

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DESARROLLO FOLICULAR Y MOMENTO DE OVULACIÓN EN
OVEJAS SINCRONIZADAS CON DOS DOSIS DE UN
ANÁLOGO SINTÉTICO DE PROSTAGLANDINA F2 α
ADMINISTRADO A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO**

POR

**HOURCADE Graciana
PECHI Cindy**

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

PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de mesa
Dra. Carolina Viñoles

Segundo miembro (tutor)
Dr. Sergio Fierro Fernández

Tercer miembro
Dra. Daniela Crespi

Cuarto miembro (co-tutor)
Dr. Julio Olivera Muzante

Fecha 27 de Junio de 2014

Autores
Br. Graciana Hourcade Azanza

.....
Br. Cindy Pechi Santana

AGRADECIMIENTOS

- A nuestro tutor el Dr. Sergio Fierro y a nuestro cotutor el Dr. Julio Olivera por su ayuda en la realización de este trabajo.
- Al Dr. Jorge Gil por sus aportes.
- A la Dra. Carolina Viñoles por su aporte en la realización de la evaluación estadística.
- Al personal de campo de la EEMAC, en especial al “Pancho”, al “Ñato” y a “Julito” por ayudarnos en el trabajo de campo y por tantos buenos momentos compartidos.
- A nuestras familias, en especial a nuestros padres y hermanos, por su apoyo incondicional.
- A nuestras compañeras Carolina Bonino y Sofia Grela por su ayuda y por todos aquellos momentos vividos juntas en este proceso.
- Al personal de Biblioteca por facilitarnos vía mail el material necesario para escribir esta tesis.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY	7
1. INTRODUCCIÓN	8
2. ANTECEDENTES	9
2.1 Fisiología reproductiva ovina:	9
2.1.1 Ciclo estral y desarrollo folicular:	10
2.2 Métodos de sincronización de estros y ovulaciones en ovinos:	14
2.2.1 Métodos naturales:	14
2.2.2 Métodos hormonales:	15
2.2.3 Progesterona y/o progestágenos:	15
2.2.4 Prostaglandina F2 α y sus análogos sintéticos:	17
2.2.5 Respuesta fisiológica posterior a la administración de una PG:.....	21
2.2.6 Prostaglandina e Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF):	22
2.2.7 Modificaciones realizadas a los protocolos en base a PG:	24
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS	28
4. ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN	29
5. MATERIALES Y METODOS	30
5.1 Animales:.....	30
5.2 Manejo nutricional:	30
5.3 Manejo sanitario:	30
5.4 Diseño experimental:.....	31
5.5 Respuesta estral:	32
5.6 Evaluación reproductiva inicial, determinación del diámetro folicular y momento de ovulación:	32
5.7 Evaluación estadística:	33
6. RESULTADOS.....	33
7. DISCUSIÓN	35
8. CONCLUSIONES	38
9. BIBLIOGRAFÍA	39

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros		Página
Cuadro 1	Inicio y finalización de la estación de cría para distintas razas ovinas presentes en Uruguay (Fernández-Abella, 1993).	10
Cuadro 2	Diferentes análogos sintéticos de PGF2 α y sus respectivas dosis.	18
Cuadro 3	Intervalo de tiempo (h), entre la administración de la segunda inyección de un análogo sintético de PGF2 α (PG) y el inicio del estro (PG-IE), y el momento de ovulación, en ovejas sincronizadas con un régimen de doble inyección de PG a diferentes intervalos entre los tratamientos (adaptado de Fierro y col., 2013).	20
Cuadro 4	Resultados reproductivos (fertilidad y prolificidad) en ovejas sincronizadas con doble inyección de un análogo sintético de PGF2 α (PG) a diferentes intervalos de tiempo (adaptado de Fierro y col., 2013).	23
Cuadro 5	Resultados reproductivos obtenidos con varios protocolos utilizando un análogo sintético de PGF2 α (PG), modificados con el objetivo de mejorar los mismos (adaptado de Fierro y col., 2013).	25
Cuadro 6	Modificaciones realizadas al protocolo Synchrovine® (dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α separadas 7 días) y sus resultados de fertilidad (%) y prolificidad.	27
Cuadro 7	Porcentaje y frecuencia (entre paréntesis) de ovejas que demostraron estro luego de la administración de la primera dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG), de la segunda, de ambas dosis, o que no respondieron a la PG.	34
Cuadro 8	Intervalo (h) entre la segunda dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG) y el inicio del estro (PG-estro), diámetro folicular máximo y final del folículo preovulatorio, tasa de crecimiento folicular, e intervalo PG-ovulación, en ovejas sincronizadas con protocolos en base a dos inyecciones de PG administradas cada 10, 12, 14 o 16 días (grupos PG-10, PG-12, PG-14 y PG-16 respectivamente). Los resultados están expresados como medias \pm DE.	34

Figuras		Página
Figura 1	Esquema del crecimiento folicular en ondas en la oveja (Fierro, 2010).	13
Figura 2	Esquema de la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.	14
Figura 3	Esquema del diseño experimental.	31

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el desarrollo folicular y el momento de ovulación generado por la aplicación de protocolos de sincronización de estros y ovulaciones basados en el uso de un análogo sintético de PGF₂ α (PG), utilizando diferentes intervalos de separación entre dosis. El experimento fue llevado a cabo en la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni (EEMAC, 32° S – 58° W), durante la estación reproductiva (meses de marzo a mayo). Se utilizaron 21 ovejas multíparas y 3 nulíparas, raza Corriedale, semiestabuladas, asignadas por categoría, estado corporal y peso vivo a cuatro protocolos de sincronización de estros: dos dosis de PG (Delprostenate, 160 μ g) separadas 10, 12, 14 ó 16 días (PG-10, PG-12, PG-14 y PG-16, respectivamente; n=6 ovejas/grupo). Se evaluó la respuesta estral (ovejas en estro e intervalo PG-estro) cada 12 horas post segunda PG mediante el uso de cuatro capones androgenizados, se determinó el diámetro folicular máximo (mm) y el diámetro folicular final (mm) alcanzado, la tasa de crecimiento folicular (mm/día), y el momento de ovulación (horas) de él o los folículos en crecimiento mediante ecografía trans-rectal cada 24 horas a partir del Día -1 (Día 0 = día de administración de la segunda PG) hasta el momento de inicio del estro, y luego cada 12 horas hasta el momento de la ovulación. La respuesta estral (PG-10: 100%, PG-12: 100%, PG-14: 83% y PG-16: 100%), el intervalo PG- inicio del estro (PG-10: 50,0 \pm 6,0; PG-12: 44,0 \pm 4,9; PG-14: 37,2 \pm 23,4; y PG-16: 44,0 \pm 15,9 h; medias \pm DE), el diámetro folicular máximo (PG-10: 6,3 \pm 0,5; PG-12: 6,5 \pm 0,8; PG-14: 6,2 \pm 0,4; y PG-16: 6,5 \pm 1,2), el diámetro folicular final (PG-10: 6,0 \pm 0,9; PG-12: 6,3 \pm 0,8; PG-14: 6,0 \pm 0,7; y PG-16: 6,3 \pm 1,0), la tasa de crecimiento (PG-10: 0,7 \pm 0,4; PG-12: 1,0 \pm 0,5; PG-14: 1,1 \pm 0,7; y PG-16: 1,3 \pm 0,5), y el momento de ovulación (PG-10: 72,0 \pm 6,6; PG-12: 70,0 \pm 6,2; PG-14: 58,8 \pm 21,8; y PG-16: 64,0 \pm 9,0) fueron similares entre los grupos evaluados (P>0,05). Se concluye, que en nuestras condiciones de experimentación la aplicación de dos dosis de PG administradas a intervalos de 10, 12, 14 ó 16 días no genera diferencias en respuesta estral, intervalo PG- inicio del estro, diámetro folicular máximo y final, tasa de crecimiento folicular y/o momento de ovulación.

SUMMARY

The aim of this experiment was to determine the follicular development and the ovulation time obtained after the application of different estrous synchronization protocols based on the use of a synthetic analogue of PGF₂ α (PG), using different intervals between doses. The experiment was carried out at the “Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni” (EEMAC, 32° S - 58° W) during the breeding season (March to May). Nulliparous (3) and multiparous (21) Corriedale ewes were assigned by category, body condition and live weight to four synchronization protocols, two PG doses (Delprostenate , 160 μ g) were given 10, 12 , 14 or 16 days apart (PG-10, PG-12, PG-14 and PG-16 respectively; n=6 animals/group). Estrous response (ewes in estrous and interval PG-estrous) was measured every 12 hours after the second PG using four androgenized wethers, the maximum and final follicular diameter (mm), the follicular growth rate (mm/day), and the time of ovulation (hours) of the growing follicles were determined by transrectal ultrasonography every 24 hours from Day -1 (Day 0=day of administration of the second PG) until the estrous onset, and then every 12 hours until the time of the ovulation. The estrous response (PG-10: 100 %, PG-12: 100%, PG-14: 83% and PG-16: 100%), the interval PG-estrous (PG-10: 50,0 \pm 6,0; PG-12: 44,0 \pm 4,9; PG-14: 37,2 \pm 23,4; and PG-16: 44,0 \pm 15,9 h; average \pm DE), the maximum follicular diameter (PG-10: 6,3 \pm 0,5; PG-12: 6,5 \pm 0,8; PG-14: 6,2 \pm 0,4; and PG-16: 6,5 \pm 1,2), the final follicular diameter (PG-10: 6,0 \pm 0,9; PG-12: 6,3 \pm 0,8; PG-14: 6,0 \pm 0,7; and PG-16: 6,3 \pm 1,0), the growth rate (PG-10: 0,7 \pm 0,4; PG-12: 1,0 \pm 0,5; PG-14: 1,1 \pm 0,7; and PG-16: 1,3 \pm 0,5), and the ovulation time (PG-10 : 72,0 \pm 6,6; PG-12: 70,0 \pm 6,2; PG-14: 58,8 \pm 21,8; and PG-16: 64,0 \pm 9,0) were similar among the tested groups ($P > 0.05$). We conclude that in our experimental conditions two doses of PG administered 10, 12, 14 or 16 days apart do not generate differences in estrous response, interval-PG estrous, maximum and final follicular diameter, follicular growth rate and ovulation time.

1. INTRODUCCIÓN

La explotación de la especie ovina siempre tuvo gran importancia económica y social para el país (Bonino, 2004). Si bien el stock ovino ha sufrido una marcada y constante disminución a lo largo de los últimos 20 años, partiendo de 25.000.000 cabezas (año 1990) y siendo actualmente de 8.663.000 (DI.CO.SE, 2013), en los últimos años se ha observado un incremento del mismo (15% desde el 2010). Por otra parte la rentabilidad del sector ha percibido un aumento significativo tanto en el rubro lana como en la producción de carne (SUL, 2013), estimulando a los productores a maximizar la eficiencia de los recursos disponibles para incrementar los ingresos del establecimiento por concepto de este rubro.

Para todo sistema de producción ovina es esencial obtener buenos niveles de fertilidad y prolificidad de modo de aumentar los ingresos e incrementar el progreso genético (Fernández-Abella, 1995). La inseminación artificial (IA) es una herramienta aun poco difundida en nuestro país, aproximadamente 360.000 ovejas de cría (menos del 8% del stock) son inseminadas por zafra (Fernández-Abella, comunicación personal). Esta técnica plantea dos grandes ventajas: una económica y otra zootécnica. La primera deriva del menor uso de carneros padres, y la segunda proviene del mejoramiento de una o varias cualidades genéticas de la progenie, logrando mayor avance genético y homogeneidad en la majada (Durán del Campo, 1980). A pesar de ello, la técnica de IA tal cual se la concibe hoy supone algunos inconvenientes tales como la detección de estros una o dos veces por día durante extensos períodos de tiempo, lo cual requiere de más trabajo y mano de obra, teniendo implicancias directas sobre el manejo nutricional y el riesgo sanitario, siendo este un aspecto muy importante en países que tienen presencia de enfermedades enzoóticas, por ejemplo foot rot (Menchaca y Rubianes, 2004). Estas desventajas quizás sean las grandes limitantes a su expansión.

La IA a tiempo fijo (IATF) presenta diversas ventajas en comparación con la IA tradicional a estro visto, permitiendo inseminar en un mismo día un alto número de hembras siendo innecesaria la detección de estros. Además optimiza el uso de reproductores de alto valor genético (permitiendo a varios productores utilizar un mismo reproductor durante la estación reproductiva), incrementando la difusión de material genético de alto valor (Fierro, 2010). Por otra parte facilita la planificación de los recursos

nutricionales, sanitarios y de mano de obra (Martin y col., 2004). La concentración de servicios en un día determinará un período de partos concentrados en un intervalo de 13 días, donde un 86% de los corderos nacerían entre los 6 a 11 días posteriores al nacimiento del primer cordero (Fierro, comunicación personal). Esto facilitaría el control de la parición, la nutrición periparto, la obtención de corderos de peso y edad uniforme, componentes fundamentales para aumentar la eficiencia productiva y económica de una majada (Martin y col., 2004).

