UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

RESPUESTA REPRODUCTIVA A LA IATF DE OVEJAS SINCRONIZADAS CON DOS DOSIS DE UN ANÁLOGO SINTÉTICO DE PGF2α ADMINISTRADO A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO

Por

Carolina Isabel BONINO TECHERA
María Sofia GRELA ALBANES

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

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

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

La P4 circulante juega un papel importante en el recambio folicular de los pequeños rumiantes (Rubianes, 2000), debido a su acción sobre la LH (Figura 2). Cuando los niveles de P4 son altos la LH disminuye su pulsatilidad y el folículo dominante (FD) de la onda deja de producir E2, concluyendo su actividad funcional, comenzando a aumentar nuevamente la FSH y con ello el recambio folicular originándose una nueva onda folicular (Ginther y col., 1995) (Figura 1). También es QHFHVDULR QLYHOHV DOWRV GH 3 GHQRPLQDGR ³SULPLQJ el estro (Ungerfeld, 2002).

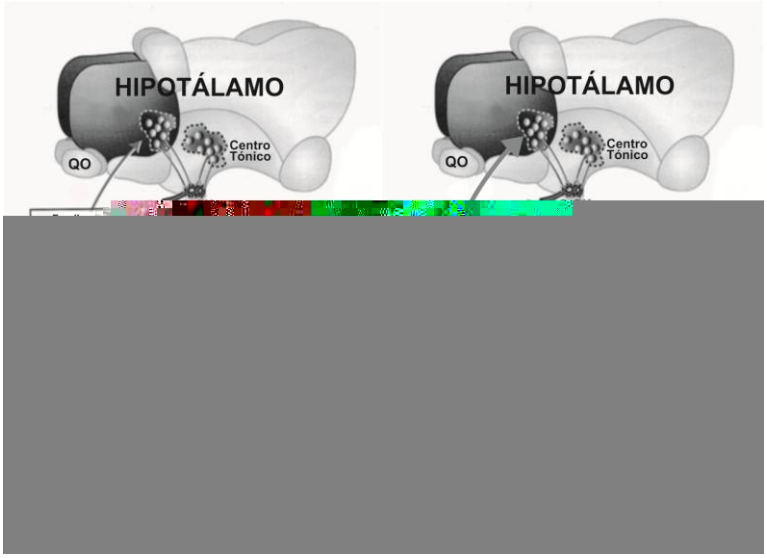

Figura 2. Esquema de la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. (Elaborado en base a Senger, 2005).

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

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

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

La luteólisis (regresión fisiológica del CL) marca el final de la fase luteal, siendo mediada ésta S R U O D 3 *) . H Q H Q Uno de los mecanismos comienzan a decaer los niveles de P4 y de ésta manera comienza a prepararse la ovulación, observándose una mayor pulsatilidad de la LH (Figura 1), debido a que se corta la retroalimentación negativa sobre la secreción de GnRH (Figura 2), elevándose la concentración de E2 proveniente del folículo pre ovulatorio (FPO).

2.3 Inseminación artificial

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

La IA presenta varias ventajas, entre ellas la posibilidad de masificar el uso de reproductores genéticamente superiores para características de interés productivo (diámetro de lana y peso de vellón, peso corporal, conformación, etc.), ya que aumenta la cantidad de hembras que pueden ser cubiertas con el mismo macho (Duran del Campo, 1980; Gil, 2002; Menchaca y Rubianes, 2004; Vilariño y Menchaca, 2007). Desde el punto de vista operativo permite el uso de machos incapacitados físicamente, y permite el transporte del material genético de forma más económica con menores riesgos en el transporte del reproductor. Desde el punto de vista sanitario evita el contacto directo de macho y hembra previniendo la transmisión de enfermedades venéreas (Gil, 2002).

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

2.3.1 Técnicas de inseminación artificial

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

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

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

2.4 Sincronización de estros y ovulaciones en ovinos: protocolos

La IA tradicional a estro visto espontáneo genera un inevitable y prolongado manejo diario de los ovinos en los corrales con el consecuente deterioro sanitario y nutricional de la majada (Olivera y Gil, 2005). La forma de evitar esto es sincronizar los estros y ovulaciones y realizar IATF (sin detección de estros). En los programas de IATF se pueden utilizar diferentes protocolos hormonales de sincronización, ya sea en base a progestágenos asociados a gonadotropinas (P4-eCG), o con el uso de análogos V L Q W p W L F R V G H S U (PG).W D J O D Q G L Q D) .

