOS DEL EXPERIMENTO

Las precipitaciones acumuladas en el período de ensayo (del 15 de marzo al 15 de mayo del 2006.) se elevaron a 475 mm. La distribución de registros en relación al cronograma de eventos del experimento se presenta en la Figura 1. La comparación respecto al promedio nacional de precipitaciones se presenta en el Gráfico 2.

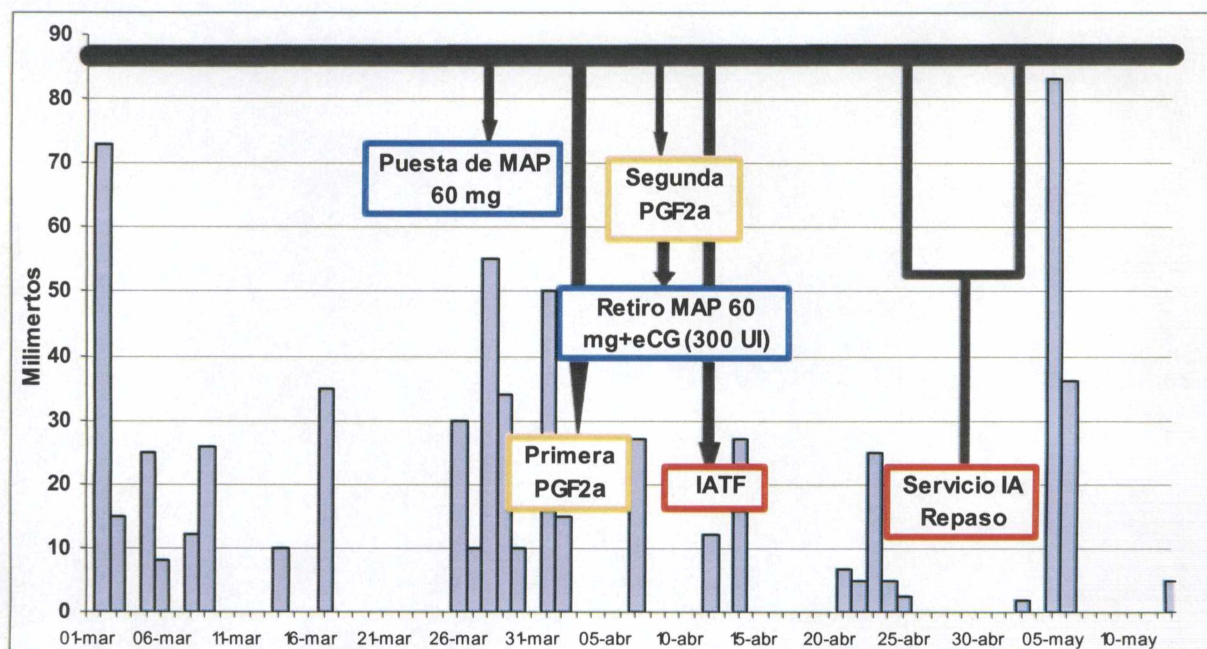


Figura 1: Precipitaciones acumuladas durante el experimento y su relación cronológica con las actividades realizadas

Previo, durante y en los días posteriores al servicio de IATF y repaso se registraron importantes precipitaciones.

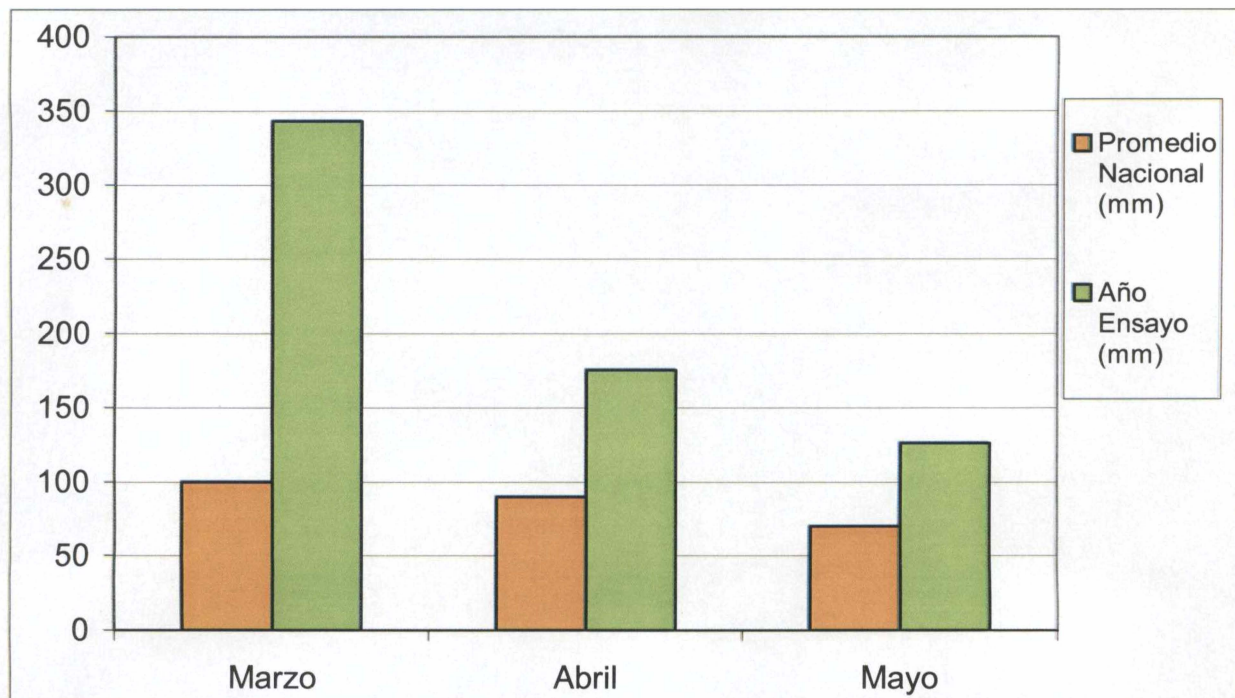


Gráfico 2: Comparación de precipitaciones mensuales entre el promedio nacional (INIA, 2008) y las precipitaciones del año de ensayo (mm.)

Se observa un importante incremento (mayor al doble) en las precipitaciones ocurridas durante los meses del ensayo en relación al promedio mensual nacional.

6.4. COMPARACIÓN REPRODUCTIVA DE MOMENTOS DE IATF CON EL PROTOCOLO SYNCHROVINE®

Los resultados obtenidos se resumen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Comparación de tres momentos de IATF vía cervical con semen fresco con el protocolo Synchronvine® en ovejas multíparas Merino Australiano

| Protocolo | Synchronvine-42 | Synchronvine-48 | Synchronvine-54 |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Fertilidad | 0.27 ^a | 0.31 ^a | 0.26 ^a |
| Prolificidad | 1.09 ^a | 1.03 ^a | 1.04 ^a |
| Fecundidad | 0.29 ^a | 0.32 ^a | 0.27 ^a |

IATF: Inseminación a Tiempo Fijo; **Fertilidad:** ovejas preñadas a ecografía a 60 días/ovejas inseminadas; **Prolificidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja inseminada; **Synchronvine-42:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 42 horas de segunda dosis PGF2a; **Synchronvine-48:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 48 horas de segunda dosis PGF2a; **Synchronvine-54:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 54 horas de segunda dosis PGF2a

Letras diferentes en igual fila expresan diferencias significativas (P<0.05).

Se observa que la tasa de fertilidad, prolificidad y fecundidad en los tres momentos de IATF estudiados para el protocolo Synchronvine® no presentó diferencias significativas entre ellos ($P>0.05$).

