

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**“EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN PROTEICA CORTA SOBRE LAS
PÉRDIDAS REPRODUCTIVAS EN OVINOS INSEMINADOS A TIEMPO FIJO VÍA
CERVICAL”**

por

ARBIZA AIZPUN, Juan Pablo

**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
2016**

PAGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa

Dr. Jorge Gil

Segundo miembro (tutor)

Dr. Julio Olivera Muzante

Tercer miembro

Dr. Roque Almeida

Cuarto miembro (co-tutor)

Br. Mauro Minteguiaga

Fecha

22/12/2016

Autores

Juan Pablo Arbiza

AGRADECIMENTOS

- ✧ A Julio Olivera por ser mi tutor, por su tiempo, por todo lo que me enseñó, por su disponibilidad y actitud positiva siempre que lo necesité
- ✧ A Mauro Minteguiaga mi Co-tutor, por su tiempo y dedicación, a Sergio Fierro por su colaboración en las ecografías, Jorge Gil por sus aportes en reproducción, y Martín Claramunt.
- ✧ A la familia Errandonea-López por brindarme hospitalidad y tratarme como parte de la familia, a Luís Albarenga por su compañerismo y sus enseñanzas de “lo que no está en los libros”
- ✧ A mis padres, por su paciencia, por ayudarme a nunca perder de vista mi objetivo, por no dejarme aflojar y siempre estar presentes. A mis hermanos por ser lo más importante de mi vida y motivarme a ser mejor cada día.
- ✧ A mi abuelo “Chito” por ser mi referente, por su paciencia desde niño y por enseñarme lo que es el amor por los animales, a mi abuela Dolores por extrañarme y mimarme más que nadie y darme fuerzas para meter cada día.
- ✧ A mis amigos Juan Agustín Andrada, Gonzalo Barcelo, Hernán Huguaburu, Gastón Rodríguez y Laioner Díaz por ser mis hermanos de la vida.
- ✧ A la Facultad de Veterinaria por abrirme sus puertas y permitirme formarme académicamente.
- ✧ A los compañeros y amigos que la carrera me dejó por hacer de la misma más llevadera.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMENTOS	3
TABLA DE CONTENIDO.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
Fisiología reproductiva del ovinos.....	10
Dinámica folicular en ovinos	11
Inseminación Artificial (IA)	13
IA a Tiempo Fijo (IATF).....	13
Sincronización de estros y ovulaciones en ovinos.....	14
Protocolos en base a progestágenos y gonadotropinas (P4-eCG).....	14
Protocolos en base a prostaglandinas.....	15
Alimentación focalizada	16
IATF y alimentación focalizada	17
Suplementación focalizada previo al servicio repaso	18
Mortalidad embrionaria en ovinos.....	18
Defectos cromosómicos	19
Defectos de los gametos	19
Preservación seminal	19
Protocolos de sincronización	20
Genotipo del embrión	20
Variación entre razas y tipo de ovulación	20
Ingesta de plantas tóxicas	21

Desequilibrios hormonales y/o metabólicos.....	22
Factores intrínsecos	24
Factores ambientales	25
Sanidad	26
OBJETIVOS	28
HIPÓTESIS	28
MATERIALES Y MÉTODOS	28
RESULTADOS	33
DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIÓN.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Endocrinología del ciclo estral (adaptado de Senger, 1999).....	10
Figura 2. Esquema del crecimiento folicular de ondas en la oveja (adaptado de Senger, 2005 y Fierro, 2010).....	12
Figura 3. Diseño experimental.....	31
Figura 4. Precipitaciones acontecidas durante el ensayo.....	33
Figura 5. Evolución de condición corporal a lo largo del ensayo.....	34
Figura 6. Evolución de peso vivo a lo largo del ensayo.....	34
Tabla 1. Resultados reproductivos en ovejas múltiparas Merino servidas por IATF vía cervical con semen fresco, pastoreando solo campo natural (Control) o suplementadas con Harina de Soja los Días 8 al 14 respecto a la IATF (Tratamiento).....	35
Tabla 2. Pérdidas reproductivas parciales, totales, o retención total de embriones (% de ovejas) hasta el Día 60 en ovejas múltiparas Merino servidas por IATF vía cervical con semen fresco, pastoreando solo campo natural (Control) o suplementadas con Harina de Soja los Días 8 al 14 respecto a la IATF (Tratamiento).....	36

RESUMEN

El objetivo de este experimento fue estudiar las pérdidas reproductivas en ovejas Merino Australiano, generadas por una suplementación de corta duración en base a Harina de Soja entre los Días 8 y 14 post servicio de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF). El experimento se realizó en el establecimiento “El Recuerdo” (familia Errandonea López), ubicado en la localidad de Tomás Gomensoro (Artigas, Uruguay; 30,4° S, 57,4° O). Se seleccionaron 312 ovejas múltiparas en estación reproductiva, manejadas siempre en una parcela sobre campo natural de basalto medio. Todas las ovejas fueron sincronizadas con esponjas vaginales de medroxiprogesterona (MAP) por 12 días y gonadotrofina coriónica equina (eCG) a su retiro, y suplementadas con Harina de Soja entre los días -9 y -3 previo al servicio. Se les realizó IATF (Día 0) vía cervical a 52 ± 2 horas después de retiradas las esponjas con semen fresco diluido. Las ovejas se dividieron en dos grupos Control y Tratamiento, homogéneos en tasa ovulatoria, condición corporal y peso vivo. El grupo Tratamiento fue suplementado con Harina de Soja entre los Días 8 y 14 pos IATF, ofrecida a razón del 1,2% del peso vivo. Se registraron las precipitaciones, la evolución de condición corporal cada 21 días y el peso vivo al inicio y fin del ensayo. Se evaluó la tasa de no retorno al estro al Día 21 (NR_D21), y la fertilidad, prolificidad y fecundidad al Día 60. Se determinaron las pérdidas reproductivas parciales, totales y la retención total de embriones para ambos grupos. No se observaron cambios de importancia en peso vivo y condición corporal a lo largo del experimento en ninguno de los grupos. No se observaron diferencias significativas entre grupos Control y Tratamiento en el NR_D21 (63,7 vs. 65,8%), fertilidad (62,4 vs. 64,5%), prolificidad (1,32 vs. 1,33) y fecundidad (82,8 vs. 85,2%, $P > 0,05$). Tampoco se observaron diferencias significativas entre grupos Control y Tratamiento en el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples y pérdidas parciales (36,3 vs. 34,5%), con pérdidas totales (37,6 vs. 35,5%) o con retención total de los embriones generados (43,9 vs. 46,5%, $P > 0,05$). Se concluye que en los niveles aquí testeados la suplementación de ovejas con Harina de Soja entre los Días 8 al 14 pos servicio de IATF no genera diferencias en el comportamiento y/o pérdidas reproductivas de este servicio.

SUMMARY

The objective of this experiment was to investigate the reproductive wastage induced by a soybean meal short term supplementation from day 8 to day 14 after Timed Artificial Insemination (TAI) in Australian merino sheep. The experiment was performed in the "El Recuerdo" farm, located in Tomas Gomensoro, Artigas, Uruguay (-30.4° S, -57.4° W). During the breeding season we select 312 multiparous ewes, grazing native pasture, synchronized with progestogens by 12 days and eCG at sponge removal, and supplemented with soybean meal from day -9 to day -3 before the TAI (Day 0). TAI was performed at 52 ± 2 hours after the sponge removal with diluted fresh semen. The ewes were divided in two groups, Control and Treatment, considering ovulation rate, body condition and body weight. Treatment group was supplemented with soybean meal from day 8 to day 14 after the TAI offered at 1.2% of body weight. Rainfall, evolution of body condition each 21 days, and body weight at the beginning and the end of the experiment were evaluated. The rate of no return to estrus at day 21 (NR_D21), fertility, prolificacy and fecundity at Day 60 were evaluated. Partial, total reproductive wastage and total embryo retention were determined for both groups. There was no significant differences ($P > 0.05$) between Control and Treatment group in NR_D21 (63.7 vs. 65.8), fertility (62.4 vs. 64, 5%), prolificacy (1.32 vs. 1.33) and fecundity (82.8 vs. 85.2%). There was no significant differences between Control and Treatment group in the percentage of ewes with multiple ovulations and partial wastage (36.3 vs. 34.5%), total wastage (37.6 vs. 35.5%) or total embryo retention (43.9 vs. 46.5%, $P > 0.05$). It is concluded at levels tested here that the supplementation of ewes with Soybean Meal between Days 8 and 14 post TAI does not generate differences in the behavior and / or reproductive wastage of this service

INTRODUCCIÓN

Durante el año 2015 ingresaron a Uruguay un total de 324 millones de dólares por concepto de exportaciones de los productos derivados del ovino (lana y productos de lana, carne ovina, pieles ovinas, ovinos en pie, y grasa de lana y lanolina). Este monto representó una baja del 15% respecto a igual período anterior (SUL, 2016). A pesar de ello la visión es que se está pasando por un momento estratégico para mejorar la competitividad de la ganadería ovina a través de la innovación, intensificación/eficiencia de la producción y especialización, alineando genética, sistemas de producción y mercados (“nichos”), en un marco de intensificación sostenible (Montossi, 2016). Por lo que se debería incrementar la productividad, difundir el negocio ovino, trabajar en redes, innovar, y capacitar a todos los agentes involucrados en el rubro ovino (Gambetta, 2016).