2.4.1 Protocolos en base al uso de progestágenos asociados a gonadotropinas

Los protocolos con P4 (dispositivos vaginales impregnados en medroxiprogesterona o acetato de fluorogestona) se utilizan tanto en anestro como en la estación reproductiva (Menchaca y Rubianes, 2004). Los mismos simulan la fase luteal de un ciclo estral normal, por lo que la duración del tratamiento es de 12 a 14 días (Gordon, 1999). Sin embargo su duración puede ser reducida con éxito a 5-7 días (S U R W R F R O R Ya qu e R U H W R D ´ G H P R V W U D G R T X H H V V X I L F L H Q W H previo, además de evitar H O S R V L E O H ³ H Q R Y X O D U (P L V L Q W H U H Q G H 3 V D Q J X t Q H D T X H S X H G H R F X U U L U (Viñoles, 2011a), S U R W R asociado en algunos reportes a menores tasas de preñez (Fierro, 2010). Similares resultados se han observado con los protocolos cortos tanto en anestro como en estación reproductiva (Ungerfeld y Rubianes, 1999; Viñoles y col., 2001).

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

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

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

2.4.2 Protocolos en base al uso de prostaglandinas

El uso de estos protocolos está restringido a la estación reproductiva debido a TXH OD 3*) . DFW~D FRPR (Mc Entee y Cox, 1970). Sin embargo, esta hormona presenta la ventaja de que no se acumula en los tejidos, ya que se metaboliza en un 99% en el pulmón (Light y col., 1994), no teniendo tiempo de espera ni residuos que puedan contaminar el ambiente (Davis y col., 1980; Moller-Holtkamp, 1980), requisito cada vez más demandado por los consumidores (Martin y col., 2004). Además se trata de protocolos muy económicos y de fácil aplicación en comparación con los protocolos en base a P4-eCG (Olivera y Gil, 2005).

Para contrarrestar la UiSLGD GHJUDGDFLyQ GH OD 3*) . VH KD análogos sintéticos (Fierro y col., 2013). Se destaca el Clorprostenol por ser PD\RUPHQWH XWLOL]DGR FRQ XQD SRWHQFLD (Binder y col., 1974), debido a sus propiedades más selectivas sobre el CL (Dukes y col., 1974), y su mayor vida media (Baird y Scaramuzzi, 1975). Pocos artículos han reportado el uso de INO 1052 (Delprostenate) (Bonifacino y Aragunde, 1981) a pesar de sus buenos resultados (Fierro y col., 2013) (Cuadro 2). Por otra parte en la etapa luteal temprana el CL parece requerir mayores dosis de PG para producir su lisis, debido a la mayor actividad de la enzima 15-hidroxi prostaglandina deshidrogenasa (Fierro y col., 2013).

Cuadro 2. Diferentes análogos sintético V G H 3 *) . \ V X V U H V S (H E W L Y D V G R V col., 2013).

Análogo sintético	Dosis	Referencia
15-[RS]-metil-13,14-dihidro- 3 *) . 2 1 2 453)	2 mg*	Hughes y col., 1976
ICI 79939	31.2 mg*	Hearnshaw y col., 1974
16-aryloxy prostaglandina (Clorprostenol; ICI 80996)	50 mg*	Baird y Scaramuzzi, 1975
16-aryloxy prostaglandina (Clorprostenol; ICI 80996)	100 mg	Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977
Delprostenate (ONO 152)	40* mg si se aplica una sola inyección 35* mg si se aplican dos inyecciones	Bonifacino y Aragunde, 1981
Dinoprost	10* mg si se aplica dos inyecciones separadas 11 días	Loubser y van Niekerk, 1981