6.5. COMPARACIÓN REPRODUCTIVA DEL PROTOCOLO SYNCHROVINE® Y CONTROL AL SERVICIO DE IATF E IATF MAS REPASO

La comparación reproductiva entre los protocolos Synchronvine® y Control en el servicio de IATF e IATF mas repaso se presenta en los Cuadros 3 y 4 respectivamente. A los efectos de la comparación del protocolo Synchronvine® se consideran los resultados obtenidos con el protocolo Synchronvine-48.

Cuadro 3. Comparación en términos reproductivos entre protocolo Synchronvine-48 y Control en servicio de IATF vía cervical con semen fresco en ovejas múltiparas

| IATF | Synchronvine-48 | Control |
|---------------------|-------------------|-------------------|
| Fertilidad | 0,31 ^a | 0,48 ^b |
| Prolificidad | 1,03 ^a | 1,10 ^a |
| Fecundidad | 0,32 ^a | 0,52 ^b |

IATF: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; **Fertilidad:** ovejas preñadas a ecografía a 60 días/ovejas inseminadas; **Prolificidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja preñada. **Fecundidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja inseminada; **Synchronvine-48:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 48 horas de segunda dosis PGF2α; **Control:** celo inducido con esponjas MAP 60 mg 14 días + 300 UI eCG e IATF a 54 horas.

Letras diferentes en igual fila expresan diferencias significativas ($P<0.05$).

La fertilidad y fecundidad final del protocolo Synchronvine-48 en el servicio de IATF fue menor que en el protocolo Control ($P<0.05$). La prolificidad no alcanzó diferencias significativas entre ambos protocolos ($P>0.05$). En términos absolutos el protocolo Control generó un 40% más de fetos en el servicio de IATF.

Cuadro 4. Comparación en términos reproductivos entre protocolo Synchronvine-48 y Control en IATF+Servicio Repaso vía cervical y semen fresco en ovejas múltiparas

| IATF + Servicio Repaso | Synchronvine-48 | Control |
|------------------------|-------------------|-------------------|
| Fertilidad | 0,67 ^a | 0,74 ^a |
| Prolificidad | 1,06 ^a | 1,09 ^a |
| Fecundidad | 0,71 ^a | 0,81 ^a |

IATF + Servicio Repaso: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo + inseminación a celo visto 14 a 23 días luego de la IATF. **Fertilidad:** ovejas preñadas a ecografía a 60 días/ovejas inseminadas; **Prolificidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja preñada. **Fecundidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja inseminada; **Synchronvine-48:** celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 48 horas de segunda dosis PGF2α + servicio repaso; **Control:** celo inducido con esponjas MAP 60 mg 14 días + 300 UI eCG e IATF a 54 horas + servicio repaso.

Letras diferentes en igual fila expresan diferencias significativas ($P<0.05$).

No se observaron diferencias significativas en tasa de fertilidad, prolificidad y fecundidad final alcanzada, en la comparación del servicio de IATF más servicio repaso, entre los protocolos Synchronovine-48 y Control ($P < 0.05$). Finalmente, el protocolo Control generó un 13% más de fetos en el servicio de IATF más servicio repaso.

6.6. COMPARACIÓN ECONÓMICA DEL PROTOCOLO SYNCHROVINE® Y CONTROL A SERVICIO DE IATF E IATF MÁS REPASO

La valoración económica comparativa de los protocolos Synchronovine-48 y Control en el servicio de IATF e IATF más el servicio repaso y el punto de equilibrio en el costo por feto, según valor de dosis de semen utilizado, se presentan en los Cuadros 5 y 6 y Gráfico 3 respectivamente.

Cuadro 5. Análisis comparativo de costos entre protocolos Synchronovine-48 y Control a IATF vía cervical y semen fresco en ovejas multíparas

| Costos U\$\$ / Oveja | Synchronovine-48 | Control |
|---|-------------------------|----------------|
| Esponjas MAP | - | 0,88 |
| eCG | - | 1,68 |
| Prostaglandina | 0,55 | - |
| Valor dosis de semen (U\$\$) | 3 | 3 |
| Costo total / Oveja | 3,6 | 5,6 |
| Fertilidad (%) | 31 | 48 |
| U\$\$ / Oveja preñada | 11,5 | 11,6 |
| Prolificidad | 1,03 | 1,1 |
| Fecundidad (%) | 32 | 52 |
| Incremento en el N° de Fetos (%) | | 40 |
| U\$\$/Feto a IATF | 11,1 | 10,5 |

Synchronovine-48: celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 48 horas de segunda dosis PGF2α; **Control:** celo inducido con esponjas de MAP 60 mg 14 días + 300 UI eCG e IATF a 54 horas; **Esponjas MAP:** esponjas de 60 mg de Medroxiprogesterona (Lab Syntex; Buenos Aires, Argentina); **eCG:** Gonadotropina Coriónica Equina 300 UI/oveja/im (NOVORMON 5000®; Lab Syntex; Buenos Aires, Argentina); **ATB:** Penicilina-Estreptomina (Laboratorio Dispert, Montevideo Uruguay); **Prostaglandina:** 2 dosis de 125 µg/dosis/oveja DL-Cloprostenol (SINCRON DL®, Laboratorio Uruguay; Montevideo, Uruguay); **Fertilidad:** ovejas preñadas a ecografía a 60 días/ovejas inseminadas*100; **Prolificidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja preñada; **Fecundidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja inseminada*100. Supuestos reproductivos: datos provenientes de Cuadro 3 y 4

Los resultados económicos para ambos protocolos en el servicio de IATF evidencian ser muy sensibles al valor de la dosis seminal. Para el valor de dosis de semen igual a 3 U\$\$, el costo total por oveja inseminada fue un 36% superior para protocolo Control, mientras que el costo por oveja preñada y el costo por feto obtenido prácticamente se igualan en ese valor de semen.

Cuadro 6. Análisis comparativo de costos entre los protocolos Synchronone-48 y Control a IATF+Servicio Repaso vía cervical y semen fresco en ovejas multíparas

| Costos U\$S / Oveja | Synchronone-48 + Repaso | Control + Repaso |
|--------------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| Esponjas MAP | - | 0,88 |
| eCG | - | 1,68 |
| Prostaglandina | 0,55 | - |
| Valor dosis de semen (U\$S) | 3 | 3 |
| Costo total / Oveja | 5,4 | 7 |
| Fertilidad (%) | 67 | 74 |
| U\$S / Oveja preñada | 8,1 | 9,3 |
| Prolificidad | 1,06 | 1,09 |
| Fecundidad (%) | 71 | 81 |
| Incremento en N° de fetos (%) | | 13 |
| U\$S/Feto IATF+Repaso | 11,4 | 11,3 |

Synchronone-48+Repaso: celo inducido con 2 dosis de DL-Clorprostenol 125 µg/dosis separadas 7 días e IATF a 48 horas de segunda dosis PGF2α + inseminación a celo visto 14-23 días luego de la IATF; **Control+Repaso:** celo inducido con esponjas de MAP 60 mg 14 días + 300 UI eCG e IATF a 54 horas + inseminación a celo visto 14-23 días luego de la IATF; **Esponjas MAP:** esponjas de 60 mg de Medroxiprogesterona (Lab Syntex; Buenos Aires, Argentina); **eCG:** Gonadotropina Coriónica Equina 300 UI/oveja/im (NOVORMON 5000®; Lab Syntex; Buenos Aires, Argentina); **ATB:** Penicilina-Estreptomina (Laboratorio Dispert, Montevideo Uruguay); **Prostaglandina:** 2 dosis de 125 µg/dosis/oveja DL-Cloprostenol (SINCRON DL®, Laboratorio Uruguay; Montevideo, Uruguay); **Fertilidad:** ovejas preñadas a ecografía a 60 días/ovejas inseminadas*100; **Prolificidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja preñada; **Fecundidad:** número de embriones o fetos a ecografía a 60 días/oveja inseminada*100. Se asume igual valor de dosis de semen al servicio repaso. Supuestos reproductivos: datos provenientes de Cuadro 3 y 4

Para la IATF mas el servicio repaso los resultados económicos muestran que, para el mismo valor de semen considerado (3 U\$\$), el costo total por oveja inseminada y el costo por oveja preñada fue un 22 y un 13% superior para protocolo Control, mientras que el costo por feto obtenido se igualaría entre los protocolos.