La tasa de procreo o señalada en los ovinos es uno de los indicadores de mayor relevancia para medir la eficiencia de los establecimientos criadores de ovinos. En términos promedio país este indicador no supera el 67% en los últimos veinte años de registros (DICOSE, 2016), lo cual dista mucho del potencial de la especie. Los grandes componentes para una mejora de este indicador son la fertilidad de las ovejas encarneradas (% de ovejas preñadas), la prolificidad (número de corderos por oveja parida), y la supervivencia de los corderos nacidos (Azzarini, 2000). El manejo nutricional pre-servicio es determinante en la fertilidad y prolificidad a alcanzar en una majada, ya que, mediante un incremento en el plano nutricional pre-servicio se logra incrementar la tasa ovulatoria (TO) y/o prolificidad; este incremento se puede lograr ya sea mediante el aumento del peso vivo (PV; flushing “tradicional”; Ganzabal y col., 2003) o sin cambios en el PV del animal (flushing “corto” o “suplementación focalizada”; Banchemo y col., 2005). Para ello, la mayoría de los experimentos en los que se han realizado suplementación focalizada han utilizado un modelo de “pre-sincronización” de los estros, con una o dos dosis de prostaglandina o con progestágenos, empleando para la suplementación el estro natural posterior al inducido por estas hormonas (Viñoles y col., 2003; Banchemo y col., 2011). Dada la inevitable dispersión de los estros naturales que se genera con estos tratamientos de pre-sincronización (de seis a diez días, utilizando una o dos dosis de prostaglandina respectivamente; Olivera y col., 2003; Olivera y Gil, 2005), es de suponer que no todas las ovejas reciben la alimentación en la “ventana” de tiempo más precisa (o sea en fase luteal; Smith y Stewart, 1990; Downing y col., 1995). Recientemente se ha comprobado que una suplementación proteica focalizada (Harina de Soja durante 5 días), previa al servicio de IATF de ovejas sincronizadas en base a protocolos “largos” de separación entre dosis de prostaglandina o en base a progestágenos y eCG, puede mejorar en forma significativa la TO y/o prolificidad como lo hace sobre ovejas en estro espontáneo (Olivera-Muzante y col., 2016; Hitateguy, 2016).

A pesar de ofrecer el alimento a todas las ovejas, los resultados de la suplementación de corta duración han variado en un rango del 0 al 54% de aumento en TO (Stewart y Oldham, 1986; Teleni y col., 1989a, b; Downing y col., 1995). Sin embargo, se requerirían aumentos del orden del 50% en TO para que se exprese en el nacimiento de un mayor número de corderos si consideramos que la mortalidad

embrionaria normal es alta en las 4 primeras semanas post- apareamiento (rango de 10 a 55%; Wilkins y Croker, 1990; Niswender y Nett, 1994). Aún actuando en una ventana más “específica” que con estro espontáneo pre-sincronizado, y verificándose un efecto positivo de la suplementación proteica en la prolificidad de ovejas durante un servicio de IATF, el mismo se vería algo diluido en términos promedio cuando se considere en forma conjunta el obtenido junto al servicio de repaso, donde se volvería a los valores medios de TO y prolificidad del biotipo utilizado. Por ello parece de sumo interés, aprovechando la gran sincronización de estros espontáneos que ocurrirá en el servicio posterior al de IATF (y con el objetivo de tener el mayor número de ovejas gestantes con carga fetal múltiple), volver a suplementar las ovejas en forma focalizada previa al servicio repaso. Sin embargo, debería tenerse en cuenta que estos altos niveles de proteína cruda administrados los días previos al comienzo del servicio repaso, en momentos críticos para el reconocimiento materno de la gestación, podrían mejorar la prolificidad en aquellas ovejas que no hubieran concebido, pero ser perjudiciales para aquellas que si lo hubieran hecho, elevando sus pérdidas embrionarias. El objetivo principal de este trabajo fue confirmar o no este efecto analizando las pérdidas reproductivas de ovejas inseminadas a tiempo fijo y suplementadas con Harina de Soja los días previos al servicio repaso.

REVISION BIBLIOGRÁFICA

Fisiología reproductiva del ovino

El ovino se define como una especie poliéstrica estacional de día corto, caracterizada por una época del año en que la mayoría de las hembras presentan cíclicamente estros (estación reproductiva), y otra en que se encuentran en anestro, lo cual es regulado por un mecanismo neurohormonal (Duran del Campo, 1980). El estro es el período en el cual la hembra acepta la monta del macho y se presenta a intervalos regulares de entre 14 y 20 días (promedio 17) (Ungerfeld, 2002)

Se denomina ciclo estral al periodo transcurrido entre dos estros y se puede dividir en 4 etapas (Ungerfeld, 2002): Proestro (desde el comienzo de la luteólisis hasta el inicio del estro), Estro propiamente dicho, Metaestro (desde el final del estro hasta la formación del Cuerpo Lúteo -CL-) y Diestro (presencia de un CL activo). Una forma más simple de dividir el ciclo estral, es denominarlo según las estructuras presentes en el ovario; es así que se encuentra una fase folicular donde se produce el desarrollo final de los folículos, la ovulación y el comienzo de la formación del CL en donde la hormona con mayor presencia es el estradiol (E₂), y la fase luteal destacando la presencia del CL y la progesterona que éste produce hasta la lisis del mismo (Ungerfeld, 2002). El CL tiene una actividad funcional de entre 14 y 15 días en la oveja y durante 12 de estos días secreta niveles altos de progesterona (Hafez y Hafez, 2002). El estro tiene una duración en la oveja de 24 a 36 horas dependiendo de la raza, edad, estación de año y presencia del macho (Fernández Abella, 1987; Hafez y Hafez, 2002). La ovulación es espontánea y se presenta al final del estro, unas 24 a 27 horas de iniciado éste (Fernández Abella, 1987; Hafez y Hafez, 2002).

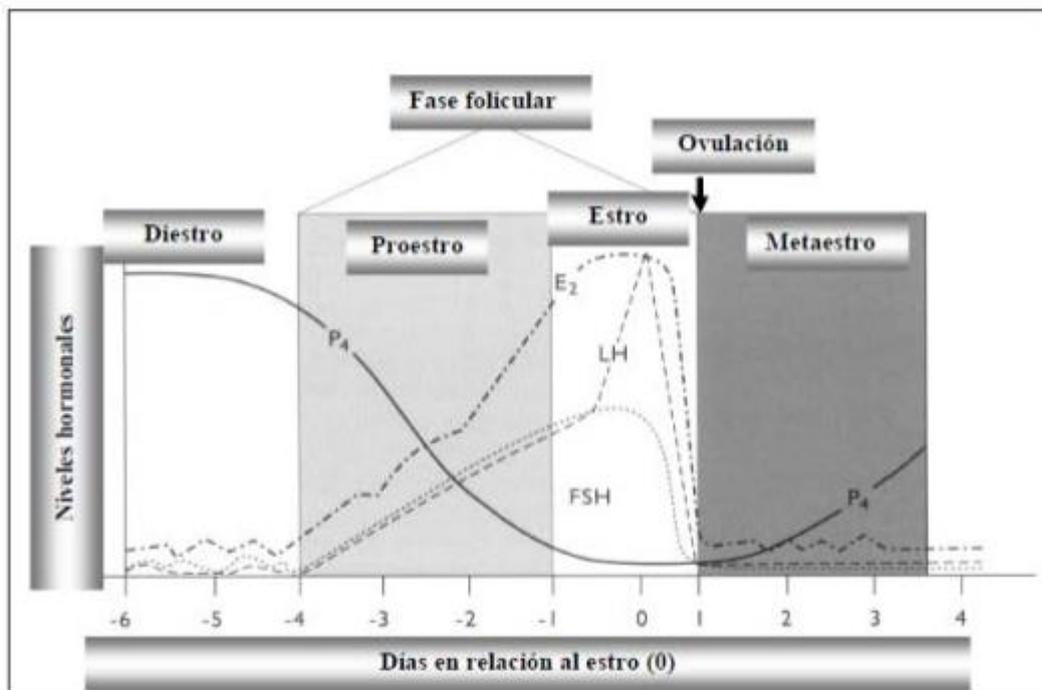


Figura 1: Endocrinología del ciclo estral (adaptado de Senger, 1999).