*Dosis mínimas necesarias para producir luteólisis

2.4.3 Respuesta fisiológica posterior a la administración de una PG

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.4.4 Protocolo Synchrovine®

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

Este protocolo denominado Synchrovine® (Rubianes y col., 2004), consiste en la administración de dos dosis de PG separadas 7 días (rango de 6 a 8 días; Menchaca y Rubianes, 2004; Figura 4). Sin conocer el momento del ciclo estral en el cual se administra la primera dosis de PG se induce la luteólisis y la ovulación (en aquellas

ovejas con CL sensible a la PG) a los dos a cuatro días más tarde (Día 0 o día del estro), G D Q G R O X J D U D O D H P H U J H Q F L D G H O/D G V H Q X R P G Q D G R V PG administrada 7 días después, con la mayoría de las ovejas entre el Día 3 a 5 del ciclo estral y el folículo de la Onda 1 en crecimiento, genera una importante sincronización de estros (80% de los animales entre las 24 y 48 horas pos segunda dosis de PG; Menchaca y col., 2004), y una ovulación muy sincronizada (60 ± 1 hora; Rubianes y col., 2003; Contreras-Solis y col., 2009), por lo que permitiría su utilización para IATF. El momento de IA se planteó para la vía cervical y semen sin preservación entre las 42 y 48 horas pos segunda dosis de PG (Menchaca y col., 2004).

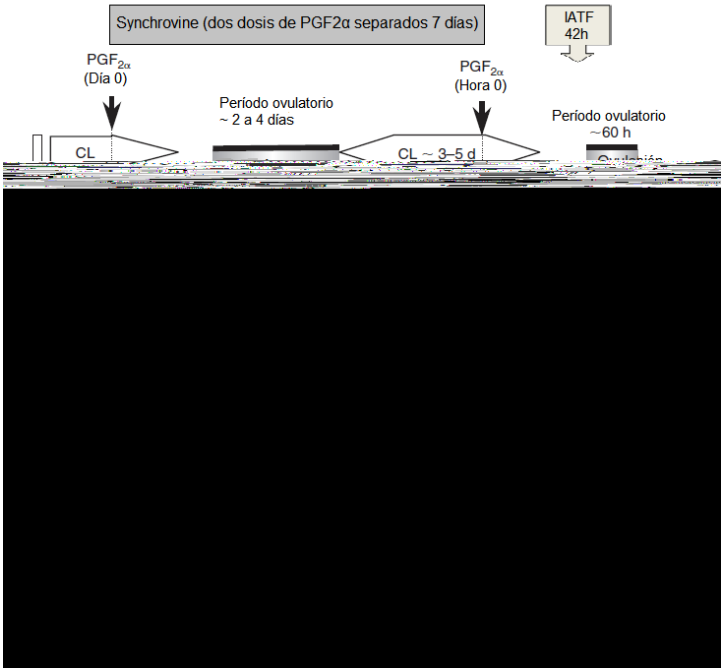

Figura 4. Respuesta al protocolo Synchrovine® según la etapa folicular al momento de la primera dosis de PGF2 . (extraído de Menchaca y Rubianes, 2004).

La figura representa dos situaciones distintas de las ovejas con el folículo mayor en crecimiento (A) o regresión (B). Después de la primera dosis de PGF2 ., la ovulación ocurre entre los dos y cuatro días posteriores (según se esté en situación A o B). El nuevo folículo de la próxima onda folicular emerge alrededor del día de la ovulación (es decir, entre los dos a cuatro días). Cuando la segunda dosis de PGF2 . se administra siete días más tarde, el folículo más grande tiene de tres a cinco días de edad y el cuerpo lúteo (CL) es sensible al tratamiento. Por lo tanto, los folículos ovularan en un periodo sincrónico entre las 48 y 72 h (~60 h). La inseminación a tiempo fijo (IATF) se lleva a cabo 42 horas después de la segunda dosis de PGF2 ..