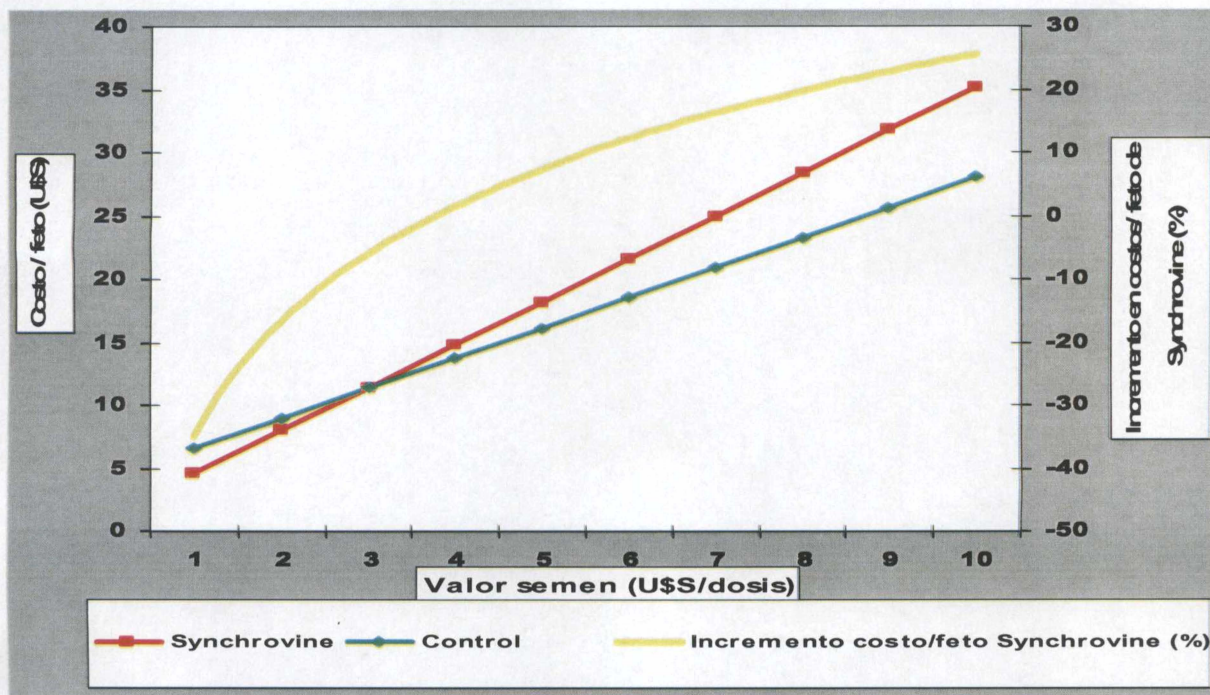


Gráfico 3. Valor de dosis de semen utilizada, costo final por feto e incremento porcentual del costo por feto a servicio IATF mas servicio repaso en protocolo Synchronovine® y Control

Se observa que con los resultados reproductivos de nuestro ensayo, el valor de la dosis de semen que igualaría el costo por feto entre los protocolos en estudio sería de 3 U\$\$ (punto de equilibrio). Por debajo de ese valor de semen, por cada unidad de U\$\$ la disminución promedial en el costo por feto sería de un 22% a favor del protocolo Synchronovine®. Por encima de ese valor de semen, por cada unidad de U\$\$, el costo por feto se elevaría promedialmente solo un 3% para el protocolo Synchronovine®.

7. DISCUSION

Los resultados reproductivos observados al servicio de IATF fueron bajos, independientemente del protocolo de sincronización utilizado o la hora de inseminación fijada. Estos protocolos de IATF han alcanzado resultados globales mas elevados en otras instancias (Rubianes *et al.*, 2004; Olivera *et al.*, 2006a; Olivera *et al.*, 2007b). Pensamos que los elevados niveles de precipitaciones acontecidos en los días previos y posteriores a la IATF pueden haber deprimido nuestros resultados. Es reportado el efecto de la lluvia durante los apareamientos en las pérdidas reproductivas ovinas (Griffiths *et al.*, 1970; Gun y Doney, 1972, citado por Durán del Campo 1980a; Gun y Doney, 1973; Fernández Abella *et al.*, 2007). Otros factores como el estrés (van Lier, 2007), la disminución de peso vivo y el EC (Kleemann y Walker, 2005; Fernández Abella y Formoso, 2007), parasitosis gastrointestinales (Nari y Cardozo, 1987; Fernández Abella *et al.*, 2006) y problemas podales concomitantes a estas abundantes precipitaciones (Mederos *et al.*, 2001), pueden haber repercutido negativamente en los resultados obtenidos en nuestro ensayo. La importante diferencia entre la tasa de NR y la fertilidad, conduce a pensar que estos resultados deprimidos se deben en gran parte a pérdidas reproductivas que se presentaron también, luego del reconocimiento materno. En trabajos previos (Araujo *et al.*, 2006), niveles similares de pérdidas reproductivas fueron también asociadas a las precipitaciones ocurridas durante el ensayo, aunque en ese caso utilizando celo natural y semen refrigerado. En un año sin precipitaciones (2006), las pérdidas reproductivas absolutas observadas en celos sincronizados con estos protocolos de IATF y semen fresco no fueron en promedio mayores al 10% (Olivera *et al.*, 2007c). Esto reafirma la hipótesis de un efecto "año" sobre nuestros resultados. La IA a celo visto natural de nuestro experimento (servicio repaso), tuvo un mejor comportamiento reproductivo promedio (66% de concepción), acorde con lo esperado para un servicio de estas características (Duran del Campo, 1980b).

La comparación planteada respecto a la eficiencia en la sincronización de celos con los protocolos de IATF Synchrovine® y Control, evidenció una presentación más tardía de los celos pero más concentrada en el retorno del grupo Control. Infiriendo que esta diferencia se manifestó de igual forma a la IATF, esto pudo generar una mayor dispersión de las ovulaciones y por ende una menor fertilidad en los servicios a tiempo fijo realizados con el protocolo Synchrovine®. Es bien conocida la alta sincronización de los celos que se logra con los protocolos tradicionales de progestágenos y eCG (Allison y Robinson, 1970; Gordon, 1971; Colas *et al.*, 1973; Hawk y Cooper, 1977; Langford *et al.*, 1983). Se reporta un período ovulatorio para el protocolo Synchrovine® no mayor a 60 ± 12 horas (Rubianes *et al.*, 2003), muy inferior a la dispersión observada con los tratamientos tradicionales con PGF2 α (Gordon 1983; Evans y Maxwell 1990; Durán Hontou, 1993), pero quizás insuficiente para lograr buenos resultados a la IATF. Quizás sea dable esperar, que una doble IATF con un intervalo no mayor a 12 horas, o la aplicación de un efecto macho que mejore la sincronización de las ovulaciones (Folch *et al.*, 1988), pueda mejorar los resultados de fertilidad y por ende de fecundidad para éste nuevo protocolo.