Dado que el ciclo estral resulta de la coordinación fundamentalmente de cuatro órganos (cerebro, hipófisis, ovarios y útero), debemos analizar cómo se vinculan éstos entre sí; la comunicación se realiza fundamentalmente (aunque no

exclusivamente) a través de hormonas (Ungerfeld, 2002). La endocrinología del ciclo estral se esquematiza en la Figura 1. La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) estimula la liberación de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) e induce la ovulación (pico de LH), entendiéndose por ovulación, el acto de ruptura del folículo maduro y la liberación del ovulo (Durán del Campo, 1980). La FSH es secretada en forma de picos y regula el crecimiento folicular, hay dos picos principales durante el ciclo estral, uno que coincide con el pico preovulatorio de LH y el segundo se encuentra muy próximo a la ovulación, después de 24-30 horas del primero (Fernández Abella, 1993). Se ha concluido que los niveles de FSH en el proestro están relacionados con la TO y que los niveles en el segundo pico repercuten en la TO de los próximos ciclos estrales (Forcada Miranda, 1996). Dependiendo del tamaño folicular es la respuesta que va a tener ese folículo a la secreción de FSH (mayor a 2 mm mayor sensibilidad; Fernández Abella, 1993), reguladas por señales de feedback por el folículo mayor el cual secreta inhibina y estradiol (Rubianes y col., 1995). La LH es secretada en pulsos, en la etapa preovulatoria los pulsos aumentan su frecuencia y disminuyen su amplitud, mientras que en presencia de un CL la frecuencia es baja y la amplitud es mayor. Cada vez que hay un pulso de LH en respuesta es secretado un pulso de estradiol, siendo este, el responsable del feedback positivo en la secreción de LH (Fernández Abella, 1993), y el factor luteotrófico más importante (Ungerfeld, 2002). Con respecto a los estrógenos, el principal en la oveja es el 17-β estradiol (E2), sus funciones principales son inducir el estro, determinar el pico preovulatorio de LH y regular el comportamiento sexual (Fernández Abella, 1993). La progesterona (como su nombre lo indica, la hormona de la preñez) es la principal secreción del CL. Induce muchas respuestas, entre las que se encuentran estimular la hipertrofia de las glándulas endometriales, estimular el crecimiento alveolar de las glándulas mamarias, estimular la actividad secretoria del oviducto y de las glándulas endometriales, estimular el comportamiento estral fuera del periodo normal en algunas especies (oveja y perra) en combinación con estrógenos, bloquear la motilidad uterina, y regular la secreción de gonadotropinas. Los efectos de la progesterona se producen comúnmente en sinergismo con los estrógenos (Ungerfeld, 2002). Dentro de las prostaglandinas, las más importantes desde el punto de vista reproductivo son la F2α (PG) y la prostaglandina-E2, su acción está relacionada a la inducción del parto, ovulación, lisis del cuerpo lúteo y transporte de gametos.

Dinámica folicular en ovinos

La emergencia de los folículos ováricos que crecen desde 3 hasta 6 mm ocurre en ondas (Figura 2), en un rango de 2 a 4 ondas foliculares en cada ciclo, siendo el patrón predominante de 3 ondas que emergen alrededor de los días 0, 6 y 11 del ciclo estral. En los casos que se encontró una cuarta onda, la onda 3 emerge más tempranamente y la onda 4 emerge el día 14 (Ginther y col., 1995; Viñoles y col., 1999; Evans y col., 2000).

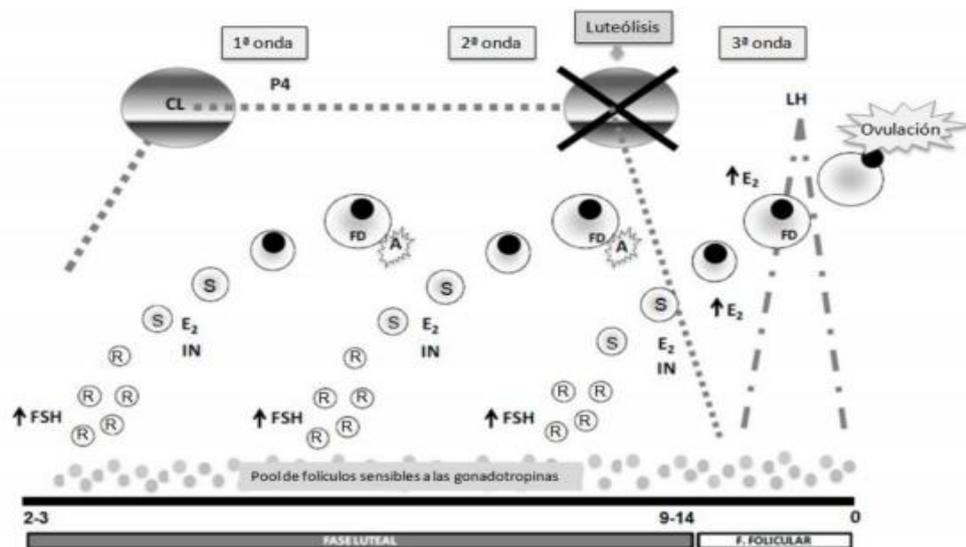


Figura 2: Esquema del crecimiento folicular en ondas en la oveja (en base a Senger, 2005 y Fierro, 2010).

CL: cuerpo lúteo; P4: progesterona; FSH: hormona foliculo estimulante; LH: hormona luteinizante; S: selección folicular; FD: folículo dominante de la onda folicular; A: atresia (en presencia de altos niveles de progesterona, 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, ante la disminución de la progesterona, el folículo sigue creciendo, produciendo E2, por retroalimentación positiva se libera LH y se genera el pico preovulatorio de LH, el cual dará lugar a la ovulación del/los FD. F. Folicular: fase folicular.

Existe una relación entre la concentración de la hormona FSH y la emergencia folicular, donde un aumento en la concentración de FSH precede la emergencia de cada onda (Ginther y col., 1995; Souza y col., 1997). No obstante, la oveja es capaz de desarrollar más de un folículo dominante, fenómeno denominado co-dominancia, lo que permite la ocurrencia de ovulaciones múltiples. Las ovulaciones múltiples pueden ocurrir por el reclutamiento y/o selección de un mayor número de folículos dentro de una misma onda, o por la ovulación de folículos dominantes de dos ondas consecutivas (Scaramuzzi y col., 1993). Los niveles crecientes de progesterona durante la fase lútea temprana suprimen el crecimiento del folículo dominante de la primera onda folicular en ovejas (Rubianes y col., 1996) y aceleran la emergencia de la siguiente onda folicular. En contraposición, niveles sub lúteales de progesterona prolongan la sobrevivencia del folículo dominante y extienden su dominancia (Viñoles y col., 1999). La dominancia en la fase lútea temprana del ciclo estral es mayor comparada con la que ocurre en fase lútea media o tardía (Seekallu y col., 2010). Esto podría tener implicancias en el número de folículos disponibles para ovular al momento de la interrupción del ciclo estral, y por ende en la TO alcanzada. Viñoles y col. (2002), sostienen que la condición corporal (CC) afecta el número de ondas que se desarrollan durante el ciclo. Ovejas con buena CC (4,1 puntos de CC; escala 0 a 5, Russel y col., 1969) desarrollan un patrón constante de 3 ondas, mientras que ovejas flacas (1,9 puntos de CC) desarrollan 2 o 3 ondas. Dado que las ovejas gordas tienen una TO más alta que las flacas (efecto “estático” de la nutrición o peso “estático”; Downing y Scaramuzzi, 1991), se plantea la asociación positiva entre la CC, el número de ondas foliculares y la TO. Debido a esto, Viñoles y col. (2003) proponen la alimentación de calidad como una alternativa, que suministrada en un momento dado (a partir de la segunda

mitad del ciclo estral, correspondiendo con la emergencia de la 3^{er} onda folicular) repercutiría en la TO, debido a que el aporte de proteína y energía aumentaría los niveles circulantes de FSH durante la fase folicular, lo que conllevaría a un incremento en el número de folículos seleccionados para ovular.

Inseminación Artificial (IA)

Es el método de reproducción en el que las células sexuales masculinas son transportadas al tracto genital femenino a través de medios mecánicos que sustituyen los órganos especializados del macho (Durán del Campo, 1980; Fernández Abella y Villegas, 2015). La IA presenta varias ventajas, entre ellas la posibilidad de masificar el uso de reproductores genéticamente superiores para características de interés productivo (diámetro de lana y peso de vellón, peso corporal, conformación, etc.), ya que aumenta la cantidad de hembras que pueden ser cubiertas con el mismo macho (Duran del Campo, 1980; Gil, 2002; Menchaca y Rubianes, 2004; Vilariño y Menchaca, 2007). Desde el punto de vista operativo permite incluso el uso de machos con alteraciones físicas, y permite el transporte del material genético de forma más económica y con menores riesgos que el transporte del reproductor. Desde el punto de vista sanitario evita el contacto directo de macho y hembra previniendo la transmisión de enfermedades venéreas (Gil, 2002).