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

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

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

6 \ Q F K U R Y L Q H Š G R V G R V L V G H 3 *) IA via Cervical con semen fresco; IATF: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; IU: IA intrauterina; SC: semen congelado; SR: semen refrigerado por 24 h; SF: semen fresco; EM: efecto macho; DE: detección de estros; GnRH: 8 µg de Acetato de Buserelina; HD: dosis de 160 g de Delprostenate; LD: dosis de 80 g de Delprostenate. SupPr: suplementación proteica por 6 días entre dosis de 3 *) .. Fertilidad: ovejas gestantes/total de ovejas*100; Prolificidad: embriones/oveja gestante; Fecundidad: embriones/total de ovejas*100.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3. HIPÓTESIS

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

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

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

4.2 Objetivos específicos

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

5. MATERIALES Y MÉTODOS

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

5.1 Manejo animal

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

5.2 Manejo nutricional y sanitario

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

5.3 Diseño experimental

Se conformaron cinco grupos Q94 ovejas/grupo) los cuales fueron sincronizados con dos dosis de PG separadas 7, 10, 12, 14, ó 16 días (grupos PG7, PG10, PG12, PG14 y PG 16 respectivamente; 160 µg Delprostenate/oveja/dosis, Glandinex®, Universal Lab, Uruguay), y clasificados mediante bloqueo por categoría (nulípara ó multípara), CC y PV. Cada grupo contó con 22, 20, 22, 22 ó 23, y 73, 76, 74, 72 ó 75 (ovejas nulíparas y multíparas, grupos PG7, PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente). 6 H G H W H U P L Q y F R P R ' t De se´ realizó la IATF, T X desarrollándose a las 48 (grupo PG7) y a las 56 ± 1,5 h (grupos PG10, PG12, PG14 y PG16) pos segunda PG (Figura 5).

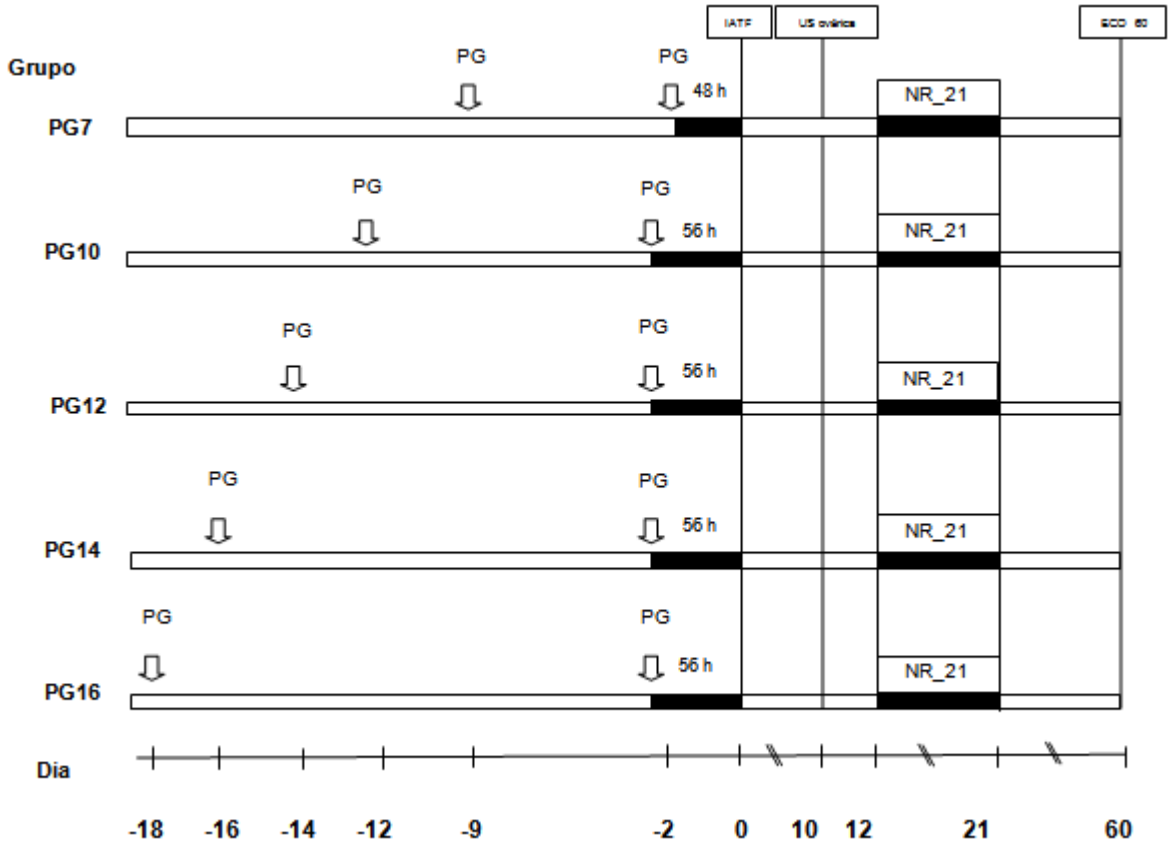

Figura 5. Esquema del diseño experimental.