A pesar de los bajos resultados observados, la comparación planteada entre momentos de IATF o protocolos de sincronización dentro del ensayo, sigue siendo válida y permite sacar algunas conclusiones. En este sentido, no se observó un efecto claro de la hora de IATF en el protocolo Synchronvine®. Esto no coincide con previos reportes de otros autores con otros biotipos raciales (Menchaca *et al.*, 2004), que concluyen que los resultados serían significativamente inferiores cuando se insemina después de las 48 horas de la segunda PGF2 α con este protocolo. Esto parece confirmar que puede haber un efecto del biotipo racial utilizado sobre el mejor momento de IATF. Para la raza Merino Australiano, los resultados obtenidos en este ensayo y en previas comunicaciones (Olivera *et al.*, 2007c), permiten afirmar que se podría realizar la IATF entre las 42 y 54 horas con similares resultados de fertilidad.

El protocolo de IATF Control presentó una fertilidad y fecundidad mayor que el protocolo Synchronvine®, independientemente de la hora de inseminación considerada en este último. Este resultado es consistente con reportes preliminares comunicados por Olivera *et al.* (2006a, b), aunque en esa comparación no se habían incluido los momentos de IATF de 48 y 54 horas en el protocolo Synchronvine®. Es claro que hasta el momento el protocolo Control de progestágenos y eCG sigue evidenciando una mayor fertilidad y fecundidad final. La baja fertilidad reportada para el celo de prostaglandinas (Hawk y Conley, 1983), se sigue manteniendo aun con este nuevo protocolo de sincronización que busca la ovulación de folículos en fase de crecimiento (Menchaca y Rubianes, 2004). Las diferencias con el protocolo Control parecen acentuarse cuando se utiliza la vía intrauterina (Viñoles *et al.* 2007). A pesar de que nuestros resultados evidencian diferencias significativas entre el protocolo Control y el Synchronvine® en las pérdidas NR-Fertilidad, otros trabajos no aprecian estas diferencias en similar comparación (Olivera *et al.*, 2007b). En estos trabajos, las diferencias finales de fertilidad entre estos protocolos (para semen fresco, IA vía cervical y ovejas múltiparas), parecen situarse previas al reconocimiento materno (fallas en la ovulación y/o fertilización, no envió de señal embrionaria o no reconocimiento materno). En cambio en nuestro ensayo, estas diferencias de NR-Fertilidad conducen a pensar que las pérdidas ocurrieron también después del reconocimiento materno, donde el efecto "año" (lluvias, problemas sanitarios, estrés), pudo haber jugado un rol preponderante.

Los resultados finales de la comparación biológica de los protocolos (IATF mas servicio repaso), evidencian que las alternativas acercan en términos generales sus diferencias de fecundidad, permitiendo hacer mas viable la adopción del protocolo Synchronvine®, en un sistema productivo que busque disminuir los días totales de trabajo (Olivera y Gil, 2005). Para ello, es importante una detección eficiente de celos durante el retorno del primer servicio (IATF), sobre todo en las ovejas del protocolo Synchronvine®, de forma de lograr reinseminar el mayor porcentaje de ovejas que no quedaron gestantes. Cuando se analizan económicamente los protocolos Synchronvine-48 y Control a la IATF e IATF mas el servicio repaso, se aprecia claramente que los costos por oveja inseminada, oveja gestante y feto son altamente dependientes del valor del semen utilizado. Con valores inferiores de semen a 3 U\$S estos indicadores favorecen en términos generales al protocolo Synchronvine®. Por encima de ese valor de semen, además de un menor número de corderos totales al servicio de IATF (40%) e IATF mas

repaso (13% inferior), el protocolo Synchrovine® presenta valores de costo por feto superiores al protocolo Control.

Respecto a las alternativas de sincronización e IATF aquí evaluadas, es importante mencionar que dependiendo del valor del material genético (valor de la dosis seminal) con que se vayan a realizar los servicios, será la decisión que se recomiende tomar. Cuando el semen a utilizar sea de alto valor genético y/o económico, los resultados biológicos a la hora de la IATF posiblemente tengan mayor relevancia que los costos por feto, ya que cuanto mayor sean los valores de fecundidad alcanzados en el servicio de IATF o IATF mas servicio repaso, mejor será la relación costo/beneficio respecto a la inversión realizada. En cambio, cuando se cuenta con el reproductor en el predio sin restricción de uso o permanencia, o se trata de dosis seminales de bajo valor individual, la intención quizás sea obtener mayores valores de fecundidad final, independientemente en que servicio se alcancen (IATF o repaso). En base a lo aquí presentado, para la primer situación planteada el protocolo Control sería el de elección, mientras para la segunda instancia, el protocolo Synchrovine® tendría similares resultados biológicos finales, y menores costos totales que el protocolo Control.

8. CONCLUSIONES

1. No existirían diferencias en ovejas multíparas de raza Merino Australiano en la fecundidad a la IATF para los diferentes momentos del protocolo Synchronvine® comparados (42, 48 y 54 horas pos segunda inyección de PGF2α).
2. El protocolo Synchronvine® presento a la IATF un comportamiento biológico inferior al protocolo Control (progestágeno-eCG).
3. Las pérdidas reproductivas posteriores al reconocimiento materno fueron mayores en el protocolo Synchronvine®.
4. El protocolo Synchronvine® equiparó los resultados biológicos del protocolo Control al final del servicio de IATF mas el servicio repaso.
5. El protocolo Synchronvine® evidenció una inversión menor que el protocolo Control en U\$\$/oveja inseminada, gestante ó feto producido al considerar el servicio de IATF o de IATF mas servicio repaso, cuando el valor de la dosis seminal no supera los 3 U\$\$.
6. Sin embargo, en situaciones de alta inversión genética en el servicio de IATF (valor del semen por ej.) la alternativa que mejor optimiza esta inversión sigue siendo hasta el momento el protocolo Control.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Abecia, J.A.; Sosa, C.; Forcada, F.; Meikle, A. (2006). The effect of undernutrition on the establishment of pregnancy in ewe. *Reprod Nutr Dev*; 46: 367-378.
2. Acritopoulou, S.; Haresign, W. (1980). Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF₂ α given at different stages of the oestrus cycle. *J Reprod Fertil*; 58: 219-233.
3. Acritopoulou, S.; Haresign, W.; Lamming, G.E. (1978). Time of ovulation in ewes after treatment with a prostaglandin F₂ α analogue. *J Reprod Fertil*; 54: 189-191.
4. Ainsworth, L.; Lachance, R.; Labrie, F. (1992). Effects of progestagen treatments and PMSG on the induction of the proovulatory L.H. discharge in ewes. *Anim Reprod Sci*; 5: 281-286.
5. Allison, A.J.; Robinson, J. (1970). The effect of dose level of intravaginal progestogen on sperm transport, fertilization and lambing in the cyclic Merino ewes. *J Reprod Fertil*; 22: 515-531.
6. Araujo, A.; Gamarra, J.; Teixeira, V.; Fierro, S.; Gil, J.; Olivera, J. (2006). Efecto de dos diluyentes y dos tiempos de preservación de semen refrigerado sobre la concepción en IA cervical de ovinos en celo natural. XXXIV Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp. 219-220.
7. Azzarini, M. (1992). Reproducción en ovinos en América Latina. Algunos resultados de la investigación sobre factores determinantes del desempeño reproductivo y su empleo en condiciones de pastoreo. *Prod Ov*; 5: 7-56.
8. Azzarini, M. (1995). Evaluación del efecto de dispositivos intravaginales con progesterona (CIDAR-G) o un progestágeno sintético (MAP), sobre la sincronización del ciclo estral y la fertilidad de ovejas Corriedale en otoño. *Prod Ov*; 8: 61-68.
9. Azzarini, M.; Valledor, F. (1988). Inseminación intrauterina o cervical con semen congelado o fresco en ovejas en celo natural. *Prod Ov*; 1: 1-8.
10. Baril, G.; Remy, B.; Leboeuf, B.; Beckers, J.F.; Saumande, J. (1996). Synchronization of oestrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time occurrence of oestrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*; 45: 1553-1559.
11. Beck, N.F.G.; Davies, B.; Williams, S. P. (1993). Oestrus synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. *Anim Prod*; 56: 207-210.