Las diferentes técnicas de IA existentes varían dependiendo del sitio de deposición del semen. Pudiendo ser vaginal profunda o “a ciegas”, cervical o peri cervical, intrauterina quirúrgica, o intrauterina laparoscópica (Gil, 2002). La inseminación vaginal profunda consiste en depositar el semen cranealmente en la vagina sin ubicar el cérvix, es la técnica más sencilla de todas pero la mayoría de los trabajos reportan menores resultados comparando con la IA cervical (Durán del Campo, 1993). Por lo tanto dicha técnica sólo se utiliza en caso de no ser posible la IA cervical, aumentando dos o tres veces la dosis de semen (Fernández Abella, 1995). La inseminación cervical o peri cervical es la técnica más utilizada hasta el momento. La deposición de semen se realiza en la entrada del cérvix con el uso de un vaginoscopio y la pistola de inseminación. Los resultados obtenidos reflejados en el porcentaje de preñez dependen del tipo de preservación seminal. Cuando se utiliza semen fresco da como resultado una alta fertilidad, cercana a la que se obtiene con monta natural (Evans y Maxwell, 1990). La inseminación intrauterina (IAIU) es más difícil y costosa que las anteriores. Esta técnica permite depositar el semen directamente en el cuerno uterino evitando la barrera cervical. De esta forma se logran con semen congelado resultados cercanos a la IA cervical con semen fresco. El procedimiento más utilizado para la IAIU es la laparoscopia (Ungerfeld, 2002).

IA a Tiempo Fijo (IATF)

Según Duran del Campo (1980), la elevada mano de obra necesaria, la escasez de la misma, y la gran cantidad de buenos carneros, quizás han actuado como freno al desarrollo y extensión de la técnica de IA en ovinos. Las cifras del Censo General Agropecuario del 2011 (DIEA, 2014), muestran que de un total de 3.950.000 de ovejas de cría presentes en el Uruguay en ese momento, solo se inseminaron unas 330.000 ovejas, es decir solo un 9% de los vientres posibles. Así como ha ocurrido en la especie bovina en los últimos años, el aumento del uso de la IA en ovinos podría ocurrir a través de un incremento de la adopción de la IATF.

La IATF es una biotecnología reproductiva que permitiría, entre otras cosas, disminuir los días de servicio, evitar la detección de estros, optimizar el uso de la mano de obra capacitada, evitar pasadas innecesarias por los corrales, contraer problemas sanitarios, pérdidas de CC, etc. (Menchaca y Rubianes, 2004; Olivera y Gil, 2005).

La IATF posibilitaría además, establecer un manejo ovino de “precisión” (Ponzoni, 2014). También permitiría realizar, en forma más “efectiva”, una suplementación corta pre servicio (para aumentar la TO y con esto la prolificidad), así como también una suplementación pre parto (para lograr mejorar la cantidad y calidad de calostro, y con ello intentar disminuir la mortalidad perinatal de corderos). La IATF permitiría generar un lote más parejo de corderos por la gran concentración de partos, y optimizar así la vigilancia sobre estos, que acompañados de una buena recría nos brindaría una buena reposición de hembras, y un lote homogéneo de machos para su envío a faena (Olivera y Gil, 2005; Bancho y col., 2005)

Pero para aumentar la adopción de la IATF en ovinos, parece importante identificar y validar otros protocolos de sincronización de estros que permitan simplificar, economizar y a la vez mejorar sus resultados, sin descuidar aspectos del bienestar “humano-animal-ambiental”, tales como residuos y tiempos de espera para el consumo de carne y leche, estrés animal por manejos prolongados, residuos en el ambiente, etc. (Olivera-Muzante y col., 2011; Fierro y col., 2014). Otro de los factores que frenan la adopción de la IATF en ovinos es el temor de los productores a una mayor mortalidad perinatal de los corderos nacidos, principal pérdida reproductiva observada en nuestros sistemas ovinos extensivos (Azzarini, 2000). Hasta que no se demuestre que la mortalidad perinatal de corderos provenientes de un servicio de IATF puede ser similar, e incluso inferior a la de las encarneradas tradicionales o de IA a estro visto, ya que permite una mejor vigilancia dado que la parición tiene corta duración, no crecerá la adopción de la IATF como biotecnología válida y eficiente (Olivera-Muzante, 2015).

Sincronización de estros y ovulaciones en ovinos

Para poder implementar un servicio de IATF es necesario sincronizar los estros y ovulaciones. El control del ciclo estral, concretamente la inducción y sincronización del estro, se ha llevado a cabo en ovinos mediante el empleo de métodos farmacológicos y/o naturales. Entre los primeros se destacan el uso de progesterona y/o sus análogos asociados a eCG, que además de sincronizar, incrementan la TO a través de un mayor reclutamiento y una menor atresia de los folículos (Mc Natty, 1982); y de las prostaglandinas y/o sus análogos sintéticos, administrados por vía parenteral. Entre los métodos naturales, destaca el uso de la bioestimulación ejercida por la presencia del carnero más conocido como “efecto macho”

Protocolos en base a progestágenos y gonadotropinas (P4-eCG)

Los métodos de sincronización del estro y de la ovulación que utilizan progesterona o sus análogos sintéticos (progestágenos, P4), se basan en sus efectos sobre la fase luteal del ciclo, simulando la acción de la progesterona natural producida por el CL después de la ovulación (Mejía y María, 2010), motivo por el cual los tratamientos tradicionales duran 12 a 14 días (Gordon, 1999), en donde se inhibe la GnRH (Abecia y col., 2012), y consecuentemente también la LH y la FSH (Aké y col., 2003). Por lo tanto, controla la duración de la vida del CL y las

concentraciones circulantes de progesterona permitiendo la regulación del ciclo estral, presentando estro y ovulación tras su retirada (Robinson, 1965; Abecia y col., 2012). El uso de progesterona natural o P4 es una alternativa flexible, ya que pueden ser utilizados tanto en anestro estacional como en la estación reproductiva (Menchaca y Rubianes, 2004). Generalmente, se administran por medio de dispositivos y/o esponjas intravaginales, siendo los más utilizados comercialmente la progesterona natural (en dosis de 300 mg habitualmente), el acetato de fluorogestona (FGA; entre 20 y 40 mg) y el acetato de medroxiprogesterona (MAP; dosis 60 mg), ya sea en forma de dispositivo de liberación controlada conocido como CIDR (progesterona natural) o en forma de esponjas de poliuretano (MAP o FGA) (Ungerfeld y col., 2002; Mejía y María, 2010; Abecia y col., 2011; González-Bulnes y Contreras-Solís, 2012), sin diferencias en fertilidad entre dispositivos (Ungerfeld y Rubianes, 1999). Al momento de la retirada, y con la finalidad de mejorar la maduración folicular y la sincronía de la ovulación, habitualmente se combina con la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG), en dosis que varían de 250 a 600 U.I., según raza, peso del animal y época del año (Roberts y Hafez, 1969; Langford y col., 1983; Greyling y col., 1997; Leyva y col., 1998), ocurriendo la ovulación a las 60 horas promedio de retirados los dispositivos (Maxwell, 1986). Es recomendado realizar la IATF entre las 48 y 60 hs de retirado el dispositivo, con aceptables resultados, dependiendo de la vía de IA utilizada (cervical o uterina), y del tipo de preservación seminal realizada. El uso de estas hormonas combinadas (P4-eCG) ha obtenido hasta el momento mejores resultados reproductivos que otros protocolos en base a PG (Olivera-Muzante y col., 2011), pero con una fertilidad menor a un estro espontáneo (Hawk y Cooper, 1977; Larson y Ball, 1992). La sincronización con P4 por 12 a 14 días (protocolo “tradicional” o largo), podría provocar, según algunos autores, una menor tasa de fertilidad (Camacho y col., 2008; Uribe Velásquez y col., 2009), al promover la persistencia de un folículo dominante con la consecuente ovulación de ovocitos envejecidos y menos fértiles (Ungerfeld y Rubianes, 1999; Viñoles y col., 2001; Abecia y col., 2002; Aisen, 2004). El uso de protocolo “cortos” de P4 (5 a 7 días de duración), han sido igual de efectivos para sincronizar estros y ovulaciones, pero no han demostrado mejorar los resultados de fertilidad de IATF en ovinos respecto a los protocolos tradicionales (Menchaca y Rubianes, 2004).