Grupos PG7, PG10, PG12, PG14 y PG16: ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de 3 *) . g im de Delprostenate/oveja/dosis, PG) a intervalos de 7, 10, 12, 14 ó 16 días, respectivamente. IATF: Inseminación a tiempo fijo (Día 0); US ovárica: ecografía transrectal al Día 10; NR_D21: No retorno al servicio desde el Día 12 al Día 21; ECO 60: Ecografía transabdominal al Día 60.

5.4 Manejo del semen e IA

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

5.5 Variables evaluadas

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

5.6 Análisis estadístico

Se consideró el efecto de la categoría y su interacción con los diferentes protocolos en las variables cuantificadas. Las ovejas que ovularon, el NR_D21 y la fertilidad fueron comparadas mediante el test de Chi Cuadrado; la TO, el nivel ovulatorio, la prolificidad y la fecundidad por el test de Brown, considerando como nivel de significación $P< 0,05$.

6. RESULTADOS

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

Cuadro 6. Respuesta ovárica en ovejas sincronizadas con un análogo sintético de 3 *) . (PG) administrado a diferentes intervalos de tiempo.

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

[a, b] igual columna: P<0.05

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

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

Cuadro 7. Respuesta reproductiva en ovejas sincronizadas con un análogo sintético de 3 *) . (PG) administrado a diferentes intervalos de tiempo.

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

[a, b] igual columna: P<0.05

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

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

7. DISCUSIÓN

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

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

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

En segundo lugar, la tasa de NR-D21, la fertilidad y fecundidad final fueron significativamente superiores en los grupos PG12, PG14 y PG16 respecto a los grupos PG7 y PG10. Es decir, que intervalos mayores entre las dosis de PG (semejantes a una fase luteal de duración más fisiológica), determinaron mejores resultados a la IATF vía cervical con semen fresco. Las diferencias en fertilidad entre grupos se evidenciaron ya al NR_D21, por tanto se produjeron previo ó al momento del reconocimiento materno de la gestación. A priori, y ante la ausencia de diferencias en el porcentaje de ovejas que no ovulan

69. Hafez ESE; Hafez B. (2002). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª ed. South Carolina. Mc Graw-Hill Interamericana. 519 p.

70. Haresign W, Acritopoulou SA. (1978). Controlled breeding in sheep using the prostaglandin analogue, ICI 80996. Livest Prod Sci 5: 313-319.

71. Hawk HW, Conley HH. (1975). Involvement of the cervix in sperm transport failures in the reproductive tract of the ewe. Biol Reprod 13: 322-328.

72. Hawk HW, Cooper BS. (1977). Sperm transport into the cervix of the ewe after regulation of estrus with prostaglandin or progestogen. J Anim Sci 44: 638-644.

73. Hearnshaw H, Restall BJ, Nancarrow CD, Mattner PE. (1974). Synchronization of oestrus in cattle, sheep and goats using a prostaglandin analogue. Aust Soc Anim Prod 10: 242-245.

74. Houghton JAS, Liberati N, Schrick FN, Townsend EC, Dailey RA, Inskeep EK. (1995). Day of oestrus cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. J Anim Sci 73: 2094-2101.

75. Hourcade G, Pechi C. (2014). Desarrollo folicular y momento de ovulación en ovejas sincronizadas con dos dosis de una análogo sintético de prostaglandina administrado a diferentes intervalos. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria Paysandú, Uruguay. 54 p.

76. Hopkins SM, Evans LE. (1991). Inseminación Artificial. En: McDonald LE. Endocrinología Veterinaria y Reproducción. 4ª ed. México. Ed Interamericana. p. 354-378.

77. Hughes F, Lucas JMS, Notman AB. (1976). The synchronization of oestrus and subsequent fertility in ewes following treatment with a synthetic prostaglandin analogue (ONO 453). Prostaglandins 11: 1033-1039.