La IATF está difundida principalmente a nivel de cabañas (algo más de 90.000 ovejas inseminadas por zafra; Fernández-Abella, comunicación personal). Sin embargo, es una biotecnología reproductiva escasamente utilizada por los productores de majadas generales. La obtención de un protocolo hormonal que induzca una alta sincronización de los estros y de las ovulaciones, que obtenga buenos resultados reproductivos, que provoque mínima contaminación ambiental, y que sea más práctico y de bajo costo, sería una alternativa para incrementar su uso (Fierro, 2010; Olivera-Muzante y col., 2011a).

2. ANTECEDENTES

2.1 Fisiología reproductiva ovina:

Las ovejas son poliéstricas estacionales (presentan varios estros durante una determinada estación), siendo esta estacionalidad regida por el fotoperiodo, comenzando la estación reproductiva cuando los días se hacen más cortos, naciendo sus crías de esa forma en el momento más favorable del año, la primavera (Hafez y col., 2002). Sin embargo, bajo un mismo ambiente, existen algunas diferencias en cuanto al inicio de la estación reproductiva para las razas que existen en nuestros sistemas de producción (Cuadro 1).

Cuadro 1. Inicio y finalización de la estación de cría para distintas razas ovinas presentes en Uruguay (Fernández-Abella, 1993).

Raza	Comienzo estación reproductiva	Fin estación reproductiva
Merino	Setiembre – Octubre	Junio – Julio
Ideal y Merilín	Octubre – Noviembre	Junio – Julio
Corriedale y Hampshire Down	Diciembre – Enero	Junio – Julio
Ile-De-France y Romney Marsh	Enero – Febrero	Junio – Julio
Lincoln y Texel	Febrero – Marzo	Junio – Julio

2.1.1 Ciclo estral y desarrollo folicular:

La duración del ciclo estral de la oveja es de 17 días en promedio, abarcando un rango de 15 a 19 días (Ungerfeld, 2002). Se pueden diferenciar dos etapas: la *fase folicular* que se caracteriza hormonalmente por la secreción de estradiol (E2) por parte de los folículos dominantes (Evans y col., 2000; Evans, 2003), y la *fase luteal* caracterizada por los altos niveles de progesterona (P4) generados por el cuerpo lúteo (CL) (Hansel y Convey, 1983) (Figura 1).

En cuanto al método de estudio del desarrollo folicular ovárico de la oveja, puede dividirse en dos etapas muy diferentes entre sí. Inicialmente los estudios eran en base a laparoscopías exploratorias seriadas o estudios de material de frigorífico (Smeaton y Robertson, 1971; Brand y de Jong, 1973; Driancourt y col., 1985; Noël y col., 1993), siendo posteriormente suplantado por la incorporación de la ultrasonografía transrectal como técnica repetible no invasiva (Schrick y col., 1993; Ginther y Kot, 1994; Ravindra y col., 1994; Rubianes y col., 1996). Una alternativa para realizar ésta técnica es colocar a la oveja en la posición de “estación” en un cepo que garantice su correcta sujeción, realizar el vaciado del recto manualmente e introducir 25-30 cc de carboximetilcelulosa para facilitar la introducción del vástago y mejorar la difusión de la onda de ultrasonido (Viñoles y col., 2010).

Gracias a la información generada se ha determinado que la oveja presenta un desarrollo folicular en ondas, en número de 2 a 5 ondas por ciclo interovulatorio, siendo el promedio de 3 ondas foliculares (Ginther y col., 1995; Leyva y col., 1998; Bartlewsky y col., 1999; Viñoles y col., 1999a; Evans y col., 2000). Existe una relación estrecha entre la nutrición y la dinámica folicular, teniendo las ovejas con buena condición corporal (CC: 4,1; escala 1 a 5, Russell y col., 1969) mayor número de ondas por ciclo que aquellas con una CC baja (1,9; Viñoles y col., 2002). Las ondas de desarrollo folicular emergen aproximadamente los Días 0 (Día del estro), 6 y 11 del ciclo estral (Menchaca y Rubianes, 2012) (Figura 1).

Durante cada onda folicular se diferencian varias etapas. En primer lugar, un aumento de la hormona folículo estimulante (FSH) precede a la emergencia de cada onda, dando lugar al “*reclutamiento folicular*” de aquellos folículos primordiales sensibles a la FSH (Ungerfeld y col., 2002). Éstos folículos sintetizan inhibina la cual produce retroalimentación negativa sobre la síntesis de FSH (González-Bulnes y col., 2004), limitando el reclutamiento de más folículos (McNeilly y col., 1991). Los folículos reclutados continúan creciendo, cambiando su dependencia a otra gonadotropina, en éste caso a la hormona luteinizante (LH), fenómeno denominado “*selección folicular*”, donde un folículo (el “folículo dominante”) continúa creciendo a diferencia de los demás (Ginther, 2000). Mientras crece, este folículo dominante sintetiza E2 (produce el 90% de los estrógenos circulantes; Mann y col., 1992), que inhibe los niveles de FSH, impidiendo el reclutamiento de otros folículos de la misma onda. De esta manera se limita la cuota ovulatoria (Baird, 1983). Además, la producción pulsátil de LH estimula la producción de E2 (McNatty y col., 1981; Campbell y col., 1999; Driancourt, 2001).

El folículo dominante mantiene una tasa de crecimiento de 1 mm/día, alcanzando su máximo tres días luego de la emergencia de la onda (Viñoles y col., 2001). Si esta sucesión de eventos se originan en un ambiente con altos niveles de P4, ésta inhibe la frecuencia e intensidad de los pulsos de LH (retroalimentación negativa sobre el hipotálamo durante la fase luteal, inhibiendo la liberación de GnRH y de gonadotropinas), el folículo dominante detendrá la producción de E2 finalizando su dominancia e ingresando a la atresia folicular. La FSH aumenta nuevamente estimulando la emergencia de una nueva onda folicular “*recambio folicular*” (Ginther y col., 1995). En torno a los días 12 - 14 del ciclo estral, se produce la luteolisis (regresión del CL en base a liberación

de $\text{PGF2}\alpha$ endometrial; Ungerfeld, 2002), determinando una disminución brusca de los niveles de P4 (McCracken y col., 1970), liberando la inhibición de esta hormona sobre la pulsabilidad de la LH. El folículo dominante prosigue su crecimiento y producción de E2 a partir de los pulsos de LH, la hembra demuestra comportamiento estral, la LH y los E2 se retroalimentan positivamente, se produce el pico preovulatorio de LH, dando lugar a la ovulación (Baird, 1978; Duggavathi y col., 2005) del folículo preovulatorio (FPO: de diámetro de 4 mm o más; Menchaca y Rubianes, 2012) (Figura 2).

El fenómeno de dominancia folicular está caracterizado por la divergencia en el crecimiento entre el folículo mayor y el segundo mayor, y por una disminución en el crecimiento de folículos pequeños relacionada al crecimiento del folículo mayor (Viñoles y col., 1999b; Ungerfeld y col., 2002). Este fenómeno es menos notorio durante la fase luteal, mientras que es máximo durante la fase folicular (Evans y col., 2000; González-Bulnes y col., 2001). El número total de folículos mayores a 2 mm de diámetro disminuye a medida que el folículo mayor se va desarrollando, el número de folículos pequeños vuelve a aumentar solamente cuando este folículo mayor comienza a regresar y una nueva onda folicular emerge (Viñoles y col., 1999a). Sin embargo, en la oveja existe el fenómeno de codominancia lo que determina la posibilidad de que existan ovulaciones múltiples (Scaramuzzi y col., 1993). En la mayoría de los casos en que ocurre la ovulación de más de un folículo, los mismos pertenecen a la misma onda folicular, y las ovulaciones ocurren en un intervalo menor a 12 horas (Menchaca y Rubianes, 2012).

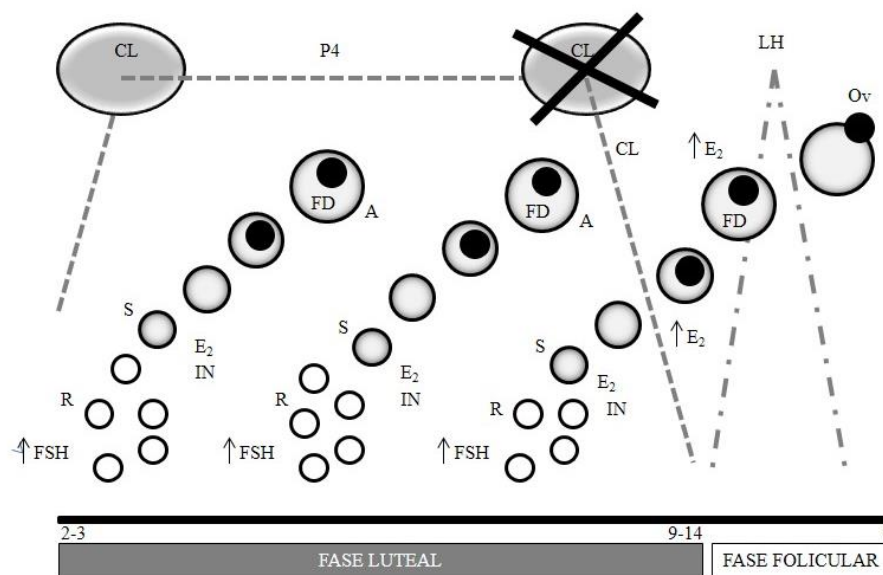


Figura 1: Esquema del crecimiento folicular en ondas en la oveja (Fierro, 2010).

CL: cuerpo lúteo; P4: progesterona; FSH: hormona folículo estimulante; LH: hormona luteinizante; S: selección folicular; FD: folículo dominante de la onda folicular; A: atresia (en presencia de altos niveles de P4, el FD de esa onda se atresia, se produce el recambio folicular -R-, y una nueva onda comienza con un pico previo de FSH, el cual se produce en presencia del FD de la onda anterior); IN: inhibina; E2: 17 β – estradiol; el FD secreta E2, por retroalimentación positiva se libera LH y se genera el pico preovulatorio de LH, el cual dará lugar a la ovulación (Ov) del o los FD.

Luego de ocurrida la ovulación las células foliculares se diferencian a células luteales que producen P4 (Murphy, 2000; Weems y col., 2006). La producción y liberación de P4 por el CL es mantenida y regulada por las hormonas denominadas luteotrópicas, entre las que se incluyen LH, prolactina y E2 (Díaz y col., 2002; Niswender, 2002).

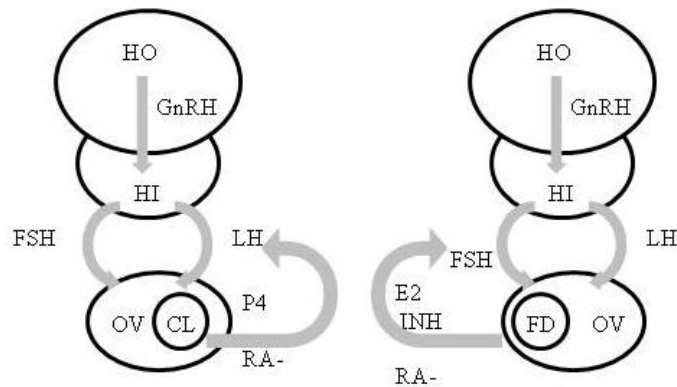


Figura 2. Esquema de la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. HO: hipotálamo; HI: hipófisis; OV: ovario; RA-: retroalimentación negativa; CL: cuerpo lúteo; P4: progesterona; FD: folículo dominante; E2: 17 β – estradiol; INH: inhibina. El HO libera GnRH, esta hormona actúa en la HI 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 LH; el FD secreta E2 e INH que producen una retroalimentación negativa sobre la síntesis de FSH.

2.2 Métodos de sincronización de estros y ovulaciones en ovinos:

Los métodos de sincronización de estros y ovulaciones en ovinos pueden ser clasificados como naturales u hormonales (Ungerfeld, 2002).

2.2.1 Métodos naturales:

La técnica de bioestimulación se basa en la inducción de la ovulación en ovejas que se encuentran en anestro mediante el contacto con un macho sexualmente activo (Shelton, 1960). Esta introducción induce una serie de cambios neuroendocrinos que comienzan 50 horas posteriores al contacto y que concluyen en una ovulación (Martin y col., 1986). Esta respuesta se ha visto tanto en anestro estacional como en anestro por lactación y prepuberal (Mauléon y Dauzier, 1965; Poidron y col., 1980). Martin y col. (1986) sostienen que una condición absolutamente necesaria es el aislamiento de cuatro semanas como mínimo de machos y hembras, sin embargo estudios posteriores sugieren que dicho aislamiento no es necesario cuando los machos que ingresan son nuevos (Pearce y Oldham, 1988; Knight y col., 1998; Delgadillo y col., 2009; Hawken y Beard, 2009). Recientemente ha sido reportado que la bioestimulación genera un estímulo en la

secreción de LH y modificaciones en la distribución de los estros durante la estación reproductiva (Delgadillo y col., 2009).