Protocolos en base a prostaglandinas

El uso de prostaglandina F_{2α} o sus análogos sintéticos (PG) presenta como desventajas, que su utilización se restringe a la estación reproductiva, ya que necesita de un CL activo (McCracken y col., 1970), y además si no se conoce el estado reproductivo y manejo previo de la majada a la cual se va aplicar la PG, esta puede inducir aborto en hembras gestantes, provocando pérdidas reproductivas. Como ventaja presenta un considerable menor costo respecto al método P4-eCG; su vía de administración es intramuscular, lo que conlleva a una mejora en el manejo, sanidad y bienestar de las hembras ovinas (Abecia y col., 2012); debido a esto, no se producen problemas por vaginitis o adherencias, así como contaminación medio ambiental (Fierro y col., 2013). Además las prostaglandinas naturales tienen bajas concentraciones plasmáticas debido a que un 99 % son metabolizadas en un sólo pasaje por el pulmón, por lo que no se acumulan en los tejidos y por ende no habría tiempo de espera en su uso (Davis y col., 1980; Moller-Holtkamp, 1980, citados por Fierro, 2010). Es sabido que la administración de PG entre los días 5 y 14 del ciclo

estral induce la luteolisis, seguido de manifestación de estro y ovulación (Acritopolou y Haresign, 1980). El intervalo entre la administración de la PG y la observación del estro inducido es bastante variable, lo que se relaciona con el día del ciclo en el que el animal es inyectado (Houghton y col., 1995). Esto indica que la dispersión observada en la presentación de los estros cuando se trabaja con animales sincronizados con PG podría ser debida en gran parte a que las hembras se encuentran en distintos momentos del ciclo estral. La respuesta del CL ovino a la PG depende de la fase del ciclo en que es administrada (Rubianes y col., 1997b, citado por Fierro y col., 2013), ya que los cambios dinámicos en el crecimiento del folículo ocurren durante la fase luteal generados por las hormonas P4, FSH y LH. Sin embargo sigue existiendo controversias acerca de las alteraciones de la función esteroideogénica del folículo preovulatorio, la TO, la fertilidad y la prolificidad luego de la administración de la PG (Fierro y col., 2011). En la misma revisión se cita que el uso de la PG altera la tasa de preñez (Gordon, 1999; Fierro y col., 2011) y algunos autores como White y col. (1987) y Hawk y col. (1981), sostienen que el transporte espermático se ve alterado. Por otra lado la tasa de recuperación embrionaria es más baja en animales tratados con PG (Schiewe y col., 1990; Fierro y col., 2011), pero la calidad embrionaria de los mismos fue similar a la de animales en estro espontáneo (Fierro y col., 2011). Tradicionalmente la sincronización de estros con PG estuvieron basados en tratamientos de una o dos dosis de PG separadas 9 a 12 días, presentando dos inconvenientes importantes: 1) una gran dispersión en la manifestación de estros (24 a 120 h), y 2) una aparente menor concepción de los mismos, comparados con protocolos en base a P4-eCG (Hackett y col., 1981; Loubser y van Niekerk, 1981). Las diferentes condiciones de producción comparadas (raza, latitud), el bajo número de animales empleados en alguno de estos ensayos, y la variabilidad de resultados alcanzados, conllevan a no poder sacar conclusiones claras al respecto, y a limitar hasta el momento su recomendación de uso como protocolos de IATF en ovinos (Menchaca y Rubianes, 2004; Fierro y col., 2013). Sin embargo se observó que separaciones entre dosis de PG de 14 a 16 días igualarían la fertilidad y fecundidad obtenidas a la IATF con P4-eCG (Olivera-Muzante y col., 2013; Bentancor y González, 2015), constituyéndose así en alternativas de sincronización de estros e IATF vía cervical con semen fresco más “limpias, verdes y éticas” que las tradicionales (Martin y col., 2004). Esto constituye un desafío a tener en cuenta y una nueva línea de trabajo a considerar.

Alimentación focalizada

Los tratamientos nutricionales a “corto plazo” o de efecto “inmediato” (“focus feeding”, “flushing corto” o “alimentación focalizada”) consisten en generar un balance energético positivo que mejora la TO en las ovejas debido a que se produce un incremento de nutrientes y hormonas (tales como insulina, leptina y glucosa) en plasma, que actúan directamente a nivel ovárico generando un crecimiento y desarrollo de los folículos sensibles a las gonadotropinas (Muñoz-Gutiérrez y col., 2002; 2004; 2005; Scaramuzzi y col., 2006; 2010) a partir de los tres días de inicio del cambio nutricional (Teleni y col., 1989a, b; Viñoles y col., 2005). A su vez el balance energético positivo tiene una acción estimuladora sobre el eje hipotálamo-hipofisario (Scaramuzzi y col., 2006). Un ejemplo de alimentación focalizada es la práctica australiana de alimentar las ovejas por períodos cortos con grano de lupino para aumentar la TO; es una práctica sencilla por la cual se provee al animal con un

alimento alto en proteína y energía cuando estos componentes están faltando o están en baja proporción en las pasturas secas del verano (Nottle y col., 1988).

Sin embargo el momento del ciclo estral en que esta suplementación de corta duración es efectiva, es acotado. La suplementación con lupino es efectiva en incrementar la TO desde 8 a 4 días previos a la ovulación, antes del inicio de la luteólisis, momento en el que ocurre la emergencia de la onda ovulatoria, previo a la fase folicular del nuevo ciclo estral (Smith y Stewart, 1990; Downing y col., 1995). Para Smith y Stewart (1990), si se incrementa el plano nutricional de ovejas en los días alrededor de la ovulación, puede ser detrimental. Se ha visto además que las mejores respuestas a la suplementación corta en TO ocurre cuando la proteína que ofrece el suplemento es más alta en comparación con la que las ovejas estaban consumiendo (Banchemo y Quintans, 2005). La tendencia a una mayor TO en ovejas suplementadas con maíz entero y Harina de soja con mayor CC (Viñoles y col., 2009), sugiere que la respuesta a un período corto de suplementación ocurre si las ovejas están en un balance energético adecuado. Banchemo y col. (2013), sostienen que por cada 50 gramos de proteína aportada por encima de la proteína cruda que aporta el campo natural, la TO se incrementa en 0,1 unidades.. Este aumento en la TO también estaría dado por el incremento de la proteína que sobrepasa la degradación ruminal (proteína de bypass), lo que implica el aumento de la absorción intestinal de aminoácidos esenciales (valina, leucina e isoleucina) relacionados con el incremento de la TO (Fernández Abella y col., 2005). Como se mencionó anteriormente, el momento de la suplementación es también determinante de la respuesta en TO, se obtienen incrementos del 15% (en raza Ideal) cuando se suministra Harina de Soja en un periodo que va del día ocho al cuatro pre-ovulación (Banchemo y col., 2011). Los resultados más consistentes han sido los obtenidos con Harina de Soja (Banchemo, 2008; Banchemo y col., 2013), aunque existen otras alternativas como la suplementación con expeler de girasol o un bloque comercial (suplemento Cobalfosal®, Barraca Deambrosi) permitió incrementos en la TO de 21 y 12 puntos porcentuales respectivamente, con respecto a las ovejas alimentadas sólo con campo natural. La inclusión de taninos condensados (como pastura o agregado al suplemento) mejora la TO (Fernandez Abella y col., 2005; Banchemo y col., 2012), a través de un incremento en la proteína de pasaje.

IATF y alimentación focalizada

Como ya se mencionó, la IATF es una biotecnología que nos permitiría aplicar en forma eficiente una suplementación corta o focalizada, en aquellos momentos (pre-servicio, pre-parto, etc.) en que la investigación ha demostrado tiene un alto impacto productivo en la mejora global del procreo (Martin y col., 2004). La mayoría de los trabajos que han realizado suplementación focalizada han utilizado un modelo de “pre-sincronización” de los estros, con una o dos dosis de PG o con P4, empleando para la suplementación el estro natural posterior al inducido por estas hormonas (Viñoles y col., 2003; Banchemo y col., 2011; 2012). Dada la inevitable dispersión de los estros naturales que se genera con estos tratamientos de pre-sincronización (de diez a seis días, utilizando una o dos PG respectivamente; Olivera y col., 2003; Olivera y Gil, 2005), es de suponer que no todas las ovejas reciben la alimentación en la ventana de tiempo más precisa (o sea en fase luteal). Recientemente se ha visto que una suplementación proteica focalizada (Harina de Soja peleteada durante 5 días), previa al servicio de IATF en base a protocolos “largos” de separación entre dosis de PG (de 14 a 16 días), puede mejorar en forma

significativa la TO y/o prolificidad como lo hace sobre ovejas en estro espontáneo (Olivera-Muzante y col., 2016), e incluso incrementar la fertilidad y prolificidad, y en consecuencia la fecundidad al servicio, cuando se la asocia a protocolos en base a P4-eCG (Hitateguy, 2016). Por tanto serían protocolos de sumo interés a la hora de implementar una efectiva alimentación focalizada.