78. Inskeep EK. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. J. Anim. Sci. 82 (13 suppl): E24-39.

79. Letelier CA, Contreras-Solis I, García-Fernández RA, Sánchez MA, García-Palencia P, Sánchez B. (2011). Effects of oestrus induction with progestagens or prostaglandin analogues on ovarian and pituitary function in sheep. Anim Reprod Sci 126: 61-69.

80. Light JE, Silvia WJ, Reid RC. (1994). Luteolytic effect of prostaglandin F2 alpha and two metabolites in ewes. J Anim Sci 72(10): 2718-21.

81. Liu X, Dal Q, Hart EJ, Duggavathi R, Barrett DM, Rawlings NC, Bartlewski PM. (2006). Ovarian and endocrin H U H V S R Q V H V W R S U R V W D Q G L Q) . Dgm Dal Q G L Q) . the expected time of the endogenous FSH peak at mid-cycle in ewes. Theriogenology 66(4): 811-821.

82. Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A, Santiago-Moreno J, Gomez-Brunet A, Townsend EC, Inskeep EK. (1997). Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes. Anim Reprod Sci 48: 279-291.

83. Loubser PG, van Nieker CH. (1981). Oestrus synchronization in sheep with progesterone-impregnated (MAP) intravaginal sponges and a prostaglandin analogue. Theriogenology 15(6): 547-552.

84. Martin GB, Milton J, Davidson R, Banchero G, Hunzicker G, Lindsay D, Blache D. (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. Anim Reprod Sci 82 ±83: 231 ±246.

85. Maurel MC, Roy F, Hervé V, Bertin J, Vaiman D, Cribiu E, Manfredi E, Bouvier F, Lantier I, Bouep P, Guillou F. (2003). Immune response to equine Chorionic Gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes. Gynecol Obstet Fertil 31(9): 766-769.

86. Maxwell WMC. (1986). Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. Anim Reprod Sci 10(4): 301-308.

87. McCracken J, Glew ME, Scaramuzzi RJ. (1970). Corpus luteum regression induced by prosta J O D Q G L Q) . - & O L eab(3Q(4):R544-546.R O 0

88. McNatty KP, Gibb M, Dobson C, Thurley DC. (1981). Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. J Endocrinol 90: 375-389.

89. McNeilly A.S, Picton HM, Campbell BK, Baird DT. (1991). Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. J Reprod Fertil Suppl 43: 177-186.

90. Meikle A, Sahlin L, Ferraris A, Masironi B, % O D Q F 5 R G U L J X H] -Irazoqui, M, Rodriguez-Piñon M, Kindahl H, Forsberg M. (2001). Endometrial mRNA expression R I R H V W U R J H Q U H F H S W R U . S U R J H V W H U R Q H F H S W R U I U G H F H S W R U I) throughout the bovine oestrous cycle. Anim Reprod Sci 68(1): 45-56.

91. Menchaca A, Miller V, Gil J, Pinczak A, Laca M, Rubianes E. (2004). Prostaglandin F2 . treatments associated with Timed Artificial Insemination in ewes. Reprod Dom Anim 39(5): 352-355.

92. Menchaca A, Rubianes E. (2004). New treatment associated with timed artificial insemination is small ruminants. Reprod Fert Dev 16 (4): 403-413.

93. Menchaca A, Rubianes E. (2012). Avances en el control ovárico en la oveja. Reunión Bianual sobre Reproducción Animal. Temascaltepec de Gonzáles, México, del 4 al 5 de octubre. p. 76-83.

94. Moller-Holtkamp P. (1980). Conceptal e Iliren dos nuevas hormonas para combatir los trastornos de la reproducción en los animales. IV Jornadas Latinoamericanas y VIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. Sección Comunicaciones cortas: p. 5-16.

95. Montossi F. (2010). Entrevista Ing. Agr. Fabio Montossi. Disponible en: www.fucrea.org/información/index.php?TypeId=19&ClassId=101&Id=772. Fecha de consulta: 29 de setiembre de 2013.

96. Montossi F, De Barbieri I, Ciappesoni G, Soares de Lima J, Luzardo S, Brito G, Viñoles C, San Julián R, Silveira C, y Mederos A. (2011). Merino superfino y Merino Dohne: innovaciones tecnológicas para mejorar la competitividad del rubro ovino en sistemas ganaderos extensivos mixtos del Uruguay. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatria: p. 164-175.