12. Blache, D.; Hart, K.; Chadwick, A.; Sébé, F.; St Jorre de St Jorre, T.; Poindron, P.; Nowak, R.; Fergusson, D. (2006). Interaction between temperament and reproductive performance. En: Juengel, J.L.; Murray, J.F.; Smith, M.F (ed.). *Reproduction in Domestic Ruminants VI*. pp. 525.
13. Boland, M.P.; Gordon, I.; Kelleher, D.L. (1978). The effect of treatment by prostaglandin analogue (I.C.I. 80996) or progestagen (SC-9880) on ovulation and fertilization in cyclic ewes. *J Agric Sci, (Cambridge)*; 91: 727-730.
14. Bonifacino, L.; Aragunde, M. (1981). Control reproductivo en ovinos. Segunda Comunicación. Terceras Jornadas Veterinarias de ovinos. 27-28 Noviembre. Tacuarembó. pp. 1-13.
15. Braden, A.W.H.; Moule, G.R. (1964). Effects of stress on ovarian morphology and oestrous cycles in ewes. *Aust J Agric Res*; 15:937-949.
16. Brown, G.H. (1988). The statistical comparisons of reproduction rates for groups of sheep. *Aust J Agric Res*; 39: 899-905.
17. Cavestany, D.; Hughes, P.; Cash, R.; Durán de Campo, A. (1987). Consideraciones sobre la anatomía de la cervix ovina y la posibilidad de realizar inseminación artificial intrauterina. En: Bonino, J.; Durán del Campo, A.; Mari, J. (ed.). *Enfermedades de los lanares*, (eds). Ed. Agropecuaria Hemisferio Sur. Tomo III. Montevideo. pp. 173-181.
18. Cognie, Y.; Mauleon, P. (1983). Control of reproduction in the ewe. En: Haresing, W., ed. *Sheep production*. London, Butterworths. pp. 381-392.
19. Colas, G. (1973). Fertilité, prolificité et fécondité pedant la saison sexuelle des brebis inséminées artificiellement après traitement a l'acétate de fluorogestone. *Ann Zoot*; 22: 441-451.
20. Colas, G. (1975). The use of progestagen SC9880 as an aid for artificial insemination in ewes. *Ann Biol Anim Bioph*; 15:317-327.
21. Colas, G. (1983). Factors affecting the quality of ram semen. En: Haresign, W. *Sheep production*. London, Butterworths. pp.453-465.
22. Corteel, J.M.; Leboeuf, B.; Baril, G. (1988). Artificial breeding of goats and kids induced to ovulate with hormones outside the breeding season. *Small Rumin Res*; 1: 19-35.
23. Cumming, I.A.; Buckmaster, J.M.; Blockey, M.A.; Goding, J.R.; Wilfield, G.G.; Baxter, R.W. (1973). Constancy of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. *Biol Reprod*; 9: 24-29.
24. Doney, J.M.; Gunn, R.G.; Griffiths, J.G. (1973). The effect of pre mating stress on the onset of oestrus and ovulation rate in Scottish Blackface ewes. *J Reprod Fertil*; 35: 381-384.

25. Drion, P.V.; Fustoss, V.; Baril, G.; Manfredi, E.; Bouvier, F. (2002). Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reprod Nutr Dev*; 31: 401-412.
26. Durán del Campo, A. (1980a). Mortalidad embrionaria en ovinos con especial referencia a Mortalidad Embrionaria Tardía.-M.E.T. Segunda Jornadas Veterinarias de Ovinos. 14 y 15 Noviembre de 1980. Tacuarembó. Uruguay. pp. 1/g-16/g.
27. Durán del Campo, A. (1980b). Anatomía, Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial en Ovinos. Montevideo. Hemisferio Sur. 264 p.
28. Durán del Campo, A.; Cash Stirling, R.C. (1982). Sincronización de celos en ovinos mediante uso de prostaglandina. Resúmenes del III Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo. pp. 45-353.
29. Durán del Campo, A.; Cavestany, D.; Durán, G. (1993). Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos. Montevideo. Agropecuaria. Hemisferio Sur. pp. 199.
30. Durán Hontou, G. (1993). Oestrus synchronisation. En: Durán del Campo, A. "Manual práctico de Reproducción e Inseminación artificial en Ovinos" [Handbook of Reproduction and Artificial Insemination in Sheep]. Montevideo. Uruguay. Hemisferio Sur. pp.165-174.
31. Edey, T. N. (1969). Prenatal mortality in sheep. A review. *Anim Breed Abstr*; 37: 173-190.
32. Edey, T. N. (1976). Embryo mortality in sheep breeding. En: *Sheep Breeding. Proc Inter Congr Muresk*. pp. 400- 410.
33. Evans, A.C.O.; Duffy, P.; Hynes, N.; Boland, M.P. (2000). Waves of follicle development during the estrous cycle in the sheep. *Theriogenology*; 53: 699-715.
34. Evans, C.; Robinson, T.J. (1980). Reproductive potential and endocrinological responses of sheep kept under controlled lighting. I. Comparative reproductive performance of four breed types of ewes. *Anim Reprod Sci*; 3: 23-37.
35. Evans, G.; Maxwell, C. (1987). En: Evans, G.; Maxwell, C. "Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats". Sydney. Australia. Butterworth. pp. 194.
36. Evans, G.; Maxwell, C. (1990). En: Evans, G.; Maxwell, C. "Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats". Sydney. Australia. Butterworth. pp. 158-161.