Suplementación focalizada previo al servicio repaso

A pesar de ofrecer el alimento a todas las ovejas, los resultados de la suplementación de corta duración han variado en un rango del 0 al 54% de aumento en TO (Stewart y Oldham, 1986; Teleni y col., 1989a, b; Downing y col., 1995). Sin embargo, se requerirían aumentos del orden del 50% en TO para que se exprese en el nacimiento de un mayor número de corderos si consideramos que la mortalidad embrionaria normal es alta en las 4 primeras semanas post concepción (rango de 10 a 55%; Wilkins y Croker, 1990; Niswender y Nett, 1994). La información nacional evidencia que la respuesta en mejora de la TO y/o prolificidad solo acontece, en términos promedios, en un porcentaje no superior al 25-30% de los animales que ovulan o quedan gestantes en ese servicio (Viñoles y col., 2005; 2009; Banchemo y col., 2006; 2012). Muchos son los factores que pueden estar incidiendo en esta respuesta global inferior a la esperada; entre ellos la categoría suplementada (borrega en desarrollo o adulta), el consumo individual final de cada animal, la competencia entre ellas por el suplemento, la CC al servicio y su evolución (Viñoles y col., 2010; Viñoles y col., 2012), la dieta previa (Fletcher, 1981), la cantidad y tipo de proteína (Banchemo y col., 2012), el porcentaje de proteína del campo natural y la oferta de forraje, la etapa del ciclo estral y el estatus folicular (Viñoles y col., 2005). También se mencionan otros factores relacionados al mecanismo de acción de los nutrientes a nivel ovárico en la inhibición de la secreción de estrógenos por el folículo, y/o los diferentes patrones genéticos que tiene cada oveja para escapar a la dominancia folicular y responder mejor a los nutrientes proporcionados (Juengel y col., 2013; Monniaux, 2016).

Sin embargo, aún verificándose un efecto positivo de la suplementación proteica en la prolificidad de ovejas durante el servicio de IATF, el impacto sobre la prolificidad se vería algo diluido en términos promedio cuando se considere en forma conjunta el obtenido con el servicio de repaso, donde se volvería a los valores medios de TO y prolificidad del biotipo en cuestión. Por ello parece de sumo interés, aprovechando la gran sincronización de estros espontáneos que ocurrirá en el servicio posterior al de IATF (y con el objetivo de tener el mayor número de ovejas gestantes con carga fetal múltiple), volver a suplementar las ovejas en forma focalizada previa al servicio repaso. Sin embargo debería tenerse en cuenta que estos altos niveles de proteína cruda administrados los días previos al comienzo del servicio repaso (8 a 14 días posteriores al servicio de IATF), en momentos críticos para el reconocimiento materno de la gestación (Spencer y col., 2004), podrían mejorar la prolificidad en aquellas ovejas que no hubieran concebido, pero ser perjudiciales para aquellas que si lo habían hecho, incrementando las pérdidas embrionarias.

Mortalidad embrionaria en ovinos

La mortalidad embrionaria se define como la pérdida del producto obtenido entre la concepción y el fin del período embrionario de diferenciación (35-40 días de gestación). Las muertes embrionarias se pueden dividir en precoces y tardías, la

muerte embrionaria precoz se considera entre la concepción y los 20 días, siendo denominadas tardías aquellas que ocurren entre los 21 y los 35-40 días aproximadamente (Fernández Abella, 2015). Las muertes embrionarias provocan la reabsorción total del embrión, aquellos que mueren hasta el día doce no alteran la duración normal del ciclo, pero los que mueren posterior a este día previenen la regresión del CL, provocando un aumento en el intervalo entre estros. La secreción del cuerpo lúteo es mantenida hasta que la reabsorción de las membranas es completa. La fertilidad en ese estro es menor, asociado esto a un deterioro en el transporte espermático (Fernández Abella, 1993).

En relación al momento que ocurren las pérdidas embrionarias, Edey (1969), concluyó que en promedio el 20 al 30% de los embriones se pierden normalmente en las primeras cuatro semanas de preñez; pero hay una gran variación en los niveles de mortalidad y sus causas. Las pérdidas después de este período generalmente se consideran pequeñas, pero pueden ser significativas en las ovejas que sufran una restricción alimentaria (Kelly, 1989). Existen muchas causas que pueden generar muerte embrionaria en ovinos; entre ellas defectos cromosómicos, defectos en los gametos, alta TO, consumo de plantas tóxicas, desequilibrios o deficiencias hormonales, niveles nutricionales (subnutrición, elevado consumo), PV y CC, edad de las madres, localización del embrión, fotoperiodo, estrés pluviométrico, sanidad, enfermedades infecciosas etc. (Fernández Abella, 2015; Wilkins y Croker, 1990).

Defectos cromosómicos

Determinan pérdida de embriones que no son viables debido a factores genéticos o morfológicos. Bishop (1964), propuso que gran parte de esta pérdida se debe a la muerte de genotipos no aptos, pero solo el 10% o menos de los embriones se pierden por esta causa (Bolet, 1986).

Defectos de los gametos

Tanto los espermatozoides como los ovocitos, tienen una vida media muy corta, "envejeciendo" rápidamente, provocándose pérdidas por muerte embrionaria precoz o temprana (Fernández Abella, 1993). Por este motivo, cuando se realiza IA es clave la adecuada sincronización entre la deposición de semen y el momento de la ovulación (Wilkins y Croker, 1990).

Preservación seminal

La condición de los gametos al momento de la fertilización afecta el desarrollo y supervivencia embrionaria (Maxwell y Salamon, 1993; Vishwanath y Shannon, 1997). Hay evidencias que indican que las pérdidas embrionarias aumentan a medida que la deposición del semen almacenado en el tracto reproductor de la hembra es demorada, resultando en una asincronía entre la edad del espermatozoide y del oocito (Salamon y col., 1979). El mismo autor señala que cuando el semen es almacenado a 5°C, existe una menor supervivencia embrionaria luego de una IA única, comparada con una IA doble. Se confirma así, la importancia del momento de IA para evitar un envejecimiento adicional del espermatozoide. Los cambios intracelulares durante el almacenamiento del semen generan daños irreversibles a nivel del genoma haploide del núcleo del espermatozoide, resultando en un concepto no viable (Vishwanath y Shannon, 1997). Un incremento en los

porcentajes de yema de huevo utilizados en los diluyentes podría provocar daños del acrosoma por desestabilización de la membrana espermática (Watson y Martin, 1973, 1976; Smith y col., 1978). Esto correlacionaría la calidad del ADN de los espermatozoides de la dosis inseminante con la fertilidad final obtenida (Gillan y col., 2004). Maxwell y Salamon (1993) concluyen que la pobre supervivencia de los espermatozoides en el tracto genital femenino, sumado al incremento en las pérdidas embrionarias luego de la IA con semen preservado, conforman las causas más importantes de baja fertilidad en ovejas inseminadas con semen almacenado líquido.

Protocolos de sincronización de estros

La sincronización del ciclo estral con hormonas exógenas produciría mayores pérdidas reproductivas que ovejas no sincronizadas, debido principalmente a fallas en la fertilización y una mayor mortalidad embrionaria (Lunstra y Christenson, 1981). Esto puede atribuirse a una asincronía en los tiempos de presentación de estros, ovulación y fertilización (Lunstra y Christenson, 1981). El comienzo de la estación sexual y la multi-ovulación provocada, han sido señaladas también como agentes de mortalidad embrionaria.

Olivera y col. (2007), sobre un importante número de datos evaluaron las pérdidas totales de embriones observadas entre el no retorno al servicio a 21 días y la ecografía en ovejas y borregas, comparando el tipo de estro utilizado (sincronizado con P4-eCG o PG), el tipo de semen (fresco, refrigerado, congelado), y/o la vía de IA (cervical o intrauterina), concluyendo que algunas de las tecnologías aplicadas a la IA, como ser el tipo de estro y el tipo de preservación seminal, podrían determinar una diferente “viabilidad” en los embriones generados en ambas categorías de ovejas, y ayudar a explicar parte de los resultados de fertilidad final obtenidos con las mismas.

Genotipo del embrión

Bradford (1979), concluyó que el genotipo de la madre es más importante que el que genotipo del embrión en la supervivencia del mismo. La tasa de supervivencia en programas de transferencia embrionaria varía entre el 35 y 85% (McMillan, 1996). Esta enorme variabilidad en las pérdidas embrionarias postransferencia son multifactoriales, pero se ha propuesto que una importante causa es la “aptitud” de las receptoras para promover el crecimiento embrionario y mantener la preñez (Cox y col., 1998). Sharma (2010), realizó transferencia de embriones y demostró que el ambiente uterino es capaz de regular el crecimiento embrionario desde muy temprano en la gestación (día 19), incluso cuando la capacidad uterina no es un factor limitante.

Variación entre razas y tipo de ovulación

La supervivencia de embriones de ovulaciones simples es mayor que la de ovulaciones dobles (Geisler y col., 1977; White y col., 1981), y es inversamente proporcional a la TO a medida que se generan más óvulos (Hanrahan, 1982). A pesar de esta relación, la tasa de preñez de las ovulaciones dobles es superior a la de las ovulaciones simples, ya que la pérdida de embriones generalmente ocurre al azar (Restall y col., 1976). En los experimentos de Wilkins (1989), la preñez fracasó

en el 10% de ovejas con ovulación simple, frente al 4% en las de ovulación doble. Se sugiere una asociación entre la tasa de supervivencia de los embriones y la prolificidad de la raza. Las mejores tasas de supervivencia se encontraron en la raza Romanov y Javanese, que tienen tamaños de camada de más de dos, en comparación con las razas de baja fecundidad como el Merino y el Romney (Wilkins y Croker, 1990). El incremento del número de embriones aumenta las pérdidas debido a la competencia entre estos por un sitio adecuado en el útero. En este sentido a partir de TO superiores a cuatro las muertes embrionarias crecen en forma exponencial (Kelly y Allison, 1976).