97. Olivera J, Gil J. (2005). Estudio de diferentes alternativas para la sincronización de celos en ovinos: descripción y valorización económica. XXXIII Jornadas de Buiatría, 9 al 11 de junio, Paysandú, Uruguay. p. 195-196.

98. Olivera J, Gil J, Fierro S, Gamarra J, Texeira V. Araujo A, Stoletniy G. (2006). Sincronización de celos para la IA a tiempo fijo vía cervical en majadas del Proyecto Merino Fino: comparación de protocolos. Proyecto Merino fino del Uruguay- fase I. 7a entrega de carneros del núcleo I X Q G D F L R Q D O 8 (³ * O H Q F R H ´ ' L V www.inia.org.uy/estaciones/tacuarembo/MerinoWeb/Publicaciones%20pdf/Remate%20entrega%20diadel/SAD475.pdf. Fecha de consulta: 10 de abril de 2014.

99. Olivera-Muzante J, Fierro S, López V, Gil J. (2011a). Comparison of prostaglandin and progesterone based protocols for timed artificial insemination in sheep. Theriogenology 75: 1232-1238.

100. Olivera-Muzante J, Gil J, Fierro S, Menchaca A, Rubianes E. (2011b). Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. Theriogenology 76: 1501-1507.

101. Olivera-Muzante J, Gil J, Viñoles C, Fierro S. (2013). Reproductive outcome with GnRH inclusion at 24 or 36 h following a prostaglandin F2a-based protocol for times AI in ewes. Anim Reprod Sci 138: 175-179.

102. Parr RA. (1992). Nutrition-progesterone interaction during early pregnancy in sheep. Reprod Fertil Dev 4(3): 297-300.

103. Pineda MH. (1991). Patrones reproductivos de ovejas y cabras. En: McDonald LE. Endocrinología Veterinaria y Reproducción. 4ª ed. México. Ed Interamericana. p. 416-435.

104. Presidencia de la República. Uruguay accedió al mercado de carne ovina sin hueso de Estados Unidos. (2013). Disponible en http://www.presidencia.gub.uy/comunicacion/comunicacionnoticias/carne-ovina-estados-unidos . Fecha de consulta: 20 de enero de 2014.

105. Ravindra JP, Rawlings NC. (1997). Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anestrous to the breeding season. J Reprod Fertil 110: 279-289.

106. Revah I, Butler WR. (1996). Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. J Reprod Fertil 106(1): 39-47.

107. Roy F, Combes B, Vaiman D, Cribiu EP, Pobel T, Delétang F, Combarnous Y, Guillou F, Maurel MC. (1999). Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association whit major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. Biol Reprod 61: 209-218.

108. Rubianes E, Castro T, Carbajal B. (1996). Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. Can J Anim Sci 76(3): 473-475.

109. Rubianes E, Ungerfeld R, Viñoles C, Rivero A, Adams GP. (1997). Ovarian response to gonadotropin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. Theriogenology 47: 1479-1488.

110. Rubianes E. (2000). Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. Actas de Fisiología 6: 93-103.

111. Rubianes E, Ungerfeld R. (2002). Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina en América Latina en el marco de las actuales tendencias productivas. Arch Latinoam Prod Anim 10(2): 117-125.

112. Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. (2003). Response of the 1 to 5-day aged R Y L Q H F R U S X V O X W H X P Anim Reprod Sci 78: 97-105. G L Q) .

113. Rubianes E, Menchaca A, Gil J, Olivera J. (2004). Reproductive performance of a New Timed Artificial Insemination protocol (Synchrovine •) in sheep. Reprod Fertil Dev 16(4): 508.

114. Rubianes E, Beard A, Dierschke DJ, Bartlewski P, Adams GP, Rawlings NC. (1997). Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF2a and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. Theriogenology 48: 1093 ±1104.

115. Russel AJF, Doney JM, Gunn RG. (1969). Subjective assessment of body fat in live sheep. J Agric Sci (Cambridge) 72: 451-454.