La duración de la exposición de las hembras a los machos determina diferentes respuestas estrales. Signoret y col. (1982) determinaron que un 20% de las ovejas ovula cuando son expuestas a los machos por un período de 24 horas, incrementándose este porcentaje a 51% cuando la exposición fue de cuatro días y a 61% cuando la exposición se prolongó a 13 días.

La descarga de LH y la ovulación ocurre entre las 30 y 72 horas posteriores al contacto de las hembras con los machos (González-Bulnes y Contreras-Solís, 2012). En la mitad de las ovejas los CLs formados luego de la ovulación tienen una duración y una función normal, siendo el ciclo posterior de normal duración; luego de la introducción del macho (18 a 19 días) se produce una segunda ovulación (acompañada de estro). En el resto de los animales los CLs formados no solo presentan una menor duración (7 días) sino que además su función es anormal; se da una segunda ovulación (ocasionalmente sin presentar estro) y una tercera ovulación (con estro fértil) 25 días posterior a la introducción de los machos (Corke, 1980; Cognie y col., 1982; Knight y col., 1983; Pearce y Oldham, 1984; Martin y col., 1986). La dispersión observada en la respuesta estral cuando se utiliza bioestimulación no permite el uso de éste método de sincronización para programas de IATF.

2.2.2 Métodos hormonales:

Los métodos hormonales de sincronización de estros y ovulaciones en ovinos se basan en el uso de progesterona o progestágenos asociados a gonadotrofinas (P4-eCG), y los análogos sintéticos de la prostaglandina F_{2α} (PG).

2.2.3 Progesterona y/o progestágenos:

Los protocolos basados en el uso de la P4 pueden ser utilizados en estación reproductiva y/o fuera de ella (Menchaca y Rubianes, 2004). Tienen como objetivo la simulación de la fase luteal (la fase luteal dura 12 a 14 días, los tratamientos cortos se desarrollaron posteriormente para evitar la que se prolongara la vida del folículo ovulatorio y se redujera la fertilidad), siendo la duración de los tratamientos de 5 a 14 días (Gordon, 1999; Mechaca y Rubianes, 2004). La técnica más usada en la actualidad

para su aplicación son los dispositivos intravaginales (durante 5 a 14 días) que pueden ser esponjas de poliuretano impregnadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) o con acetato de fluorogestona (FGA); existiendo también dispositivos de liberación controlada impregnados con progesterona natural (Ungerfeld y col., 2002; González-Bulnes y Contreras- Solís, 2012). Al colocar el dispositivo los altos niveles de P4 inhiben la actividad del eje hipotálamo-hipofisario. Una vez retirado, se libera el mecanismo inhibitor sincronizándose el comienzo de la fase folicular debido al aumento en la pulsatilidad de LH, que estimula el crecimiento folicular final y la producción de E2, hasta que el E2 induce la descarga pre-ovulatoria de LH; se promueve el crecimiento folicular, la manifestación de estro, y la ocurrencia de la ovulación (Robinson, 1965; Ungerfeld y col., 2002).

Cuando la duración del tratamiento con P4 es corta (5 a 7 días) y se realiza durante la estación reproductiva, se adiciona una dosis de PG al retirar el dispositivo; siendo innecesaria durante el anestro (Menchaca y col., 2004; Viñoles, comunicación personal). Para su uso en IATF (independientemente de la duración del tratamiento) se asocia a una dosis de gonadotrofina coriónica equina (eCG o PMSG) al momento de retirar los dispositivos, vía intramuscular (dosis de 350 a 600 U.I dependiendo de la raza, peso y época del año), con lo cual se mejora la maduración folicular, la tasa ovulatoria (TO) del tratamiento, y se sincroniza la ovulación (Roberts y Hafez, 1969; Langford y col., 1983; Greyling y col., 1997; Leyva y col., 1998).

Estos protocolos permiten obtener buenas respuestas en la inducción y sincronización de estros, siendo los más utilizados para la sincronización estral en ovinos en la actualidad, realizándose la IATF 48-60 horas post retirado el dispositivo (Cognié y col., 1970). Sin embargo, la fertilidad de ese estro inducido suele ser menor que la que se produce en un estro espontáneo (Hawk y Cooper, 1977; Larson y Ball, 1992), con resultados de fertilidad que oscilan en nuestras condiciones de producción entre el 28 y 71% dependiendo de la vía y tipo de preservación seminal utilizada (Olivera-Muzante y col., 2011a).

El uso masivo de esponjas impregnadas con P4 trae como consecuencias un impacto negativo sobre el medio ambiente asociado a la eliminación de los dispositivos descartados, así como de residuos en los productos de consumo humano cuando se

utilizan análogos sintéticos (30 días de espera para consumo de carne y leche; Pro-Ciclar P4, Laboratorio Zoovet®, 2013). Además, ha sido reportado un incremento en los anticuerpos a eCG reflejado por una disminución en la respuesta y fertilidad esperada, siendo este fenómeno atribuido a su origen heterólogo, a su alto peso molecular, o a su nivel de glicosilación (Menchaca y Rubianes, 2004). Otros inconvenientes del uso de las esponjas son la pérdida de ellas (2-3%), la producción de vaginitis y/o adherencias que determina la retención de esponjas (Durán del Campo, 1980; Simonetti y col., 1999), y los altos costos del tratamiento (U\$S 3,8 por animal; Lab. Syntex, Uruguay; fecha de consulta: marzo 2014).

2.2.4 Prostaglandina F2 α y sus análogos sintéticos:

La prostaglandina F2 α (PGF2 α) y sus análogos sintéticos (PG), son poderosos agentes luteolíticos (McCracken y col., 1970). La utilización de PGF2 α se basa en su capacidad de lisar el CL, por lo tanto su uso está limitado a la estación reproductiva (McCracken y col., 1970), siendo sensible el CL ovino a la PGF2 α entre los Días 3 a 14 del ciclo estral (Actitopoulou y col., 1977; Rubianes y col., 2003).

Las prostaglandinas son metabolizadas en el pulmón (99%) en componentes prácticamente inactivos (Light y col., 1994). Esta característica es muy favorable para las actuales exigencias de los consumidores, que demandan un método de producción de alimentos más “limpio, verde y ético” (Martin y col., 2004). Son de aplicación simple (inyección intramuscular) y de costo reducido (menos de U\$S 0,5/inyección) (Fierro y col., 2013).

Diversos análogos sintéticos han sido desarrollados de manera de retrasar la rápida degradación de la PGF2 α (Fierro y col., 2013; Cuadro 2). El Clorprostenol es el análogo sintético más utilizado, es más selectivo y cien veces más potente que la PGF2 α (Binder y col., 1974). Su eficacia es debida a la acción selectiva sobre el CL (Dukes y col., 1974) y por su vida media más prolongada (Baird y Scaramuzzi, 1975).

Cuadro 2. Diferentes análogos sintéticos de PGF2 α y sus respectivas dosis.

Análogo sintético	Dosis y efectividad	Referencia
15-[RS]-metil-13,14-dihidro-PGF2 α (ONO 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

*Dosis mínimas necesarias para producir luteolisis

Si bien la sincronización se produce siempre que utilicemos las dosis recomendadas para cada análogo, existe una mayor respuesta a medida que las dosis son mayores y/o incrementamos el número de dosis administradas (Hackett y Robertson, 1980; Loubser y van Niekerk, 1981; Pope y Cárdenas, 2004). La respuesta estral (en porcentaje y dispersión de estro) determinada por una o dos inyecciones de PG está determinada por la edad del CL y el estado de desarrollo del folículo dominante al momento de la aplicación de la PG (Houghton y col., 1995). Cuanto más desarrollado se encuentre el CL la luteolisis llevara más tiempo, y el inicio del estro se retardará (Houghton y col., 1995). Si al momento de la administración el folículo dominante se encuentra en fase de crecimiento o en su fase estática este ovulará más rápido, pero si este folículo ya había comenzado la regresión, el folículo se atresiará y se iniciará una nueva onda, por lo tanto el comportamiento estral y la ovulación se retrasarán (Houghton y col., 1995; Viñoles y Rubianes, 1998).

Los protocolos que implican una sola inyección de PG son los más simples de ejecutar (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977). Cuando la PG es administrada en fases aleatorias del ciclo estral, se produce una regresión lútea en el 60 al 70% aproximadamente de las ovejas sincronizadas, con la consecuente inducción al comportamiento estral en un

período de 24 a 96 horas (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977; Haresing y Acritopoulou-Fourcroy, 1978; Ungerfeld y col., 2002; Fierro y col., 2013). Sin embargo, el inicio del estro, el pico preovulatorio de LH, y el intervalo desde el tratamiento de PG a la ovulación difiere entre las ovejas debido a que las mismas se encuentran en diferentes etapas del ciclo estral al momento del tratamiento (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977; Loubser y van Niekerk, 1981; Deaver y col., 1986). Por lo tanto éste protocolo de sincronización se debe aplicar para realizar IA asociado a la detección de estros (Fierro y col., 2013).

La administración de una segunda inyección de PG induce estro en la mayoría de las ovejas aun cuando no hay referencia de la etapa del ciclo estral en que se encontraban los animales al momento de la primera inyección (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977, 1978). Estos protocolos mejoran la sincronía del estro, sin embargo el inicio del estro y la ovulación se dispersan en el tiempo de acuerdo a los diferentes intervalos de aplicación entre las dosis de PG (Cuadro 3).

Cuadro 3. Intervalo de tiempo (h), entre la administración de la segunda inyección de un análogo sintético de PGF2 α (PG) y el inicio del estro (PG-IE), y el momento de la ovulación, en ovejas sincronizadas con un régimen de doble inyección de PG a diferentes intervalos entre los tratamientos (adaptado de Fierro y col., 2013).

Intervalo entre las PG (días)	PG-IE	Ovulación	Referencia
7	40,6 \pm 0,5	60,8 \pm 1,8	Rubianes y col., 2003
7	-	61,1 \pm 1,1	Contreras-Solís y col., 2009
9	38,8 \pm 1,3	73,1 \pm 1,6	Acritopoulou-Fourcroy y col., 1978
9	38,6 \pm 0,8	72,9 \pm 1,5	Haresing y Acritopoulou-Fourcroy, 1978
9	43,5 \pm 6,0 ^a	-	Acritopoulou-Fourcroy, 1979
9	49,9 \pm 3,7 ^b	-	Acritopoulou-Fourcroy, 1979
10	69,6 \pm 9,6	-	Godfrey y col., 1997
10	51,6 \pm 2,4	-	Das y col., 1999
11	41,7 \pm 2,2	-	Oyediji y col., 1990

^a Estación reproductiva media; ^b Estación reproductiva tardía.

Al administrar la segunda PG en la fase luteal temprana, estaríamos en presencia de folículos grandes en crecimiento de la primera onda de desarrollo folicular (Ginther y col., 1995; Bartlewsky y col., 1999; Rubianes y col., 2003). Los folículos durante la fase luteal media pueden tener una pobre sincronía y presentar grandes variaciones individuales; pudiendo encontrar folículos que estén en fase de crecimiento, en fase estática o de regresión (Viñoles y Rubianes, 1998; Barrett y col., 2002). Estas situaciones planteadas determinarían asincronías en la respuesta estral que conllevarían a la imposibilidad de su uso en programas de IATF.

2.2.5 Respuesta fisiológica posterior a la administración de una PG:

La luteolisis fisiológica y el consecuente descenso de los valores sanguíneos de P4 es más lenta y menos marcada en comparación a la luteolisis producida luego de la administración de una PG (Stacey y col., 1976; Cárdenas y col., 2004; Fierro y col., 2011). El CL regresa completamente a las 72 horas cuando la luteolisis es fisiológica, y entre las 6 a 24 horas cuando es inducida (Haresign y Acritopoulou-Fourcroy, 1978; Wiley y col., 1997).

El pico de LH que se produce en la luteolisis inducida es similar al que se produce fisiológicamente (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977; Haresign y Acritopoulou-Fourcroy, 1978; Thimonier, 1979) o bifásica, habiendo una pequeña descarga secundaria transcurridas 7 a 10,5 horas post inyección (Carlson y col., 1973; Bindon y col., 1979). Este fenómeno estaría explicado por un mecanismo de retroalimentación positiva, ya que la secreción de E2 producida por el primer pico de LH estimularía una nueva liberación de LH (Carlson y col., 1973).