37. Farfán, J.; Forero, H.; Grajales, H.; Neira, J. (2004). Effect of two different treatments with progestagens on heat synchronisation in Colombian Creole sheep. Synchronisation of Oestrus and Ovulation.
38. Faure, A.S.; Boshoff, D.A.; Burger, F.J.L. (1983). The effect of whole and halved intravaginal sponges combined with either subcutaneous or intravenous administration of PMSG on synchronization of the estrous cycle of Karakul ewes. *South African J Anim Sci*; 13: 157-160.
39. Fernandez Abella, D. (1995). Control Biotecnológico de la Reproducción en la Oveja. En: Fernandez Abella, D. Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. UDELAR Facultad de Agronomía-Estación experimental Salto. pp. 63-92.
40. Fernández Abella, D.; Castells, D.; Piaggio, L.; Deleón, N. (2006). Estudio de la mortalidad embrionaria y fetal en ovinos. I. Efecto de distintas cargas parasitarias sobre las pérdidas embrionarias y la fecundidad. *Prod Ov*; 18: 25-31.
41. Fernández Abella, D.; Villegas, N. (1995). Inseminación artificial en ovinos. En: Fernandez Abella, D. Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. UDELAR Facultad de Agronomía-Estación experimental Salto. pp. 95-131.
42. Fernández Abella, D.H. (1993). Reproducción y medio ambiente. En: Fernandez Abella, D. Principios de Fisiología Reproductiva Ovina. Montevideo. Universidad de la Republica. Hemisferio Sur. pp. 219-247.
43. Fernández Abella, D.H. (2006). Manual de Inseminación Artificial por vía cervical en ovinos. SUL. Montevideo.
44. Fernández Abella, D.H.; Formoso, D. (2007). Estudio de la Mortalidad Embrionaria y Fetal en Ovinos. II. Efecto de la condición corporal y de la dotación sobre las pérdidas embrionarias y fetales. *Prod. Ov*; 19 :5 –13.
45. Fierro, S.; Gama, S.; Gil, J.; Olivera, J. (2005). Preservación de semen de carnero a 5°C con diferentes diluyentes para la IA en majadas del Proyecto Merino Fino: Resultados in vivo e in vitro. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú. Uruguay. Sección Posters.
46. Folch, J.; Cognié, Y.; Signoret, J.P. (1988). Manipulation and timing of the onset, regular cycles and pregnancy in ewe. *World Review of Animal Production*, Vol. XXIV, N° 2, April-June.
47. Forichi, S.; Olivera, J.; Correa, M.; Gil, J.; Menchaca, A.; Rubianes, E. (2004). Reproductive response to two different oestrus synchronisation protocols using PGF2 α . *Reprod Fertil Develop* 2004. *J Anim Sci*; 16(4): 506.

48. Freitas, V.J.F.; Baril, G.; Saumande, J. (1997). Oestrus synchronisation in goats: use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear implants. *Anim Reprod Sci*; 46: 237-244.
49. Gamarra, J.; Teixeira, V.; Araujo, A.; Fierro, S.; Olivera, J.; Gil, J. (2006). Inseminación Cervical con Semen Congelado en Ovejas Merino Fino. XXXIV Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp. 221-222.
50. Gaston-Parry, O.; Heasman, K.; Nemorin, J.K.E.; Robinson, T.J. (1988). A radioimmunoassay for fluorogestone acetate (FGA) and its application to the measurement of plasma FGA and progesterone in ewes treated with FGA-impregnated intravaginal sponges. *Austr J Biol Sci*; 41: 57-67.
51. Gelez, H.; Lindsay, D.R.; Blache, D.; Martin, G.B.; Fabre-Nys, C. (2003). Temperament and Sexual experience affect female sexual behaviour in sheep. *App Anim Beh Sci*; 84: 81-87.
52. Gil, J. (2003). Inseminación artificial en ovinos. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domésticos Tomo II. Montevideo. Melibea. pp. 319-338.
53. Gil, J.; Olivera, J. (2005). Preservación (refrigeración y congelación) de semen ovino y su uso por vía cervical. XXXIII Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp. 55-67.
54. Gil, J.; Rodríguez-Irazoqui, M.; Lundeheim, N.; Söderquist, L.; Rodríguez-Martínez, H. (2003). Fertility of ram semen frozen in Bioexcell® and used for cervical artificial insemination. *Theriogenology*; 59: 1157-1170.
55. Gil, J.; Rodríguez-Irazoqui, M.; Söderquist, L.; Rodríguez-Martínez, H. (2002). Influence of centrifugation or low extension rays pre-freezing on the fertility of ram semen after cervical insemination. *Theriogenology*; 57: 1781-1792.
56. Gordon, I. (1963). The induction of pregnancy in the anoestrus ewe by hormonal therapy. *J Agri Sci*; 60: 31-75.
57. Gordon, I. (1971). Induction of early breeding in sheep by standard and modified progestagen PMSG treatments. *J Agric Sci*; 76: 337-341.
58. Gordon, I. (1983). Fixed-time sheep artificial insemination. En: Gordon, I. "Controlled Breeding in Farms Animals". Oxford. Pergamon Press; pp.197-208.
59. Gratarola, M. (2004). Proyecto Merino Fino del Uruguay, como integrar conocimientos para producir lana fina. XXXII Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp.74-78.
60. Greyling, J.P.C.; Kotze, W.F.; Taylor, G.J.; Hangendijk, W.J.; Cloete, F. (1994). Synchronization of oestrus in sheep: use of different doses of

- progestogen outside the normal breeding season. South Africa J Anim Sci; 24: 33-37.
61. Griffiths, J.; Gunn, R.; Doney, J. (1970). Fertility in Scottish Blackface ewes as influenced by climatic stress. J Agric Sci, (Cambridge); 75:485-488.
62. Gun, R.; Doney, J. (1973). The effects of nutritional and rainfall at the time of mating on the reproductive performance of ewes. J Reprod Fertil Suppl; 19: 253-258.
63. Hawk, H.W.; Conley, H.H. (1983). Uterine motility and sperm transport in the estrous ewes after prostaglandin induced regression of corpora lutea. J Anim Sci; 37:1380-1385.
64. Hawk, H.W.; Cooper, B.S. (1977). Sperm transport into the cervix of the ewe after regulation of estrus with prostaglandin or progestogen. J Anim Sci; 44: 638-644.
65. Houghton, J.A.S.; Liberati, N.; Schrick, F.N.; Townsend, E.M.; Dailey, R.A.; Inskeep, E.K. (1995). Day of oestrus cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. J Anim Sci; 73: 2094-2101.
66. Ibarra, D.; Lanza, A.; Rubianes, E. (1999). Comparación de tratamientos de sincronización de celos en ovejas Corriedale durante la estación reproductiva. III Simposio Internacional de Reproducción Animal. Cordoba. Argentina. pp. 235.
67. INIA (2008). GRAS. Clima. Normales Climatológicas (estadísticas). Disponible en: <http://www.inia.org.uy/online/site/14552411.php> Fecha de consulta: 24/06/2008.
68. Kleemann, D.O.; Walker, S.K. (2005). Fertility in South Australian commercial Merino flocks: relationships between reproductive traits and environmental cues. Theriogenology; 63(9): 2416-2433.
69. Knight, T.W.; Oldham, C.M.; Smith, J.F.; Lindsay, D.R. (1975). Aust J Exp Agric Anim Husband; 15:183.
70. Langford, G.A.; Marcus, G.I.; Batra, T.R. (1983). Seasonal effects of PMSG and number of insemination on fertility of progestogen-treated sheep. J Anim Sci; 57: 307-312.
71. Lunstra, D.D.; Christenson, R.K. (1981). Fertilization and embryonic survival in ewes synchronized with exogenous hormones during the anestrous and estrous seasons. J Anim Sci; 53: 458-466.
72. Maurel, M.C.; Roy, F.; Hervé, V.; Bertin, J.; Vaiman, D. (2003). Réponse immunitaire à la eCG utilisée dans le traitement de l'induction d'ovulation chez la chèvre et la brebis [Immune response to equine chorionic

gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes.]
Gynecol Obstet Fertil; 31:766-769.