116. Salgado C. (2011). La competitividad de la producción ovina. Secretariado Uruguayo de la Lana. Disponible en: http://www.sul.org.uy/Plan_estrategico/Presentación%20Artigas%2020-7-2011%20Carlos%20Salgado.pdf. Fecha de consulta: 20/09/13.

117. Scaramuzzi RJ, Adams NR, Baird DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GB, McNatty KP, McNeilly AS, Tsonis CG. (1993). A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. Reprod Fertil Dev 5: 459-478.

118. Schiewe MC, Howard JG, Goodrowe KL, Stuart LD, Wildt DE. (1990). Human Menopausal Gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo recovery after prostaglandin F2a synchronization is compromised by premature luteal regression. Theriogenology 34: 469-486.

119. Seekallu SV, Tossi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, Rawlings NC. (2010). Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. Theriogenology 73: 670-680.

120. Senger PL. (2005). Pathways to pregnancy and parturition. 2ª ed. Washington. Current conceptions 373 p.

121. Sirois J, Fortune JE. (1990). Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. Endocrinology 127: 916-925.

122. Sosa C, Abecia JA, Forcada F, Meikle A. (2008). Undernutrition reduces the oviductal mRNA expression of progesterone and oestrogen recep- tors in sheep. Vet J 175: 413-415.

123. Souza CJ, Campbell BK, Barid DT. (1996). Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. J Reprod Fertil 108(1): 101-106.

124. Souza CJ, Campbell BK, Baird DT. (1997). Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. Biol Reprod 56: 483-488.

125. Stacy BD, Gemmel RRT, Thorburn GD. (1976). Morphology of the corpus luteum in the sheep during regression induced by prostaglandinF2a. Biol Reprod 14: 280-291.

126. Stock AE, Fortune JE. (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. Endocrinology 132(3): 1108-1114.

127. Thimonier J. (1979). Hormonal control of oestrous cycle in the ewe (a review). Livest Prod Sci 6: 39-50.

128. Ungerfeld R, Rubianes E. (1999). Effectiveness of short-therm progestagen primings of the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anestrus. Anim Sci 68: 349-353.

129. Ungerferd R. (2002). Reproducción en Animales Domésticos. Montevideo, Ed. Melibea, Vol I, 291 p.

130. Ungerfeld R, Menchaca A, de Castro T, Rubianes E. (2002). Tratamientos hormonales para la inducción y sincronización de celos en ovejas y cabras. En: Ungerfeld (2002). Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Ed. Melibea, V 2, p. 483-493.

131. Vilariño M, Menchaca A. (2007). Inseminación artificial en pequeños rumiantes. Fisiología y manejo reproductivo en pequeños rumiantes. Instituto de Reproducción Animal de Uruguay-2007, Curso de posgrado. Reproducción en Rumiantes. Montevideo. Uruguay. p. 41-51.

132. Viñoles C, Rubianes E. (1998). Origin of the preovulatory follicle after induced luteolysis during the early luteal face in ewes. Canadian J Anim Sci 78: 429-431.

133. Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. (1999). The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. Theriogenology 51: 1351-1361.

134. Viñoles C, Forsberg M, Banchero G, Rubianes E. (2001). Effects of long-therm and short-therm progestagen treatments on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. Theriogenology 55(4): 993-1004.

135. Viñoles C, Forsberg M, Banchero G, Rubianes E. (2002). Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. Anim Sci 74: 539-545.

136. Viñoles C, González de Bulnes A, Martin GB, Sales F, Sale S. (2010). Sheep and Goats. En: Colloton J; Gnemi G. Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography. Iowa. Ed. Luc DesCoteaux. p. 181-210.

137. Viñoles C, Paganoni B, Milton JTB, Driacourt MA, Martin GB. (2011). Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronisation with prostaglandin, sponges or sponges whit bactericide. Anim Prod Sci 51(6): 565-569.

138. Viñoles C. (2011a). Avances en la sincronización de celo y ovulación en la oveja. Spermova 1(1): 95-97.

139. Viñoles C. (2011b). Regulación de la foliculogénesis y de la tasa ovulatoria en la oveja. Spermova 1(1): 92-94.

140. White LM, Keisler DH, Dailey RA, Inskeep EK. (1987). Characterization of ovine follicles destined to form subfunctional corpora lutea. J Anim Sci 65: 1595-1601.