La información respecto al diámetro folicular en ovejas tratadas con PG es contradictoria. Ha sido reportado como menor respecto a ovejas no tratadas (Houghton y col., 1995), mayor (Fierro y col., 2011) o similar (Nephew y col., 1991; Letelier y col., 2011). Además, cuando los tratamientos son realizados en la fase luteal temprana, los folículos alcanzarían un mayor diámetro en comparación con los folículos de los tratamientos realizados en la fase luteal tardía (Houghton y col., 1995).

Algunos autores afirman que luego de la aplicación de una PG la capacidad del FPO (folículo preovulatorio) de sintetizar esteroides está alterada (Letelier y col., 2011), ya que en dichos animales el FPO posee menor número de células de la granulosa, produciendo menor cantidad de P4 entre los Días 3 y 6 después del estro (White y col., 1987; Nephew y col., 1991; Wiley y col., 1997; Bartlewski y col., 2003), y el CL posee una vida media más corta (White y col., 1987). Sin embargo, otros autores describen que la capacidad del FPO de sintetizar esteroides es similar a la que se produce en la luteolisis fisiológica, y que el CL formado produce niveles de P4 normales (Fierro y col., 2011), siendo la duración del ciclo estral posterior a la inyección de PG normal (Douglas y Ginther, 1973; Hearnshaw y col., 1974; Hughes y col., 1976; Bindon y col., 1979; Fierro y col., 2011).

Los datos existentes sobre TO y prolificidad luego del uso de PG son contradictorios. Cuando la PG es administrada en la fase luteal media los estudios realizados no arrojaron efectos perjudiciales (Bindon y col., 1979; Houghton y col., 1995). En contraposición, una disminución respecto al estro espontáneo en la TO (1,37 vs. 1,61; $P < 0,06$), y en la prolificidad (1,18 vs. 1,39; $P < 0,05$), han sido reportadas cuando la PG es administrada en la fase luteal temprana (Forichi y col., 2004; Fierro y col., 2011). Algunos investigadores sugirieron que la luteolisis inducida podría alterar el reclutamiento folicular (Barrett y col., 2002). El gran aumento de los niveles sanguíneos de E2 luego de la luteolisis inducida podría promover un patrón de FSH alterado, afectando el reclutamiento folicular y acelerando la ovulación (Liu y col., 2006). Sumado a esto, la menor concentración de P4 observada en los protocolos de 2 PG separadas 7 días (Fierro y col., 2011), aumentaría las isoformas menos ácidas de FSH en la circulación y su eliminación más rápida de la sangre, lo que resulta en un aumento tardío de la concentración de FSH (Baby y Bartlewski, 2011). Estos reportes podrían explicar la alteración en la TO y prolificidad obtenidas cuando las ovejas fueron sincronizadas con un protocolo de doble PG con 7 días de intervalo entre las dosis (Forichi y col., 2004; Fierro y col., 2011). Por otra parte, también ha sido reportado un incremento en la TO cuando la PG es administrada en la fase luteal media, 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 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 (Letelier y col., 2011).

En síntesis, la respuesta a la PG es dependiente de la fase del ciclo estral al momento de su administración (Rubianes y col., 1997), debido a los cambios en la dinámica folicular que se producen durante la fase luteal (González-Bulnes y col., 2005). Los cambios o efectos sobre la función esteroidogénica del FPO, la TO y la prolificidad, después de la administración de PG, son controvertidos.

2.2.6 Prostaglandina e Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF):

Diversos trabajos experimentales han sido realizados utilizando protocolos en base a PG, obteniendo tasas de fertilidad muy variables (rango: 25,8 a 75,3%), resultando por lo

tanto de difícil implementación rutinaria a nivel de campo (Loubser y Van Niekerk, 1981; Hackett y col., 1981; Acritopoulou-Fourcroy y col., 1982; Menchaca y col., 2004; Fierro y col., 2011; Olivera-Muzante y col., 2011a, b; Viñoles y col., 2011) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados reproductivos (fertilidad y prolificidad) en ovejas sincronizadas con doble inyección de un análogo sintético de PGF2 α (PG) a diferentes intervalos de tiempo (adaptado de Fierro y col., 2013).

Protocolo	IA (h)	Fertilidad (%)	Prolificidad	Referencia
2 PG 11 d (5 mg/iny)	20 y 32	59,1 ^x	-	Loubser y van Niekerk, 1981
2 PG 11 d (10 mg/iny)		75,3 ^y	-	
2 PG 11 d	60	35	2,5	Hackett y col., 1981
	72	52	1,7	
	60 y 72	52	2.1	
2 PG 12 d	56	54,8 ^x	1,3	Acritopoulou-Fourcroy y col., 1982
	60	37,5 ^y	1,25	
	66	30,8 ^y	1,41	
	56 y 66	61,9 ^x	1,42	
MAP y eCG	55	37,8 ^y	1,88	
2 PG 7 d	42	36,8 ^x	-	Menchaca y col., 2004
	48	25,8 ^{x,y}	-	
	54	22,6 ^y	-	
2 PG 7 d	IU 48	63 ^y	1,27 ^a	Fierro y col., 2011
Estro espontáneo	IU 12-24	88 ^x	1,58 ^b	
2 PG 7 d	42	27 ^y	1,09 ^a	Olivera-Muzante y col., 2011a
	48	31 ^y	1,03 ^a	
	54	26 ^y	1,04 ^a	
MAP y eCG	54	48 ^x	1,10 ^a	
3 PG 7 d	IU 53	47 ^x	1,38	Viñoles y col., 2011
FGA 14 d y eCG	IU 53	85 ^y	1,37	

Las letras diferentes indican diferencias estadísticas (P <0,05).

IU: IA intrauterina; MAP: acetato de medroxiprogesterona; FGA: acetato de fluorogestona; eCG: gonadotropina coriónica equina.

Como se ha mencionado anteriormente la respuesta estral (en porcentaje y dispersión), luego de la aplicación de la segunda dosis de PG, estará determinada entre otras cosas por el intervalo en días entre la administración de las dosis (Hackett y col., 1981; Loubser y van Niekerk, 1981). Por lo tanto, cuando la segunda inyección de PG se administra en la fase luteal media, los folículos presentes podrían estar en diferentes etapas de desarrollo (crecimiento, estático ó atresia), dando lugar a una asincronía de las ovulaciones, limitando la determinación de un solo momento para la IATF (Fierro y col., 2013), pudiendo ser la razón de los bajos resultados obtenidos en los protocolos de sincronización con doble PG a intervalos de aplicación de mayor duración (9-12 días).

El descubrimiento de la sensibilidad del CL ovino a partir de los 3 días postovulación (Rubianes y col., 2003) permitió el desarrollo del protocolo Synchrovine®, el cual consiste en la administración de dos dosis de PG separadas 7 días. Las ovejas que responden a la primer PG se encontrarán en el día 3 a 5 postovulación al momento de la segunda dosis, coincidiendo con la fase de crecimiento del folículo dominante de la primera onda del ciclo inducido (fase luteal temprana). La respuesta estral obtenida es muy sincronizada (93% de las ovejas en estro durante las 72 horas siguientes al tratamiento), con 78% de ovejas que ovulan entre las 48 a 72 horas luego de administrada la segunda dosis (Menchaca y col., 2004). Esto generó la expectativa de alcanzar una mejor fertilidad con los protocolos de IATF en base a PG (Menchaca y Rubianes, 2004).

Sin embargo, los resultados a nivel experimental y comercial han sido muy variables e inferiores en promedio al 45% de fertilidad (Menchaca y col., 2004; Fierro y col., 2011; Olivera-Muzante y col., 2011a). La TO obtenida fue inferior a la obtenida por el estro espontáneo (Fierro y col., 2011), mientras que los resultados de prolificidad han sido inferiores (Forichi y col., 2004; Fierro y col., 2011), o similares al del estro espontáneo (Fierro y col., 2007) (Cuadro 4).

2.2.7 Modificaciones realizadas a los protocolos en base a PG:

Diversas modificaciones han sido realizadas experimentalmente con el objetivo de mejorar los resultados reproductivos obtenidos con los protocolos de doble dosis de PG. Los mismos se han basado en promover un incremento de LH para inducir y sincronizar la ovulación, utilización de diferentes vías de IA, disminución de la dosis de PG, aumento

del intervalo entre las inyecciones de PG (Boland y col., 1978a, b; Contreras-Solís y col., 2009; Olivera-Muzante y col., 2011a, b) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Resultados reproductivos obtenidos con varios protocolos utilizando un análogo sintético de PGF2 α (PG), modificados con el objetivo de mejorar los mismos (adaptado de Fierro y col., 2013).

Protocolos	Tipo de servicio	Preñez (%)	TO	Prolificidad	Referencias
2 PG 9d	M.N.	65	-	-	Boland y col., 1978 a
2 PG 9d + eCG	M.N.	53,8	-	-	
2 PG 14d	M.N.	42,1	-	-	
2 PG 14d + eCG	M.N.	71,4	-	-	
MAP 14 d	M.N.	72,7	-	-	
MAP 14 d + eCG	M.N.	85,7	-	-	
2 PG 7 d + EM	IATF cervical 48 h	62,5	-	-	Contreras-Solís y col., 2009
2 PG 7 d + EM	IATF cervical 55 h	44	-	-	
FGA 12 d	IATF cervical 55 h	47,4	-	-	
2 PG 7 d	IATF intrauterina 48 h	63	1,37	1,27 ²	Fierro, 2010
2 PG 7 d	IATF cervical 51 h	12 ¹	-	1,04 ¹	Olivera-Muzante y col., 2011a
	IATF cervical 57 h	14 ¹	-	1,07 ¹	
MAP + eCG	IATF cervical 54 h	28 ²	-	1,20 ²	
2 PG 7 d	IATF intrauterina 51 h	43 ³	-	1,04 ¹	
	IATF intrauterina 57 h	51 ³	-	1,09 ¹	
MAP 14 d + eCG	IATF intrauterina 54 h	71 ⁴	-	1,23 ²	
+2 PG 7 d AD	IATF cervical 42 h	42 ¹	-	1,11 ¹	Olivera-Muzante y col., 2011b
+2 PG 7 d BD	IATF cervical 42 h	24 ²	-	1,13 ¹	
*2 PG 7 d	IATF cervical 42 h	45 ¹	-	1,09 ¹	
*2 PG 7 d	IATF cervical 48 h	51 ¹	-	1,04 ¹	
*2 PG 8 d	IATF cervical 42 h	33 ²	-	1,02 ¹	
*2 PG 8 d	IATF cervical 48 h	29 ²	-	1,19 ²	
°2 PG 7 d	IATF cervical 42 h	50	-	1,13 ¹	
°2 PG 7 d + eCG	IATF cervical 42 h	38	-	1,39 ²	

Los números diferentes indican diferencias estadísticas ($P < 0,05$).

M.N.: monta natural; MAP: acetato de medroxiprogesterona; FGA: acetato de fluorogestona; eCG: gonadotropina coriónica equina; EM: efecto macho; AD: alta dosis; BD: baja dosis.

Diferentes modificaciones también han sido evaluadas con el objetivo de incrementar los resultados del protocolo Synchrovine® (Cuadro 6). La variación del momento de IA (42 vs. 48 vs. 54 horas; Olivera-Muzante y col., 2011a); la disminución en la dosis de PG (80 vs. 160 µg de Delprostenate, Glandinex®), o el incremento en un día en la separación entre las dosis (Olivera-Muzante y col., 2011b); así como la administración de un análogo sintético de GnRH (Buserelina intramuscular, 8 µg, Receptal®) al momento de la IATF (Olivera-Muzante y col., 2011b), ó a las 24 ó 36 hs luego de la segunda inyección de PG (Olivera-Muzante y col., 2013); son alternativas que no han logrado incrementar los resultados reproductivos de este protocolo cuando es utilizada la vía cervical con semen fresco.

Cuadro 6. Modificaciones realizadas al protocolo Synchrovine® (dos dosis de un análogo sintético de PGF2 α separadas 7 días) y sus resultados de fertilidad (%) y prolificidad.