Kleeman y col. (1990), trabajando con ovejas prolíficas, que presentaban dos, tres y cuatro CL, observaron una supervivencia embrionaria de 88, 73 y 60% respectivamente. Por su parte cuando analizaron esto en ovejas Merino, encontraron un aumento de las pérdidas parciales en ovulaciones múltiples frente a incrementos en la TO. La falla parcial en ovulaciones múltiples (PFMO) es aquella en la cual la oveja pare, pero el número de corderos es menor a su TO. Kelly y Smith (1980), reportaron diferencias en el número de corderos de ovejas ovuladas múltiples con el número de CL visualizados a la ecografía, el problema podría estar en el ambiente hormonal que condiciona al útero para el soporte de la preñez (Kelly y Johnstone, 1982). Poco se sabe sobre la causa de estas muertes, las respuestas al progestágeno suplementario no han sido siempre beneficiosas (Smith y col., 1985), las pérdidas parecen estar influenciadas por la nutrición de las ovejas (Parr y col., 1986), si se utilizó o no eCG para estimular la ovulación (Davis y col., 1986, citado por Adams, 1990), etc.

En referencia a la importancia de la ubicación de los CL, se sostiene en condiciones de cubrición natural que la probabilidad de supervivencia embrionaria parece menor en ovejas con ovulación doble unilateral que bilateral (White y col., 1981). Esto se ha asociado al fenómeno de migración uterina (Doney y col., 1973; White y col., 1981). La competencia física por el espacio uterino llevaría a un embrión a migrar, algo muy frecuente en ovejas con ovulación doble unilateral (Casida y col., 1966; Scanlon, 1972). Esto podría conducir a una mayor mortalidad embrionaria debido quizás a un medio uterino asincrónico (bajo en progesterona) en el cuerno contralateral al ovulado (Nephew y col., 1989). Sin embargo, según lo revisado por Michels y col. (1998), la asociación entre sitio de ovulación, frecuencia de migración y mortalidad embrionaria en ovinos es aún tema de controversia, siendo función más de un efecto raza y/o interacción raza-medio ambiente que de los factores antes mencionados.

Ingesta de plantas tóxicas

Enfermedad del trébol

Los estrógenos vegetales causan pérdidas reproductivas en las majadas de Nueva Zelanda y el sur de Australia. La exposición prolongada de las ovejas a los compuestos isoflavónicos genera infertilidad (Bennetts y col., 1946; Schinkel, 1948). Esto es debido a una falla en el funcionamiento cervical por disminución de la secreción de mucus, que impide el transporte normal de espermatozoides en el cuello uterino después de la monta (Lightfoot y col., 1967), y en consecuencia, muchos óvulos no son fertilizados (Wilkins y Croker, 1990). Fels y Neil (1968), sugieren que más embriones murieron durante los días 13 a 19 de preñez en ovejas

severamente afectadas por la enfermedad del trébol. En contraste, Kaltenbach y Davies (1970), informaron que no hubo diferencias en la mortalidad embrionaria entre las ovejas que desarrollaron la enfermedad del trébol después de pastorear los pastos altamente estrogénicos, y las que habían pastado en pastos no estrogénicos. La importancia de la mortalidad embrionaria en la enfermedad del trébol no está del todo clara.

Lupinosis

La lupinosis es una micotoxicosis causada por la ingestión de toxinas producidas por el hongo *Phomopsis leptostromiformis* que coloniza plantas muertas (van Warmelo y col., 1970; Gardiner y Petterson, 1972). La enfermedad afecta frecuentemente a ovejas que pastorean plantas muertas de lupino y rastrojos de altramuces durante el verano y el otoño (Gardiner, 1967), y su ocurrencia puede causar muertes y limitar la utilización de los rastrojos (Gardiner, 1967; Arnold y col., 1978). Las principales toxinas producidas por *Phomopsis leptostromiformis* son las *phomopsins*. Peterson (1983), produjo aumentos significativos en la mortalidad embrionaria de animales inyectados con *phomopsins*, e informó que los embriones eran más susceptibles en la primera mitad de la preñez. No estaba claro si este efecto de *phomopsins* se debe a una acción directa de la toxina sobre los embriones, o si el efecto fue mediado a través de la toxicidad materna. Los efectos de las lupinosis sobre la mortalidad de los embriones de ovejas son algo inciertos (Wilkins y Croker, 1990).

Desequilibrios hormonales y/o metabólicos

Las alteraciones endocrinas provocan pérdidas embrionarias en distintos momentos del desarrollo del embrión, afectando el transporte gamético, la fertilización y/o la implantación. Existe una estrecha relación entre el nivel de progesterona y las pérdidas embrionarias (Edey, 1976a, b; Brien y col., 1981; Torres y col., 1983; Harrison y col., 1987. Peterson y col. (1984) y Kleemann y col. (1991), reportan una reducción en la mortalidad embrionaria asociada a la suplementación con P4. La respuesta a los P4 es observada en los primeros 4 a 7 días luego de la ovulación, afectando el desarrollo del blastocisto. A su vez los niveles de progesterona plasmáticos durante los primeros días del ciclo estral podrían estar influenciando las fallas parciales (muerte de parte de los embriones) luego de ovulaciones múltiples.

Subnutrición

Según Edey (1969), situaciones de subnutrición muy severa previo al servicio, ocasionan elevados niveles de mortalidad embrionaria antes de la implantación. La subnutrición causa alteraciones en la puesta en marcha de los mecanismos antiluteolíticos que aseguran la implantación y la supervivencia embrionaria; la duración de la subnutrición y no el momento de la aplicación fue el determinante de la supervivencia embrionaria. Las primeras muertes se registraron en ovejas gestando mellizos, las cuales primero perdían un embrión y con el paso del tiempo ambos (Edey, 1976b). Parr y col. (1982), trabajando con ovejas Merino, concluyen que ovejas que sufren una subnutrición en los primeros 35 días luego de la encarnada, ven reducido el tamaño y peso de los embriones. Los autores sugieren la existencia de algún mecanismo que reduce el crecimiento y desarrollo embrionario

en situaciones de nutrición limitante. Como posible explicación plantean la existencia de un control del crecimiento del embrión a través de una reducción del aporte maternal de glucosa, en respuesta a situaciones de estrés nutricional (Rhind, 2004).

Faichney y White (1987) y McCrab y col. (1992), reportan que ovejas de alto PV y CC (mayor a 3,5) a la encarnerada, expuestas a una sub nutrición moderada durante la preñez temprana y media podrían incrementar el peso de la placenta y el feto, e incrementar posiblemente la supervivencia. Sin embargo, existen otros trabajos sobre respuesta a la subnutrición que contradicen dicha afirmación (Curll y col., 1975; Kelly y col., 1992). Kelly y col. (1989), encontraron que ovejas Merino gestando mellizos sometidas a una subnutrición en la mitad de la preñez, que redujo el PV en promedio de 6 a 8 kg, presentaron niveles significativamente mayores de mortalidad en fetos.

Sobrealimentación

Parr y col. (1987; 1992; 1993), mencionan la existencia de una correlación negativa entre el nivel de consumo de energía en la preñez temprana (8 a 14 días pos-concepción) y la concentración de progesterona en plasma, llevando a reducción en la tasa de preñez en situaciones de una sobrealimentación energética. Altos niveles nutricionales, cercanos al 200% de mantenimiento en la preñez temprana (12 días), reducen la concentración de progesterona en plasma, pudiendo alcanzar en algunas razas, niveles cercanos al umbral crítico para la supervivencia del embrión (Fernández Abella, 2015).