73. Maxwell, W.M.C. (1986). Artificial insemination of ewes with frozen thawed semen at a synchronized oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. Anim Reprod Sci; 10:301.
74. McCracken, J.A.; Glew, M.E.; Scaramuzzi, R.J. (1970). Corpus luteum regression induced by prostaglandin F₂-alpha. J Clin Endocrinol Metab; 30: 544-546.
75. Mederos, A.; Casaretto, A.; Ferreira, G.; Bonono, J.; Scremini, P. (2001). Evaluación de pérdidas productivas debidas a footrot en ovinos. Prod Ov; 14: 65-70.
76. Menchaca, A.; Gil, J.; Olivera, J.; Rubianes, E. (2003b). Efecto de la Condición Corporal previo al Servicio sobre la Fertilidad y Fecundidad en Ovejas Inseminadas Artificialmente. V Simposio de Reproducción Animal. Córdoba. Argentina. pp. 404.
77. Menchaca, A.; Miller, V.; Gil, J.; Pinczac, A.; Laca, M.; Rubianes, E. (2004). Prostaglandin F₂ α treatment associated with Timed Artificial Insemination in ewes. Reprod Dom Anim; 39: 352-355.
78. Menchaca, A.; Rubianes, E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. Reprod Fertil Develop; 16: 403-413.
79. Menchaca, A.; Rubianes, E. (2007). Sincronización de la ovulación en ovejas y cabras. Fisiología y manejo reproductivo en pequeños rumiantes. Instituto de Reproducción Animal de Uruguay-2007, Curso de posgrado. Reproducción en Rumiantes. Montevideo. Uruguay. pp. 23-37
80. Menchaca, A.; Ungerfeld, R.; de Castro, T.; Rubianes, E. (2003a). Tratamientos hormonales para la inducción y sincronización de celos en ovejas y cabras. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domesticos. Tomo II. Montevideo. Uruguay. Melibea. pp. 483-493.
81. MGAP. DICOSE (2006). Faena de ovinos, por categoría, según año (en cabezas) Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/Diea/Anuario2007/pages/DIEA-Anuario-2007-cd_047.html . Fecha de consulta: 24/06/2008.
82. MGAP. DIEA (2007). Existencias de vacunos y ovinos y unidades ganaderas, por año agrícola, según categoría (en miles de cabezas). Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/Diea/Anuarios2007/pages/DIEA-Anuario-2007-cd_040.html Fecha de consulta: 24/06/2008.
83. MGAP. DIEA (2008). Comercio Exterior. Exportaciones de productos seleccionados de origen agropecuario. Año 2007. Disponible en:

84. Montossi, F.; de Barbieri, I. (2007). Proyecto Merino Fino del Uruguay: Una visión con perspectiva histórica. INIA Tacuarembó, Boletín de Divulgación; 90: 311.
85. Montossi, F.; San Julián, R.; de Mattos, D.; Ferreira, G.; Pérez Jones, J. (1998). Producción de lana fina: una alternativa de valorización de la producción ovina sobre suelos superficiales del Uruguay con escasas posibilidades de diversificación. INIA Serie Técnica; 102: 307-315.
86. Moore, N.W.; Holst, P.J. (1967). The evaluation of progesterone and SC-9880 impregnated intravaginal sponges med with PMS for the induction of breedind in the anestrus crossbreed ewe. En: Robinson, T.J., ed. The control of the ovarian cycle in the sheep. Sydney. Sydney University Press. pp.133-143.
87. Motlomelo, K.C.; Greyling, J.P.C.; Schwalbach, L.M.J. (2004). Synchronization of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. Small Rum Res; 45: 45-49.
88. Nari, A.; Cardozo, H. (1987). Enfermedades causadas por parásitos internos. 1. Nematodos gastrointestinales. En: Bonino Morlán, J.; Durán del Campo, A.; Mari, J.J. Enfermedades de los lanares. Eds. Hemisferio Sur. Tomo 1. pp. 155.
89. Newton, J.E.; Betts, J.E. (1966). Factors affecting litter-size in the Scotch draft ewe. 1. Treatment with PMS and progesterone. J Reprod Fertil; 12: 167-175.
90. Nin, A.; Freiria, H. (1993). En: Nin, A.; Freiria, H. Introducción a la gestión de empresas agropecuarias. UDELAR. Facultad de Agronomía. Área de Ciencias Sociales. Cátedra de Administración Rural. Montevideo. Uruguay. pp. 65-72.
91. Olivera, J.; Dighiero, M.; Oliveira, G. (2003). Sincronización de Estros en Ovinos con un Análogo de Prostaglandina F2 α : Viabilidad Productiva y Económica. XXXI Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp. 160-162.
92. Olivera, J.; Gil, J. (2005). Estudio de diferentes alternativas para la sincronización de celos en ovinos: descripción y valorización económica. XXXIII Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp.195-196.
93. Olivera, J.; Gil, J.; Fierro, S.; Alabart, J.L. (2007b). Pérdidas reproductivas entre el no retorno a servicio y la fertilidad a ecografía en ovinos bajo diferentes tecnologías de IA vía cervical. V Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria, 2007. Montevideo, Uruguay.

94. Olivera, J.; Gil, J.; Fierro, S.; Araujo, A.; Filliol, E.; Stoletniy, G. (2007c). Sincronización de celos en ovinos: efecto del intervalo entre dosis de PGF2 α y del momento de IA a tiempo fijo con el protocolo Synchronvine®. XXXV Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp. 330-331.
95. Olivera, J.; Gil, J.; Fierro, S.; Duran, G.; Alabart, J.L. (2007a). Pérdidas embrionarias entre el no retorno al servicio y la fertilidad a ecografía en ovinos bajo diferentes tecnologías de IA. INIA Tacuarembó, Serie de Actividades de Difusión; 523: 54-59.
96. Olivera, J.; Gil, J.; Fierro, S.; Gamarra, J.; Teixeira, V.; Araujo, A.; Stoletniy, G. (2006a). Sincronización de celos para IA a tiempo fijo vía cervical en majadas del Proyecto Merino Fino: comparación de protocolos. INIA Tacuarembó, Serie de Actividades de Difusión; 475: 8-13.
97. Olivera, J.; Gil, J.; Fierro, S.; Menchaca, A. (2006b). Reproducción asistida en Ovinos: avances en Preservación Seminal y Protocolos de IA a Tiempo Fijo”, en: Seminario Discusión Técnica. Estación Experimental “M. A. Cassinoni”-Facultad de Veterinaria-DILAVE Paysandú, Uruguay. pp. 21.
98. Olivera, J.; Gil, J.; Menchaca, A.; Rubianes, E. (2004). Effect of PGF2 α dose on the reproductive response of a timed artificial insemination protocol in sheep. Colonia. Uruguay. *Reprod Fertil Develop*; 16(4):507.
99. Piedra Mora®, (2008). Registro de marca. Dirección Nacional de la Propiedad Industrial. Ministerio de Industria, Energía y Minería. Montevideo, Uruguay. Protocolo de preservación seminal refrigerada anaeróbica en carneros. Olivera, J.; Gil, J.; Fierro, S. Expediente N° 376.971. Clase Internacional 5.
100. Prud'homme, M.J.; Pele, B. (1984). Activité électromyographique de l'utérus chez la brebis pendant la saison sexuelle; comparaison de l'oestrus naturel et l'oestrus induit par les progestagènes seuls ou avec une supplémentation de PMSG. *Reprod Nutri Dev*; 24: 33-44.
101. Quirke, J.F.; Harahan, J.P.; Golsing, J.P. (1981). Duration of oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total oestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lambs. *J Reprod Fertil*; 31: 265-272.
102. Rivera, C. (2002). Márgenes. Costos y Márgenes en Empresas Agropecuarias. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo. pp. 37-47.
103. Roberts, E.M. (1966). The use of intra-vaginal sponges impregnated with 6-Methyl-17-Acetoxyprogesterone (MAP) to synchronise ovarian activity in cyclic Merino ewes. *Procee Australian Soc Anim Prod*; 6: 32-37.
104. Romano, J.E. (2004). Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Rum Res*; 55: 15-19.