Protocolo	Fertilidad (%)	Prolificidad	Referencia
Synchrovine® IATF 42 h	36,8 ^a	-	Menchaca y col., 2004
Synchrovine® IATF 48 h	28,8 ^{ab}	-	
Synchrovine® IATF 54 h	22,6 ^{ab}	-	
Synchrovine® Borregas	37 ^a	1,03 ^a	Olivera-Muzante y col., 2006
Synchrovine® Ovejas	40 ^a	1,19 ^b	
Synchrovine® IU Ovejas semen congelado	13 ^a	1,00 ^a	Gil y col., 2006
Synchrovine® IU Borregas semen congelado	13 ^a	1,08 ^a	
Synchrovine®	28 ^{ab}	-	Fossati y col., 2008
Synchrovine® IATF 42 h	27 ^{ab}	1,09 ^a	
Synchrovine® IATF 48 h	31 ^b	1,03 ^a	
Synchrovine® IATF 54 h	26 ^{ab}	1,04 ^a	
Synchrovine® IATF 42 h semen refrigerado 24 h	6 ^a	1,00 ^a	Bottaro, 2009
Synchrovine® IATF 48 h semen refrigerado 24 h	24 ^b	1,00 ^a	
Synchrovine® IATF 54 h semen refrigerado 24 h	22 ^b	1,05 ^a	
Synchrovine® IATF 48 h + EM	62 ^a	-	Contras-Solís y Gonzales-Bulnes
Synchrovine® IATF 55 h + EM	44 ^b	-	2009
FGA 12 d	47,4 ^b	-	
Synchrovine®	45 ^a	1,09 ^a	Olivera-Muzante y col., 2011a
Synchrovine® IATF 42 h	51 ^a	1,04 ^a	
Synchrovine® 8 IATF 42 h	33 ^b	1,02 ^a	
Synchrovine® 8 IATF 48 h	29 ^b	1,19 ^b	
Synchrovine®	50 ^{ab}	1,13 ^a	Olivera-Muzante y col., 2011b
Synchrovine® DE IA 12 h	47 ^{ab}	1,18 ^a	
Synchrovine® + GnRH + IATF 42 h	38 ^a	1,28 ^{ab}	
Synchrovine®	42,6 ^a	1,09 ^a	Olivera-Muzante y col., 2013
Synchrovine® + GnRH 24 h	10,2 ^b	1,00 ^a	
Synchrovine® + GnRH 36 h	33,7 ^a	1,13 ^a	

Las letras diferentes indican diferencias estadísticas (P <0,05).

IATF: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; IU: IA intrauterina; EM: efecto macho; DE: detección de estros.

Los bajos resultados reproductivos obtenidos con el protocolo Synchronone® han sido asociados con el ambiente endócrino generado, con bajos niveles de P4 y perfiles inversos de P4 respecto a los animales en estro espontáneo (bajos y crecientes en contraposición a altos y en descenso), determinando menores resultados en TO, concepción, prolificidad y fecundidad (Fierro y col., 2011). En base a esto, y sumado a las bajas tasas de fertilización reportadas cuando el intervalo entre las inyecciones se redujo de 14 a 8 días (Fairnie y col., 1977), y al incremento en el número de ovejas en estro (93,4% vs 82,0%) y de tasas de preñez (84,9% vs. 75,3%) 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), 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, y determinando mejores calidades embrionarias, y por ende mejorando los resultados reproductivos con estos protocolos (Fierro y col., 2013).

En ese sentido, estudios realizados en nuestras condiciones de producción evidenciaron que algunos intervalos con separación mayor entre las dosis de PG (10 a 16 días), presentan una respuesta estral concentrada y una concepción en IA a estro visto equiparable a la de un estro espontáneo (Fierro y col., 2012; Dutra da Silveira y Soler, 2013). Esto parecería posibilitar su uso en programas de IATF. Sin embargo, no existen en nuestro conocimiento estudios referentes al momento de ovulación obtenida mediante la utilización de esos protocolos, información necesaria para determinar el momento de inseminación adecuado para cada intervalo en programas de IATF.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

La sincronización de estros y ovulaciones, y la IATF en ovinos son herramientas tecnológicas con un gran margen de expansión en nuestro país. La necesidad de producir alimentos mediante métodos más “limpios, verdes y éticos” (Martin y col., 2004), y que éstas tecnologías sean adoptadas por los productores de majadas generales, conllevan a la

necesidad de profundizar en la investigación de nuevos protocolos de trabajo que sean de menor costo y mayor practicidad, faciliten el manejo de los animales, y que produzcan menor contaminación ambiental que los basados en progestágenos y gonadotrofinas.

La utilización de PG es una alternativa viable de acuerdo a estas necesidades, siendo necesario la generación de conocimiento en cuanto al impacto del uso de nuevos protocolos en la dinámica folicular y momento de ovulación, que permita su posterior utilización en protocolos de IATF.

La hipótesis planteada fue que la administración de dos dosis de PG a diferentes intervalos de tiempo determinaría diferencias en respuesta estral, en el período de tiempo entre la administración de la dosis y el inicio del estro, en el desarrollo folicular posterior a la segunda PG, y en el momento de ocurrencia de la ovulación.

El objetivo general de este trabajo fue el estudio de diferentes protocolos de sincronización de estros y ovulaciones en ovinos basados en la administración de dos dosis de PG a diferentes intervalos de tiempo.

El objetivo específico fue determinar el desarrollo folicular y el momento de ovulación generado por la aplicación de protocolos de sincronización de estros y ovulaciones basados en el uso de dos dosis de PG administradas con un intervalo de 10, 12, 14 o 16 días de separación.

4. ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN

Para cumplir con los objetivos planteados, se realizó un experimento conformado por cuatro grupos de seis ovejas cada uno, donde las ovejas fueron sincronizadas con dos dosis de PG separadas 10, 12, 14 o 16 días respectivamente. Las variables evaluadas en cada uno de los tratamientos fueron: la respuesta estral post primera, segunda y/o ambas PG, el momento de inicio del estro post segunda PG, el tamaño folicular máximo, el tamaño folicular final, la tasa de crecimiento, y el momento de ovulación.

5. MATERIALES Y METODOS

El trabajo experimental se llevó a cabo en la Facultad de Agronomía “Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni” (Ruta 3 Km 363; Paysandú, Uruguay, 32° S – 58° W), durante la estación reproductiva del año 2012 (marzo, abril y mayo). Todos los procedimientos fueron previamente autorizados por la Comisión de Bioética de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República (Exp: 111400-000079-12).

5.1 Animales:

Durante el ensayo se utilizaron 21 ovejas multíparas (mayores a 4 años de edad, 51,7 ± 5,3 Kg de peso vivo (PV) y CC de 3,1 ± 0,4 (escala 1-5; Russel y col., 1969), y 3 ovejas nulíparas (de 1,5 años de edad, 41 ± 2,4 Kg de PV y CC de 2,6 ± 0,1), de la raza Corriedale, clínicamente aptas para la reproducción. Las mismas fueron identificadas individualmente mediante la colocación de caravanas plásticas numeradas.

5.2 Manejo nutricional:

La alimentación de los animales se basó en el pastoreo diurno de campo natural con una muy baja disponibilidad (potrero de 3 ha, < 300 Kg MS/ha). A última hora de la tarde se procedía al encierre a corral y suplementación en conjunto de los animales con un fardo de trébol rojo (90,6 % de MS, 13,8 % PB y 2,2 MCal de EM/Kg MS, a razón 1,1 Kg MS/oveja/día de oferta promedio), ración de destete precoz de terneros (Terneros 1 - destete precoz-, Copagran, con 91,9 % MS, 20,5 % PB y 2,7 EM/Kg MS, a razón de 0,4 Kg MS/oveja/día en promedio), y agua a disposición, volviendo a soltar los animales temprano en la mañana.

5.3 Manejo sanitario:

Previo al comienzo del experimento se realizó dosificación contra helmintos gastrointestinales (Naftalofos 50 mg/kg, Baymetin®, Lab. Bayer) y control de eficacia de dosificación (mediante técnica de HPG a los 10 días de la administración), vacunación contra clostridiosis (Clostrisan®, Lab. Santa Elena), y un baño podal (Sulfato de Zinc al 10% durante 15 minutos).

5.4 Diseño experimental:

Las ovejas y borregas fueron asignadas mediante bloqueo por categoría, CC y PV a cuatro grupos. En cada grupo, las ovejas fueron sincronizadas con dos inyecciones de PG (160 µg/inyección-Delprostenate, Glandinex®, Lab. Universal, Montevideo, Uruguay), con intervalo entre ambas de 10, 12, 14 ó 16 días (grupos PG-10, PG-12, PG-14 y PG-16 respectivamente; Figura 3). La CC y el PV de cada grupo al inicio del experimento fue de $3,1 \pm 0,5$ (medias \pm DE) y $51,9 \pm 7,1$ Kg; $3,1 \pm 0,5$ y $51,6 \pm 7,3$ Kg; $3,2 \pm 0,4$ y $54,4 \pm 7,0$ Kg; $3,2 \pm 0,5$ y $52,2 \pm 6,5$ Kg; grupos PG-10, PG-12, PG-14 y PG-16 respectivamente. Se definió como Día 0 al día de la administración de la segunda inyección de PG, realizada el mismo día para todos los grupos con el cometido de concentrar y facilitar la evaluación ecográfica. La aplicación de las PGs se realizó vía intramuscular con jeringas de insulina y con agujas estériles descartables para obtener la dosis exacta.

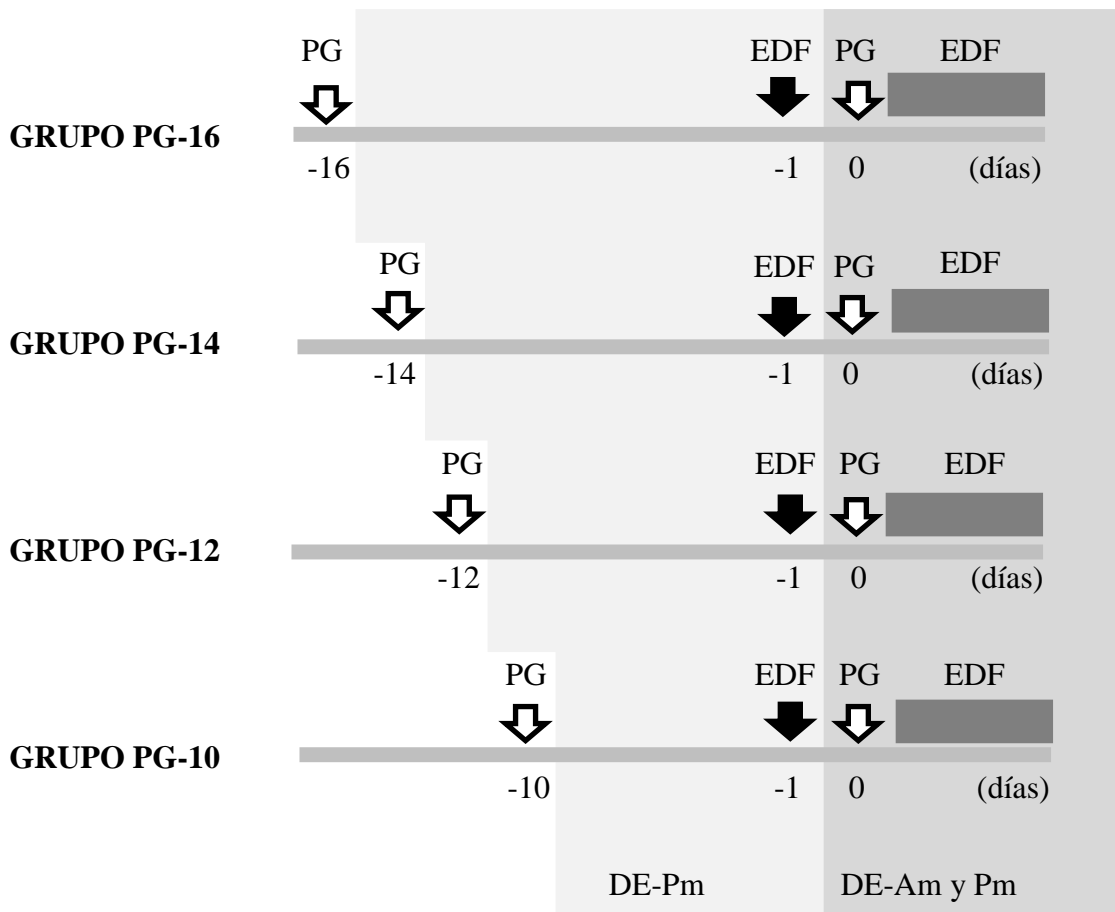


Figura 3. Esquema del diseño experimental. Grupos PG: ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de PGF2α (-PG- 160 µg de Delprostenate/inyección) a intervalos de 10, 12, 14 o 16 días (Grupo PG-10, PG-12, PG-14 y PG-16

respectivamente). DE: detección de estros mediante el uso de capones androgenizados. EDF: ecografía transrectal para evaluar diámetro folicular desde el Día -1 a la ovulación (cada 24 h desde la inyección de la segunda PG -Día 0- hasta el inicio del estro, y luego cada 12 horas hasta la ovulación, definida como la desaparición del/los folículo/s con mayor diámetro).

5.5 Respuesta estral:

Para evaluar la respuesta estral se utilizaron cuatro capones androgenizados (tres dosis de 100 µg/animal Testosterona Ultra Lenta Fuerte®, Lab. Dispert, Uruguay, a intervalos de una semana), en grupos de a dos (usando un grupo en cada día o período de detección), y pintados con tierra de color (Durán del Campo, 1980). Se comenzó con tierra de color amarilla, luego roja, y por último azul.

A partir de la primer inyección de PG (Día -16) y hasta la segunda PG (Día 0) la detección de estros se realizó en un solo período al día (Pm: capones desde última hora de la tarde hasta primera hora de la mañana y aparte posterior, registro acumulado al final del período), y luego de la segunda PG dos veces al día (Am: capones desde primera hora de la mañana a última hora de la tarde, y Pm: capones desde última hora de la tarde a primera hora de la mañana, registro acumulado al final de cada período respectivamente). Desde el Día -16 hasta el Día -10 los capones tenían contacto directo solo con las ovejas que fueron inyectadas, permaneciendo las ovejas de los grupos aún no inyectados en un corral aparte. Al Día -4 se cambió la tierra de color a roja para observar si alguna de las ovejas presentaba nuevamente estro antes de la segunda inyección de PG. A partir del Día 0 los capones fueron pintados con tierra azul y permanecieron junto a las ovejas todo el tiempo, con los períodos de observación de inicio de estro ya mencionados. Se evaluó la respuesta estral (presencia de estro y momento de aparición) pos primera, segunda y ambas PGs.

5.6 Evaluación reproductiva inicial, determinación del diámetro folicular y momento de ovulación:

Previo al inicio del experimento las ovejas fueron sometidas a ecografía vía transrectal (Aloka® 500, Overseas Monitor Corp. Ltd., Richmond, BC, Canadá; con transductor lineal de 7,5 MHz Aloka®, Tokyo, Japan), según Viñoles y col. (2010), para verificar que las mismas estuvieran ciclando y no gestando.

El Día -1 se realizó una ecografía transrectal a modo de registrar el diámetro de los folículos ováricos existentes. El Día 0 (segunda dosis de PG a todos los grupos) se comenzó a realizar una ecografía cada 24 horas, y luego del inicio del estro las mismas se realizaron cada 12 horas, culminando cuando se verificó la ovulación. Se determinó el desarrollo folicular (mediante la medición del diámetro folicular en mm) desde la administración de la segunda PG hasta el momento de la ovulación (definida como la desaparición del/los folículo/s de mayor diámetro). En planillas preestablecidas se registró el número, el diámetro y la posición de los folículos de mayor diámetro (≥ 2 mm) observados en cada uno de los ovarios durante todo el período de evaluación. Las variables evaluadas fueron: diámetro folicular máximo (máximo diámetro en mm registrado), diámetro folicular final (diámetro final en mm del FPO), tasa de crecimiento (crecimiento folicular diario en mm, calculada como la diferencia entre el diámetro folicular máximo y el inicial, y dividido los días transcurridos hasta el momento de la ovulación), y momento de ovulación (horas posteriores a la segunda PG ± 6 horas).

5.7 Evaluación estadística:

La evaluación estadística de las variables se realizó mediante ANOVA, procedimiento Mixed del programa SAS (2001). El efecto fijo del modelo fue el grupo. Los datos son presentados como medias \pm DE. Las diferencias fueron consideradas como significativas cuando $P < 0,05$.

6. RESULTADOS

Independientemente del grupo considerado el 75% (18/24) y el 96% (23/24) del total de ovejas tratadas evidenciaron comportamiento estral a la primera y segunda dosis de PG respectivamente. El número de animales que respondieron a la primera PG, a la segunda PG, a ambas PG, ó que no respondieron a ninguna de las PG, fue similar entre los grupos evaluados ($P > 0,05$; Cuadro 7). No se observó en ningún grupo ovejas en estro en forma previa a la administración de la segunda PG.

Cuadro 7: Porcentaje y frecuencia (entre paréntesis) de ovejas que demostraron estro luego de la administración de la primera dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG), de la segunda, o que no respondieron a la PG.

Grupo	1^a PG	2^{da} PG	No responden
PG-10	100 (6/6)	100 (6/6)	0 (0/6)
PG-12	67 (4/6)	100 (6/6)	0 (0/6)
PG-14	50 (3/6)	83 (5/6)	17 (1/6)
PG-16	83 (5/6)	100 (6/6)	0 (0/6)

En el Cuadro 8 se presentan los resultados obtenidos en las variables intervalo entre la administración de la segunda PG al inicio promedio del estro (h), diámetro máximo y final del folículo mayor (mm), tasa de crecimiento del folículo mayor (mm/día), e intervalo segunda PG a la ovulación (h). Todas las variables consideradas fueron estadísticamente similares entre los diferentes grupos ($P > 0,05$).

Cuadro 8: Intervalo entre la segunda dosis de un análogo sintético de PGF2 α (PG) y el inicio del estro (PG-estro), diámetro folicular máximo y final del folículo preovulatorio, tasa de crecimiento folicular, e intervalo PG-ovulación en ovejas sincronizadas con protocolos en base a dos inyecciones de PG administradas cada 10, 12, 14 o 16 días (grupos PG-10, PG-12, PG-14 y PG-16 respectivamente). Los resultados están expresados como medias \pm desvío estándar.

Grupo	PG-estro (h)	Diámetro Máximo (mm)	Diámetro Final (mm)	Tasa Crecimiento (mm/día)	PG-ovulación (h)
PG-10	50,0 \pm 6,0	6,3 \pm 0,5	6,0 \pm 0,9	0,7 \pm 0,4	72,0 \pm 6,6
PG-12	44,0 \pm 4,9	6,5 \pm 0,8	6,3 \pm 0,8	1,0 \pm 0,5	70,0 \pm 6,2
PG-14	37,2 \pm 23,4	6,2 \pm 0,4	6,0 \pm 0,7	1,1 \pm 0,7	58,8 \pm 21,8
PG-16	44,0 \pm 15,9	6,5 \pm 1,2	6,3 \pm 1,0	1,3 \pm 0,5	64,0 \pm 9,0

7. DISCUSIÓN

La hipótesis planteada de que la administración de dos dosis de PG a diferentes intervalos de tiempo determinaría diferencias en respuesta estral, en el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la manifestación del estro, en el desarrollo folicular posterior a la segunda PG, o en el momento de ocurrencia de la ovulación, no se cumplió. Intervalos de tiempo de 10, 12, 14, y 16 días entre las dosis de PG no generaron respuestas estrales, desarrollos foliculares ó momentos de ovulación diferentes.

La respuesta estral a la primera PG fue variable aunque no significativa. Otros autores han demostrado previamente que ésta respuesta se debe a los diferentes momentos del ciclo estral en que se encuentran las ovejas al momento de la primera inyección (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977; Haresing y Acritopoulou-Fourcroy, 1978; Loubser y van Niekerk, 1981; Deaver y col., 1986; Fierro y col., 2013).

La totalidad de las ovejas sincronizadas (100%) demostraron estro luego de administrada la segunda PG a excepción de una oveja del grupo PG-14 (83%, $P > 0.05$). Resultados similares han sido reportados previamente cuando la segunda PG fue aplicada sin tener referencia del momento del ciclo estral en el que se encontraban cuando se administró la primera PG (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1977, 1978). El número de dosis de PG administradas es una medida que permite incrementar la cantidad de ovejas que responden al tratamiento (Fierro y col., 2013). Los intervalos de tiempo utilizados en el presente trabajo (10, 12, 14 y 16 días), determinan que al momento de aplicación de la segunda dosis de PG, todas las ovejas se encuentran en fase luteal media a tardía, con CLs de 7 a 14 días de edad, sensibles a la acción luteolítica de la PG (Houghton y col., 1995; Rubianes y col., 2003).

El intervalo entre la segunda dosis de PG y el inicio del estro (PG-estro), así como el intervalo entre la segunda dosis de PG y la ovulación fueron similares entre grupos. El intervalo PG-estro ha sido relacionado al estatus folicular individual de cada oveja al momento del tratamiento (Viñoles y Rubianes, 1998), y a la edad del CL, donde a medida que el CL se desarrolla, la disminución de la concentración de P4 a niveles basales se retrasa (Houghton y col., 1995). Sin embargo, Wiley y col. (1997) reportaron que cuando los niveles basales de P4 son alcanzados, el intervalo al estro es constante. En nuestro

diseño experimental, al momento de la administración de la segunda PG los CLs tendrían entre 7 y 14 días de formados, por lo tanto parecería que el tiempo de luteolisis de un CL de fase luteal media a tardía, la concentración de P4 alcanzada y su velocidad de disminución dentro de ese rango de edades, son de la misma duración. Esta hipótesis debería ser verificada mediante sangrado y cuantificación de los niveles plasmáticos de P4. El número de animales utilizados y la frecuencia de observación de aparición de comportamiento estral son variables a tener en consideración respecto a otros trabajos internacionales.

Sin embargo, los resultados obtenidos respecto al intervalo PG-estro se asemejan a los reportados por Fierro y col. (2012) (PG-10: $43,1 \pm 9,7$ horas; PG-12: $45,5 \pm 9,1$ horas; PG-14: $36,4 \pm 14,3$ horas; PG-16: $40,5 \pm 8,2$ horas; $P > 0,05$), utilizando el mismo diseño y bajo condiciones experimentales similares (raza, época, manejo). Además, resultados numéricamente similares han sido reportados por otros autores en condiciones experimentales disímiles (razas, alimentación, manejo, localidad) utilizando protocolos de 7 días de separación entre las dosis: $48 \pm 2,3$ horas (Rubianes y col., 2003); $36,6 \pm 3,6$ horas (Contreras-Solís y col., 2009); 9 días: $38,8 \pm 1,3$ horas (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1978); $38,6 \pm 0,8$ horas (Haresing y Acritopoulou-Fourcroy, 1978); $43,5 \pm 6$ horas (Acritopoulou-Fourcroy, 1979); $45,8 \pm 1,1$ horas (Acritopoulou-Fourcroy y col., 1982); 10 días: $51,6 \pm 2,4$ horas (Das y col., 1999); y 11 días: $41,7 \pm 2,2$ horas (Oyediji y col., 1990).

El intervalo PG-ovulación fue similar entre los grupos. Este resultado podría ser explicado debido a que el momento de ovulación es una variable bastante constante a partir del comienzo del estro y del pico de LH (entre las 21 y 26 horas post inicio del pico; Cumming y col., 1973), y a que se observó un intervalo PG-estro similar entre los grupos; por lo tanto el intervalo PG-ovulación también fue similar, no siendo influenciado en este ensayo por los días de separación entre las dosis.

Es conocido que la dominancia folicular es diferente a lo largo del ciclo estral, siendo menor en la fase luteal respecto a la fase folicular, y estando representado por folículos dominantes de diámetros superiores en la primera y última onda de desarrollo folicular respecto a la o las intermedias (Evans y col., 2000; Barrett y col., 2002; González-Bulnes y col., 2001). Sin embargo los resultados obtenidos en nuestras condiciones de

experimentación no confirman los reportes previos. El diámetro folicular máximo y final fueron similares entre los grupos evaluados, siendo esperable diferencias en las variables foliculares. Los FPOs de los grupos PG-10 y PG-12 se desarrollan de la segunda o tercera onda folicular (fase luteal media), y los FPOs de los grupos PG-14 y PG-16 de la tercera onda folicular (fase luteal tardía). Es probable que los folículos dominantes de las ovejas que se encontraban con ondas foliculares intermedias al momento de aplicación de la segunda PG estuvieran en fase de atresia, determinando así el inicio de una última onda folicular, ovulando por lo tanto la mayoría de los folículos de la misma onda folicular (de la última onda y no de las intermedias). De esa manera, se podrían explicar los resultados similares de las variables foliculares del presente experimento. El diseño experimental utilizado no permite sacar más conclusiones al respecto.

La tasa de crecimiento folicular fue similar entre los grupos evaluados (aproximadamente 1 mm/día), y similar a la tasa de crecimiento normal reportada previamente por Viñoles y col. (2001). El crecimiento folicular está determinado por las pulsaciones de LH las cuales están controladas por los niveles de P4 (Ginther y col., 1995). Los niveles plasmáticos de P4 no fueron evaluados en nuestro trabajo, sin embargo podemos hipotetizar, debido al momento de la fase luteal en que se encontraban las ovejas de todos los grupos evaluados, que los niveles de P4 posiblemente fueran finalmente similares, determinando tasas de crecimiento similares.

La información obtenida en este trabajo experimental, en conjunto con los trabajos de Fierro y col. (2012) y Dutra da Silveira y Soler (2013) son un paso previo fundamental para el avance del estudio de nuevos protocolos de IATF basados en PG. La información generada evidencia que todos los protocolos evaluados serían adecuados para su utilización en programas de IATF, sugiriéndose que la inseminación se lleve a cabo entre las 52 y 56 horas post segunda PG.