105. Roy, F.; Combes, B.; Vaiman, D.; Cribiu, E.P.; Pobel, T.; Deletang, F.; Combarrous, Y.; Guillou, F.; Maurel, M.C. (1999). Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interferece with subsequnt fertility. *Biol Reprod*; 61: 209-218.
106. Rubianes, E.; Menchaca, A.; Carvajal, B. (2003). Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin F2 α . *Anim Reprod Sci*; 78: 47-55.
107. Rubianes, E.; Menchaca, A.; Gil, J.; Olivera, J. (2004). Reproductive performance of a new Timed Artificial Insemination protocol (Synchrovine™) in sheep. *Reprod Fertil Develop*; 16 (4): 508.
108. Rubianes, E.; Ungerfeld, R.; De Castro, T. (1999). Inducción y sincronización de celo en ovejas y cabras. III Simposio de Reproducción Animal. Carlos Paz-Argentina. pp.109-131.
109. Rusell, A.J.F.; Doney, J.M.; Jun, R.G. (1969). Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci*; 72: 451-454.
110. Salamon, S.; Lightfoot, R.J. (1970). Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method III. The effect of the insemination. The effect of the insemination technique, oxytocin and relaxin on lambing. *J Reprod Fertil*; 22: 409-423.
111. Salgado, C. (2004). Producción Ovina: Situación Actual y Perspectivas, Seminario: Producción Ovina. Paysandú, Uruguay. pp.7-13.
112. SAS Institute Inc. (2000). SAS Procedures Guide, Version 8.3, Cary, NC: SAS Institute Inc.
113. Shelton, J.N.; Moore, N.W. (1967). The evaluation of alternative methods of administration of progestagens in the entire cycle ewe. En: Robinson, T.J., (ed.) *The control of the ovarian cycle in the sheep*. Sydney. Sydney University Press. pp.59-75.
114. Sigel, S. (1956). *Nonparametric statistic for the behavioral sciences*. International student edition. pp. 313.
115. Simonetti, L.; Gardón, J.C.; Blanco, M.R.; Anglesio, J.J.; Fassari, P.V. (1999). Presentación y distribución de celos en ovinos tratados con esponjas intravaginales impregnadas con diferentes dosis de MAP. III Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba. Argentina. pp. 230.
116. Soares de Lima, J.; de los Campos, G.; Ciappesoni, G.; Montossi, F.; De Barbieri, I. (2006). ¿Cuanto vale su carnero? Evaluación del impacto económico del uso de reproductores Merino. *Revista INIA*; 9: 2-6.

117. Söderquist, L.; Lundeheim, N.; Nilsson, B. (1999). Assessment of fertility after using different procedures to thaw ram spermatozoa frozen in mini straws. *Reprod Dom Anim*; 34: 61-66.
118. Spencer, T.E.; Bazer, F.W. (2004). Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. *J Anim Sci*. 82 E-Suppl: E4-13.
119. SUL (2006). Uruguay: Estimación de la producción de lana esquilada. Disponible en: <http://www.sul.org.uy/Anuario/ver.asp?pag=anuario/prod.htm>. Fecha de consulta: 24/06/2008.
120. SUL (2008). Liquidación Final Zafra 2007/08. Central Lanera Uruguay. Disponible en: <http://www.sul.org.uy/mercados/clu20072008.pdf>. Fecha de consulta: 13/08/2008.
121. Ungerfeld, R. (2002a). Fisiología del Ciclo Estral. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domésticos Tomo I. Ed. Melibea. pp. 41-55.
122. Ungerfeld, R. (2002b). Endocrinología Reproductiva. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domésticos Tomo I. Ed. Melibea. pp. 31-38.
123. Ungerfeld, R. (2003). Manejo de la Ciclicidad en la Hembra. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales Domésticos Tomo II. Ed. Melibea. pp. 495-504.
124. Ungerfeld, R.; Rubianes, E. (2002). Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rum Res*; 46: 61-66.
125. Van Lier, E.; Hart, K.; Viñoles, C.; Paganoni, B.; Blache, D. (2007). Ovejas Merino calmas tienen más gestaciones múltiples que las nerviosas debido a una mayor tasa ovulatoria (Resultados preliminares). XXXV Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp. 315-317.
126. Viñoles Gil, C.; Milton, J.T.B.; Martin, G.B. (2006). "Focus feeding": Strategy for increasing gamete production and embryo survival in Merino sheep. Australian Society of Animal Production 26 Biennial Conference 2006. Short communication number 93.
127. Viñoles, C.; Paganoni, B.; Milton, M.; Martin, G.B. (2007). El uso de esponjas y eCG en programas de inseminación a tiempo fijo promueve una mejor fertilidad que la prostaglandina. XXXV Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp. 264-265.
128. Viñoles, C.; Rubianes, E. (1998). Origin of the preovulatory follicle after induced luteolysis during the early luteal phase in ewe. *J Anim Sci*; 78: 429-431.

129. Wiley, T.M.; Cárdenas, H.; Pope, W.F. (1997). Effect of the rate of progesterone decline at luteolysis on the ovulatory follicles and subsequent estrous cycle length in ewes. *Anim Rep Sci*; 46:79-87.
130. Wilkins, J.; Croker, K. (1990). Embryonic wastage in ewes. *Reproductive Physiology of Merino Sheep – Concepts and consequences* Eds: C.M. Oldham, G.B. Martin and I.W. Purvis. University of WA. pp. 169-177
131. Wiltbank, M.C.; Niswender, G.D. (1992). Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Anim Reprod Sci*; 28: 103-110.
132. Windsor, D.P. (1997). Variation between ejaculates in the fertility of frozen ram semen used for cervical insemination in Merino ewes. *Anim Reprod Sci*; 47: 21-29.

10. ANEXOS

Cuadro I: Organigrama de trabajo.

| Actividad | |
|-----------------------------|---|
| Actividad 1: 10-22/3 | <ul style="list-style-type: none"> • Evaluación clínica y ecografía de la majada • Examen clínico y evaluación reproductiva de carneros |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Sanidad completa de majada y carneros |
| Actividad 2: 28/3 | <ul style="list-style-type: none"> • Colocación de esponjas (MAP) (Lote 1) • Extracción y evaluación de semen |
| Día 3-03/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Primera inyección de prostaglandina (Lotes 2, 3 y 4) |
| Día 4-10/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Retiro de esponjas + inyección de eCG (7am) • Segunda inyección de prostaglandina (Lote 2) (7am) • Segunda inyección de prostaglandina (Lote 3) (1 pm) • Segunda inyección de prostaglandina (Lote 4) (7 pm) • Extracción y evaluación de semen |
| Día 5-11/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Primera inyección testosterona capones |
| Día 6-12/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Extracción, evaluación y creación del pool de semen con diluyente Piedra Mora • IATF hora (1 pm) (Lotes 1, 2, 3 y 4) |
| Día 7-18/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Segunda inyección testosterona capones |
| Día 8-25/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Tercera inyección de testosterona capones |
| Día 9-26/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Primer día de repaso. Detección de celo natural e IA semen fresco |
| Día 10-27/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Segundo día de repaso. Idem |
| Día 11- 28/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Tercer día de repaso. Idem |
| Día 12-29/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Cuarto día de repaso. Idem |
| Día 13-30/4 | <ul style="list-style-type: none"> • Quinto día de repaso. Idem |
| Día 14-01/5 | <ul style="list-style-type: none"> • Sexto día de repaso. Idem |
| Día 15-02/5 | <ul style="list-style-type: none"> • Séptimo día de repaso. Idem |
| Día 16-03/5 | <ul style="list-style-type: none"> • Octavo día de repaso. Idem |
| Día 17-11/6 | <ul style="list-style-type: none"> • Diagnostico de gestación y determinación del numero de embriones por ecografía (Lotes 1,2,3,4) |