8. CONCLUSIONES

Se concluye, que en nuestras condiciones de experimentación, la aplicación de dos dosis de PG administradas a intervalos de 10, 12, 14 ó 16 días no genera diferencias en respuesta estral, intervalo PG-inicio del estro, diámetro folicular máximo y final, tasa de crecimiento folicular y/o momento de ovulación.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Acritopoulou-Fourcroy S. (1979) Progesterone and LH concentrations in ewes after ICI 80996, an analogue of prostaglandin F-2 α , at two different stages of the breeding season. *Theriogenology* 11:411-420.
2. Acritopoulou-Fourcroy S.; Papas V.; Peclaris G.; Zervas N. (1982) Synchronization of oestrus in ewes with Provera sponges/PMSG, prostaglandin F2 α or the prostaglandin analogue, ICI80996, and fertility following natural mating or artificial insemination. *Reprod Nutr Dev* 22:345-354.
3. Acritopoulou-Fourcroy S.; Haresign W.; Lamming G.E. (1978) Time of ovulation in ewes after treatment with a prostaglandin F-2 α analogue. *J Reprod Fertil* 54:189-191.
4. Acritopoulou-Fourcroy S.; Haresign W.; Foster J.P.; Lamming G.E. (1977) Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injection of an analogue of prostaglandin F-2 α . *J Reprod Fertil* 49:337-340.
5. Baby T.E.; Bartlewski P.M. (2011) Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reprod Fertil Dev* 23:303-310.
6. Baird D.T. (1983) Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human. *J Reprod Fertil* 69:343-352.
7. Baird D.T. (1978) Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biol Reprod* 18:359-364.
8. Baird D.T.; Scaramuzzi R.J. (1975) Prostaglandin F2 α and luteal regression in the ewe: comparison with 16 aryloxyprostaglandin (I.C.I. 80, 996). *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 15:161-174.

9. Barrett D.M.W.; Bartlewski P.M.; Cook S.J.; Rawlings N.C. (2002) Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to PGF₂a given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology* 58:1409-1424.
10. Bartlewski P.M.; Duggavathi R.; Aravindakshan J.; Barrett D.M.W.; Cook S.J.; Rawlings N.C. (2003) Effects of a 6-day treatment with medroxyprogesterone acetate after prostaglandin F₂a induced luteolysis at midcycle on antral follicular development and ovulation rate in non prolific Western White-Faced ewes. *Biol Reprod* 68:1403-1412.
11. Bartlewski P.M.; Beard A.P.; Cook S.J.; Chandolia R.K.; Honaramooz A.; Rawlings N.C. (1999) Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J Reprod Fertil* 115:111-124.
12. Binder D.; Bowler J.; Brown E.D.; Crossley N.S.; Hutton J.; Senior M. (1974) 16-aryloxyprostaglandins: a new class of potent luteolytic agent. *Prostaglandins* 6:87-90.
13. Bindon B.M.; Blanc M.R.; Pelletier J.; Terqui M.; Thimonier J. (1979) Periovarian gonadotropin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *J Reprod Fertil* 55:15-25.
14. Bonifacino L.A.; Aragunde M. (1981) The synchronization of oestrus in sheep in artificial insemination programmes: effect of dose, single or double injection regime, of three prostaglandin analogues on oestrus response and conception rate. Disponible en: <http://www.laboratoriouniversal.com/biblioteca/glandinex/THE%20SYNCHRONIZATION%20OF%20OESTRUS%20IN%20SHEEP.pdf>. Fecha de consulta: 13 de Noviembre de 2013.
15. Bonino J. (2004) Incremento de los procreos ovinos. XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Del 10 al 12 de junio. Paysandú, Uruguay. PP 38-45.

16. Boland M.P.; Lemainque F.; Gordon I.R. (1978a) Comparison of lambing outcome in ewes after synchronization of oestrus by progestagens or prostaglandin treatment. *J Agric Sci (Cambridge)* 91:765-756.
17. Boland M.P.; Gordon I.R.; Kelleher D.L. (1978b) The effect of treatment by prostaglandin analogue (ICI-80996) or progestagens (SC-9880) on ovulation and fertilization in cyclic ewes. *J Agric Sci (Cambridge)* 91:727-730.
18. Bottaro M. (2009) IATF en ovinos con semen refrigerado por 24 hs: comparación biológica y económica de protocolos de sincronización estral. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, UdelaR. 45 pp.
19. Brand A.; de Jong W.H.R. (1973) Cualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle population during the oestrus cycle in sheep. *J Reprod Fertil* 33:431-439.
20. Campbell B.K.; Dobson H.; Baird D.T.; Scaramuzzi R.J. (1999) Examination of the relative role of FSH and LH in the mechanism of ovulatory follicle selection in sheep. *J Reprod Fertil* 117:355-367.
21. Cárdenas H.; Wiley T.M.; Pope W.P. (2004) Prostaglandin F2a-induced estrus in ewes exhibiting estrous cycles of different duration. *Theriogenology* 62:123-129.
22. Carlson J.C.; Barcikowski B.; McCracken J.A. (1973) Prostaglandin F2a and the release of LH in sheep. *J Reprod Fertil* 34:357-361.
23. Cognié Y.; Gray S.J.; Lindsay D.R.; Oldham C.M.; Pearce D.T.; Signoret J.P. (1982) A new approach to controlled breeding in sheep using the "ram effect". *Proc Austr Soc Anim Prod* 14:519-522.
24. Cognié Y.; Mariana J.C.; Thimonier J. (1970) Etude du momento d' ovulation chez la brebis normale ou traitée par un progestagènes associé ou non a une injection de PMCG. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 10:15-24.

25. Contreras-Solís I.; Gonzalez-Bulnes A. (2009) Estrategias sostenibles del manejo reproductivo en la oveja. Reunión bianual sobre reproducción animal 2012. 4 al 5 de octubre de 2012, Temascaltepec de González, México. PP 108-121.
26. Contreras-Solis I.; Vasquez B.; Diaz T. (2009) Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol based protocols and “male effect”. *Theriogenology* 71:1018-1025.
27. Corke D.G. (1980) Use of teasing in A.I. programme. *Proc Austr Soc Anim Prod* 13:81-82.
28. Cumming I.A.; Buckmaster J.M.; de B. Blockey M.A.; Goding J.R.; Winfield C.G.; Baxter R.W. (1973) Constancy of interval between luteinising hormone release and ovulation in the ewe. *Biol Reprod* 2:24-29.
29. Das G.K.; Naqvi S.M.K.; Gulyani R.; Anil Joshi; Mittal J.P. (1999) Effect of two protocols of PGF₂ α treatment for synchronization of estrus in a tropical sheep [Abstract]. *Theriogenology* 51(1):283.
30. Deaver D.R.; Stilley N.J.; Dailey R.A.; Inskip E.K.; Lewis P.E. (1986) Concentrations of ovarian and pituitary hormones following prostaglandin F₂ α -induced luteal regression in ewes varies with day of the estrous cycle at treatment. *J Anim Sci* 62:422-427.
31. Delgadillo J.A.; Gelez H.; Ungerfeld R.; Hawken P.; Martin G. (2009) The “male effect” in sheep and goats-Revisiting the dogmas. *Behav Brain Res* 200:304-314.
32. Diaz F.J.; Anderson L.E.; Wu Y.L.; Rabot A.; Tsai S.J.; Wiltbank M.C. (2002) Regulation of progesterone and prostaglandin F₂ α production in the CL. *Mol Cell Endocrinol* 191:65-80.
33. División Contralor de Semovientes (2013) Disponible en: www.mgap.gub.uy/DGSG/DICOSE/dicose.htm. Fecha de consulta: 15 de mayo de 2013.

34. Douglas R.H.; Ginther O.J. (1973) Luteolysis following a single injection of prostaglandin F_{2a} in sheep. *J Anim Sci* 37:990-993.
35. Driancourt M.A. (2001) Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55:1211-1239.
36. Driancourt M.A.; Gibson W.R.; Cahill L.P. (1985) Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. A review. *Reprod Nutr Dev* 25:1-15.
37. Duggavathi R.; Bartlewski P.M.; Barret D.M.W.; Rawlings N.C. (2005). The temporal relationship between patterns of LH and FSH secretion, and development of ovulatory-sized follicles during the mid- to late-luteal phase of sheep. *Theriogenology* 64:393-407.
38. Dukes M.; Russell W.; Walpole A.L. (1974) Potent luteolytic agents related to prostaglandin F_{2alpha}. *Nature* 250:330-331.
39. Durán Del Campo A. (1980) Anatomía, Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial en Ovinos. Montevideo, Hemisferio Sur. 264 pp.
40. Dutra da Silveira R, Soler D. (2013). Respuesta reproductiva en ovejas sincronizadas con dos dosis de un análogo sintético de prostaglandina F_{2α} administrada a diferentes intervalos de tiempo. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, UdelaR. 35 pp.
41. Evans A.C.O. (2003) Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim Reprod Sci* 78:289-306.
42. 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.

43. Fairnie I.J.; Wales R.G.; Gherardi P.B. (1977) Time of ovulation, fertilization rate, and blastocyst formation in ewes following treatment with a prostaglandin analogue (ICI 80996) [Abstract]. *Theriogenology* 8:183.
44. Fernández-Abella D. (1995) *Temas de Reproducción Ovina e Inseminación Artificial en Bovinos y Ovinos*. Montevideo, Departamento de Publicaciones de la Facultad de Agronomía. 206 pp.
45. Fernández-Abella D. (1993) *Principios de Fisiología Reproductiva Ovina. Hemisferio Sur-Universidad de la República*. Montevideo, División Publicaciones y Ediciones. 247 pp.
46. Fierro S. (2010) *Perdidas reproductivas en ovejas sincronizadas con prostaglandina*. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria, UDELAR. 45 pp.
47. Fierro S.; Gil J.; Viñoles C.; Olivera-Muzante J. (2013) The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: a review. *Theriogenology* 79:399-408.
48. Fierro S.; Gil J.; Bonino C.; Dutra da Silveira R.; Grela S.; Hourcade G.; Pechi C.; Soler D.; Braga J.; Olivera-Muzante J. (2012) Respuesta estral y ovulatoria en ovejas sincronizadas con diferentes protocolos en base a prostaglandina. XL Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. 14 y 15 de junio. Sección posters.
49. Fierro S.; Olivera J.; Gil J.; Viñoles C. (2011) Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology* 76:630-639.
50. Fierro S.; Olivera J.; Gil J. (2007) Inseminación artificial a tiempo fijo con semen fresco y refrigerado en ovinos con el protocolo Synchrovine®. XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. 7 al 9 de junio. PP 334-335.
51. Forichi S.; Olivera J.; Correa M.; Gil J.; Menchaca A.; Rubianes E. (2004) Reproductive response to two different oestrus synchronisation protocols using PGF 2α in sheep. *Reprod Fertil Dev* 16:506.

52. Fossati F.; Martinicorena M.; Regusci R. (2008) IATF en ovinos con semen fresco: comparación biológica y económica de protocolos de sincronización estral. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Paysandú, Uruguay. 55 pp.
53. Gibbons J.R.; Kot K.; Thomas D.L.; Wiltbank M.C.; Ginther O.J. (1999) Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology* 52:1005-1020.
54. Ginther O.J. (2000) Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci* 60-61:61-79.
55. Ginther O.J.; Kot K.; Wiltbank M.C. (1995) Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43:689-703.
56. Ginther O.J.; Kot K. (1994) Follicular dynamics during the ovary season in goats. *Theriogenology* 42:987-1001.
57. Gil J.; Olivera J.; Fierro S.; Duran G.; Gamarra J.; Teixeira V.; Araujo A.; Stoletniy G. (2006) II inseminación intrauterina con semen congelado en majadas merino fino: comparación de protocolos de sincronización estral. Proyecto merino fino del Uruguay- fase I. Séptima entrega de carneros del núcleo fundacional U.E. "Glencoe" 2006. Disponible en: www.inia.org.uy/estaciones/tacuarembo/MerinoWeb/Publicaciones%20pdf/Remate%20entrega%20diadel/SAD475.pdf. Fecha de consulta: 19 de Mayo de 2013.
58. Godfrey R.W.; Gray M.L.; Collins J.R. (1997) A comparison of two methods of oestrus synchronization of hair sheep in the tropics. *Anim Reprod Sci* 47:99-106.
59. González-Bulnes A.; Contreras-Solís I. (2012) Estrategias sostenibles para el manejo reproductivo de la oveja. Reunión Bianual sobre Reproducción Animal 2012. Del 4 al 5 de Octubre. Temascaltepec de González, Méjico. P 108-121.
60. González-Bulnes A.; Veiga-Lopez A.; Garcia P.; Garcia-Garcia R.M.; Ariznavarreta C.; Sanchez M.A. (2005) Effects of progestagens and

- prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology* 63:2523-2534.
61. González-Bulnes A.; Souza C.J.H.; Campbell B.K.; Baird D.T. (2004) Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Anim Reprod Sci* 84:107-119.
 62. González-Bulnes A.; Santiago-Moreno J.; García-García R.M.; Del Campo A.; Gómez-Brunet A.; López-Sebastian A. (2001) Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrus cycle. *Anim Reprod Sci* 65:265-272.
 63. Gordon I. (1999) Fixed-time sheep artificial insemination. En: Gordon I. (Ed.) "Control Reproduction in sheeps and goats". Wallingford, CAB International Press. P 86-109.
 64. Greyling J.P.C.; Erasmus J.A.; Taylor G.J.; Merwe S. (1997) Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. *Small Ruminant Res* 26:137-143.
 65. Hackett A.J.; Langford G.A.; Robertson H.A. (1981) Fertility of ewes after synchronization of estrus with prostaglandin F2a and artificial insemination. *Theriogenology* 15:599-603.
 66. Hackett A.J.; Robertson H.A. (1980) Effect of dose and time of injection of prostaglandin F2a in cycling ewes. *Theriogenology* 13:347-351.
 67. Hafez E.S.E.; Jainudeen M.R.; Wahid H. (2002) Ovejas y Cabras. En: Hafez E.S.E.; Hafez B. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. Séptima edición. Kyawah Island, Mc Graw-Hill Interamericana. PP 177-187.
 68. Hansel W.; Convey E.M. (1983) Physiology of the estrous cycle. *J Anim Sci* 57:404-424.

69. Haresign W.; Acritopoulou-Fourcroy S. (1978) Controlled breeding in sheep using the prostaglandin analogue, ICI 80996. *Livest Prod Sci* 5:313-319.
70. 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.
71. Hawken P.A.R.; Beard A.P. (2009) Ram novelty and the duration of ram exposure effect the distribution of mating in ewes exposed to rams during the transition into the breeding season. *Anim Reprod Sci* 111:249-260.
72. Hearnshaw H.; Restall B.J.; Nancarrow C.D.; Mattner P.E. (1974) Synchronization of oestrus in cattle, sheep and goats using a prostaglandin analogue. *Aust Soc Anim Prod* 10:242-245.
73. Houghton J.A.S.; Liberati N.; Schrick F.N.; Townsend E.C.; 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.
74. Hughes F.; Lucas J.M.S.; Notman A.B. (1976) The synchronization of oestrus and subsequent fertility in ewes following treatment with a synthetic prostaglandin analogue (ONO 453). *Prostaglandins* 11:1033-1039.
75. Knight T.W.; Ridland M.; Litherland A.J. (1998) Effect of prior ram-ewe contact on the ability of ram to stimulate early oestrus. *Proc N Z Soc Anim Prod* 58:178-180.
76. Knight T.W.; Tervit H.R.; Linch P.R. (1983) Effects of boar pheromones, ram's wool and presence of bucks on ovarian activity in anovular ewes early in the breeding season. *Anim Reprod Sci* 6:129-134.
77. Langford G.A.; Marcus G.J.; Batra T.R. (1983) Seasonal effects of PMSG and number of inseminations on fertility of progestogen-treated sheep. *J Anim Sci* 57:307-312.
78. Larson L.L.; Ball P.H.J. (1992) Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 38:255-267.

79. Letelier C.A.; Contreras-Solis I.; García-Fernández R.A.; Sánchez M.A.; 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. Leyva V.; Buckerell B.C.; Walton J.S. (1998) Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50:395-416.
81. Light J.E.; Silvia W.J.; Reid R.C. (1994) Luteolytic effect of prostaglandin F2 alpha and two metabolites in ewes. *J Anim Sci* 72:2718-2721.
82. Liu X.; Dal Q.; Hart E.J.; Duggavathi R.; Barrett D.M.; Rawlings N.C. (2006) Ovarian and endocrine responses to prostaglandin F2a (PGF2a) given at the expected time of the endogenous FSH peak at mid-cycle in ewes. *Theriogenology* 66:811-821.
83. Loubser P.G.; van Niekerk C.H. (1981) Oestrus synchronisation in sheep with progesterone-impregnated (MAP) intravaginal sponges and a prostaglandin analogue. *Theriogenology* 15:547-552.
84. Mann G.E.; McNeilly A.S.; Baird D.T. (1992) Hormone production in vivo and in vitro from follicles at different stages of the oestrous cycle in the sheep. *J Endocrinol* 132:225-234.
85. Martin G.B.; Milton J.; Davidson R.; Banchemo G.; Hunzicker G.; Lindsay D.; Blache D. (2004) Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Anim Reprod Sci* 82:231-246.
86. Martin G.; Oldham C.; Cognie Y.; Pearce D. (1986) The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams - a review. *Livest Prod Sci* 15:219-247.
87. Mauléon P.; Dauzier L. (1965) Variations de durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile de France. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 5:131-141.

88. McCracken J.A.; Glew M.E.; Scaramuzzi R.J. (1970) Corpus luteum regression induced by prostaglandin F₂ α . *J Clin Endocrinol Metab* 30:544-546.
89. McNatty K.P.; Gibb M.; Dobson C.; Thurley D.C. (1981) Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. *J Endocrinol* 90:375-389.
90. McNeilly A.S.; Picton H.M.; Campbell B.K.; Baird D.T. (1991) Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J Reprod Fertil Suppl* 43:177-186.
91. Menchaca A.; Rubianes E. (2012) Avances en el control ovárico en la oveja. Reunión Bianual Sobre Reproducción Animal 2012. Temascaltepec de González, México; del 4 al 5 de Octubre de 2012. PP 76-83.
92. Menchaca A.; Miller V.; Gil J.; Pinczak A.; Laca M.; Rubianes E. (2004) Prostaglandin F₂ α treatments associated with Timed Artificial Insemination in ewes. *Reprod Domestic Anim* 39:352-355.
93. Menchaca A.; Rubianes E. (2004) New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fertil Dev* 16:403-413.
94. Murphy B.D. (2000) Models of luteinization. *Biol Reprod* 63:2-11.
95. Nephew K.P.; McClure K.E.; Ott T.L.; Dubois D.H.; Bazer F.W.; Pope W.F. (1991) Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration in ewes. *Biol Reprod* 44:536-539.
96. Niswender G.D. (2002) Molecular control of luteal secretion of progesterone. *Reproduction* 123:333-339.
97. Noël B.; Bister J.L.; Paquay R. (1993) Ovarian follicular dynamics in suffolk ewes at different periods of the year. *J Reprod Fertil* 99:695-700.

98. Olivera-Muzante J.; Gil J.; Viñoles C.; Fierro S. (2013) Reproductive outcome with GnRH inclusion at 24 or 36 h following a prostaglandin F2-based protocol for timed AI in ewes. *Anim Reprod Sci* 138:175-179.
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.; Fierro S.; Duran G.; Gamarra J.; Teixeira V.; Araujo A.; Stoletniy G.I. (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. Séptima entrega de carneros del núcleo fundacional U.E. “Glencoe” 2006. Disponible en: www.inia.org.uy/estaciones/tacuarembu/MerinoWeb/Publicaciones%20pdf/Remate%20entrega%20diadel/SAD475.pdf. Fecha de consulta: 19 de Mayo de 2013.
102. Oyediji G.O.; Akasu M.O.; Egbunike. (1990) Comparative studies on the effectiveness of sil-estrus implants, veramix sheep sponges and prostaglandin F2 α in synchronizing estrus in west African dwarf sheep. *Theriogenology* 34:613-618.
103. Pearce G.P.; Oldham C.M. (1988) Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 84:333-339.
104. Pearce D.T.; Oldham C.M. (1984) The ram effect, its mechanism and application to the management of sheep—Review. In: Lindsay D.R.; Pearce D.T. *Reproduction in Sheep*. Cambridge, Cambridge University Press. PP 26-34.
105. Poidron P.; Cognie Y.; Gayerie F.; Orgeur P.; Oldham C.M.; Ravault J.P. (1980) changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or

- lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by introduction of rams. *Physiol Behav* 25:227-236.
106. Pope W.F.; Cárdenas H. (2004) Sensivity of sheep to exogenous prostaglandin F2 α early in the estrous cycle. *Small Rum Res* 55:245-248.
107. Ravindra J.P.; Rawlings M.C.; Evans A.C.O.; Adams G.P. (1994) Ultrasonography study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrus cycle. *J Reprod Fertil* 101:501-509
108. Roberts E.M.; Hafez E.S. (1969) Synchronization of estrus in cyclic merino ewes with vaginal sponges and pregnant mare serum. *Am J Vet Res* 30:207-210.
109. Robinson T.J. (1965) Use of progestagen impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrous cycle in the sheep. Australia. *Nature* 206:39-41.
110. Rubianes E.; Menchaca A.; Carbajal B. (2003) Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 α . *Anim Reprod Sci* 78:47-55.
111. Rubianes E.; Beard A.; Dierschke D.J.; Bartlewski P.; Adams G.P.; Rawlings N.C. (1997) Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF2 α and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology* 48:1093-1104.
112. Rubianes E.; Ungerfeld R.; Viñoles C.; Rivero A. (1996) Ovarian response after traditional or alternative superovulatory FSH treatment in ultrasonography monitored ewes. XIII International Congress on Animal Reproduction, 28 June – 3 July, Sydney, Australia 2:7-8.
113. Russel A.J.F.; Doney J.M.; Gunn R.G. (1969) Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci (Cambridge)* 72:451-454.
114. SAS. (2001) SAS 9.1.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

115. Scaramuzzi R.J.; Adams N.R.; Baird D.T.; Campbell B.K.; Downing J.A.; Findlay J.K.; Henderson K.M.; Martin G.B.; McNatty K.P.; McNielly A.S.; Tsonis C.G. (1993) A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod Fertil Dev* 5:459-478.
116. Schrick N.F.; Surface R.A.; Pritchard J.Y.; Dailey R.A., Townsend S.; Inskoop E.K. (1993) Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biol Reprod* 49:1133-1140.
117. Shelton M. (1960) The influence of the presence of the male on initiation of oestrus cycling and ovulation in Angora does. *J Anim Sci* 19:368-375.
118. Signoret J.P.; Fulkerson W.J.; Lindsay D.R. (1982) Effectiveness of testosterone-treated wethers and ewes as teasers. *Appl Anim Ethol* 9:37-45.
119. Simonetti L.; Gardón J.C.; Ramos G. (1999) Residual levels on medroxyprogesterone acetate (MAP)-impregnated sponges after estrus synchronization treatment in cyclic ewes. *Braz J Vet Res Anim Sci* 36(5).
120. Smeaton T.C.; Robertson H.A. (1971) Studies on the growth and atresia of graafian follicles in the ovary of the sheep. *J Reprod Fertil* 25:243-252.
121. Stacey B.D.; Gemmel R.R.T.; Thorburn G.D. (1976) Morphology of the corpus luteum in the sheep during regression induced by prostaglandinF2a. *Biol Reprod* 14:280-291.
122. SUL. (2013) Boletín de exportación del rubro ovino. Uruguay: Exportaciones del rubro ovino. http://www.sul.org.uy/mercados_boletin_exportaciones.asp. Fecha de consulta: 20 de Diciembre de 2013.
123. Thimonier J. (1979) Hormonal control of oestrous cycle in the ewe (a review). *Livest Prod Sci* 6:39-50.
124. Ungerfeld R. (2002) Control endócrino del ciclo estral. En: Ungerfeld R. *Reproducción en los animales domésticos*. Melibea. Montevideo, V1. PP 41-55.

125. 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 R. Reproducción en los animales domésticos. Melibea. Montevideo, V2. PP 483-493.
126. Viñoles C.; Paganoni B.; Milton J.T.B.; Driancourt M.A.; Martin G.B. (2011) Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronization with prostaglandin, sponges or sponges with bactericide. *Anim Reprod Sci* 51:565-569.
127. Viñoles C.; Paganoni B.; Glover K.M.M.; Milton J.T.B.; Blache D.; Blackberry M.A. (2010) The use of a “first-wave model” to study the effect of nutrition on ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. *Reproduction* 140:865-874.
128. 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.
129. Viñoles C.; Fosberg M.; Banchero G.; Rubianes E. (2001) Effect of long-term and short-term progesterone treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55(4):993-1004.
130. Viñoles C.; Banchero G.; Rubianes E. (1999a) Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cyclings ewes with high and low body condition score. *Theriogenology* 51:437.
131. Viñoles C.; Meikle A.; Forsberg M.; Rubianes E. (1999b) 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.
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. Weems C.W.; Weems Y.S.; Randel R.D. (2006) Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Vet J* 171:206-228.
134. White L.M.; Keisler D.H.; Dailey R.A.; Inskeep E.K. (1987) Characterization of ovine follicles destined to form subfunctional corpora lutea. *J Anim Sci* 65:1595-1601.
135. 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 Reprod Sci* 46:79-87.
136. Zoovet®. Disponible en: http://zoovet.com.ar/es/productos/grandes_animales.
Fecha de consulta: 17 de octubre de 2013.