Bishonga y col. (1996) y McEvoy y col. (1997), trabajando con ovejas alimentadas durante doce semanas con una dieta de mantenimiento más una suplementación con distintas concentraciones de urea, observaron un incremento en el nivel de urea y amonio en plasma y en útero cuando se suplementó con 30 gramos de urea por kg de alimento consumido. Esto se asoció con un aumento en la mortalidad embrionaria durante los primeros días de gestación. Los niveles máximos aceptados de urea en plasma en ovinos están cercanos a 10 mmol/l (Radostis y col., 1994; Hindson y Winter 2002); siendo el rango normal de 1,67 a 8,33 mmol/l, condicionada por la ingestión proteica y por el aumento del catabolismo, como en la fiebre y el estrés (Kaneko, 1980). La superación del umbral de concentración normal de urea en sangre de ovejas preñadas suplementadas con lupino, ocasionó una disminución en la producción de calostro (Banchemo y col., 2004). La alimentación de ovejas dos semanas previo al servicio con alfalfa “*ad libitum*” ha generado una mejora de la prolificidad en las mismas (Robertson y col., 2014; 2015a, b), sin embargo, y previendo alteraciones en los niveles de progesterona y/o urea plasmática en momentos críticos del reconocimiento materno de la gestación, la recomendación de estos autores es retirar las ovejas del pastoreo de alfalfa luego de una semana posterior al servicio. Brien y col. (1977), informan de un aumento del 12% en la mortalidad embrionaria en ovejas con estro natural servidas con carneros, como resultado de la alimentación con 500 gramos por día de lupino (39% de proteína cruda). El efecto se asoció con una reducción en las concentraciones de progesterona en plasma (Brien y col., 1981). Robertson y col., (2015a), observaron que las concentraciones circulantes de progesterona en plasma disminuían en las ovejas que pastoreaban alfalfa. Sin embargo, las concentraciones de progesterona no se redujeron a la concentración umbral de 2 ng/ml en el día 12 después del

apareamiento sugerido por Parr y col. (1987), por debajo del cual la mortalidad embrionaria aumenta mucho, y esto se propone como una razón por la cual el acceso a la alfalfa de alta calidad en la preñez temprana no parece aumentar la mortalidad embrionaria. De todas formas son claves adecuados niveles de progesterona en diferentes etapas del ciclo estral y la preñez (Ashworth y col., 1989). En síntesis, el consumo de Harina de Soja como concentrado proteico podría incrementar los niveles de urea y amoniaco en sangre, y/o modificar los niveles de progesterona plasmática, y en consecuencia generar un aumento de la mortalidad embrionaria en estas ovejas.

Factores intrínsecos

Peso vivo y condición corporal

Existe abundante evidencia acerca de la menor supervivencia de los embriones en ovejas con muy bajo PV al servicio (Guerra y col., 1971). Cuando los animales presentan buenos o altos PV, existe acuerdo entre los investigadores que este no afecta la supervivencia de los embriones (Edey, 1976a).

La CC está más relacionada con el verdadero “estado nutricional” de las ovejas que el PV, determinando cambios en la TO y fertilidad de las ovejas. La fertilidad, resultado de la tasa de fertilización y supervivencia embrionaria, resulto significativamente inferior en las ovejas de CC 2,25. La fertilidad de las ovejas de CC regular (2,25 a 2,75), estuvo relacionada con las pérdidas embrionarias. Por este motivo, cuando se ha mejorado la calidad de las ovulaciones a través de la sincronización con P4, se logra disminuir estas pérdidas. En las ovejas de buen estado ($\geq 3,0$), las pérdidas embrionarias no explican la fertilidad obtenida, y estas pérdidas aumentan al incrementar la TO, como ya se mencionó anteriormente (Fernández Abella y col., 1992).

Kelly y Johnstone (1982), estudiando ovejas con ovulaciones múltiples, observaron que los efectos tanto del PV como de su variación durante la encarnada, fueron de pequeña magnitud sobre las fallas parciales en dichas ovulaciones.

Edad

La mortalidad embrionaria es mayor en las borregas que en las ovejas (McMillan y Mc Donald, 1985) debido a un desequilibrio hormonal, lo que también lleva a menores porcentajes de fecundación, así como la falta de desarrollo uterino. En corderas, los niveles bajos de progesterona en plasma podrían aumentar las pérdidas embrionarias en situaciones de subnutrición severa (Edey, 1976a).

Localización del embrión

El sitio de ovulación es determinante, ya que normalmente el embrión se implanta en el cuerno uterino del lado de la ovulación, permitiendo esto una relación local entre el ovario y el cuerno grávido (Moor y Rowson, 1966). El embrión de esta forma presenta un efecto luteotrópico, que de migrar al lado opuesto de la ovulación se puede diluir determinando la luteólisis (Fernández Abella, 1993). En ovejas con ovulaciones múltiples no existe relación entre las muertes embrionarias y el sitio o distribuciones de las ovulaciones en los ovarios.

Factores ambientales

Temperatura

Las temperaturas elevadas afectan marcadamente las muertes embrionarias alterando tanto la maduración ovocitaria (Moor y Crosby, 1985), como la implantación y desarrollo de los embriones (Dutt, 1964; Lindsay y col., 1975). En efecto, temperaturas superiores a los 32° C durante la encarnerada aumentan la tasa de retorno al estro y disminuyen la fertilidad, lo que podría estar explicado por un incremento en las muertes embrionarias (Kleemann y Walker, 2005). Periodos prolongados (una semana o más) de altas temperaturas pueden provocar pérdidas embrionarias tardías (Smith y col., 1966). Altas temperaturas en interacción con elevada humedad ambiente determinan anomalías a nivel espermático (degeneración espermática o esterilidad de verano), que llevan a incrementos en la mortalidad embrionaria. El semen sometido a temperaturas elevadas pierde primero la capacidad de engendrar un embrión viable y luego de poder fecundar (Rathore, 1968; 1970; Waites y Ortavant, 1968). La mayor parte de los servicios mediante monta natural se dan durante las horas frescas y luego las ovejas permanecen en reposo. En cambio, la IA en ovinos se realiza normalmente cuando ya la temperatura diurna ha comenzado a incrementarse, y las ovejas son a veces conducidas varios kilómetros post servicio, con la consecuente elevación de la temperatura corporal (Duran del campo, 1980).

Fotoperíodo

El fotoperíodo incide sobre las muertes embrionarias a través de niveles deficitarios de progesterona plasmática en primavera, asociado a ovulaciones de menor calidad. Este efecto se da a través de un menor tamaño del CL formado, que conlleva menores niveles de progesterona en plasma (Fernández Abella y col., 1994). En Uruguay, trabajando en dos épocas de inseminación, se encontraron diferencias en la mortalidad embrionaria tardía y fetal (entre los 30 y 60 días de gestación), reportándose un 2,13% de pérdidas para inseminaciones en abril, mientras que aquellas ovejas inseminadas en noviembre alcanzaron un 22,9% de pérdidas (Fernández Abella y Villegas, 1995). En este caso, existió también una interacción entre fotoperíodo y la temperatura.

Estrés pluviométrico

Precipitaciones abundantes, superiores a 100 mm por día bloquean el estro, reducen la TO e incrementan la mortalidad embrionaria precoz (Doney y col., 1973). Cuando se producen temporales y las ovejas se encuentran sincronizadas, las pérdidas pueden ser muy elevadas (50%). En días de trabajo de IA donde hay tormentas y temporales no se justifica levantar estro, ni traer los animales a los bretes ni corrales, ya que los pocos animales que manifiestan estro tendrán una fertilidad muy baja. Fernández Abella y col. (2007), en un trabajo en donde las precipitaciones se presentaron en un 97% por encima del promedio histórico nacional para la época, registraron pérdidas embrionarias que oscilaron entre el 31 a 36% por efecto de las mismas. Cuando existen lluvias intensas en los últimos 5 o 6 días previos al servicio la TO se reduce considerablemente, así como también aumenta la mortalidad embrionaria cuando las mismas ocurren 3 días luego del mismo (Doney y Gun, 1972 citado por Duran del Campo 1980). El estrés generado

mediante el mojado artificial durante 5 a 6 días (Doney y col., 1973), o durante todo el ciclo estral previo a la encarnerada disminuye la TO. Si las precipitaciones están acompañadas de bajas temperaturas, el estrés es mayor, lo que incrementa las pérdidas (Braden y Moule, 1964; Griffiths y col., 1970). Los autores sostienen que el efecto del estrés podría ser de una importancia crítica hacia el final del ciclo estral. En esta etapa, se estaría dando la maduración de la ola final de crecimiento folicular (Smeaton y col., citados por Doney y col., 1973), así como cambios pre-ovulatorios a nivel del ovario (Cumming y col., citados por Doney y col., 1973). Un ambiente estresante durante este período tendría dos efectos: en primer lugar, un retraso o supresión del estro, y en segundo lugar, una reducción de la TO. Los trabajos encontrados han estudiado el estrés pluviométrico en combinación con otros factores ambientales (principalmente la temperatura), no encontrándose ningún experimento que haya analizado específicamente el efecto de la lluvia. Sería de esperar que la lluvia, más allá del efecto estrictamente térmico, generara por sí misma otros efectos sobre el animal, como molestias, aumento del peso del vellón, disminución del consumo, que podrían incidir sobre la performance reproductiva. Probablemente el estrés de la lluvia actuó a nivel hipotalámico. El estrés activa las neuronas productoras de GABA (ácido gama-amino-butírico), inhibiendo la secreción de GnRH, llegando a bloquear el pico preovulatorio y por ende la ovulación (Dobson y col., 2003; Sliwowska y col., 2006).

Sanidad

Parasitaria

La alta carga parasitaria por *Haemonchus contortus*, el parásito gastrointestinal mas prevalente en la majada uruguaya (Nari y Cardozo, 1987); afecta la mayoría de los parámetros reproductivos (Fernández Abella y col., 2006). La TO se redujo entre un 15 y un 20%, confirmando otros resultados obtenidos previamente con ovejas Merino Booroola heterocigotas. Esta menor TO se explica por una reducción en el desarrollo folicular, que determina un menor reclutamiento, posiblemente debido a que los nematodos alteran el metabolismo proteico. Igualmente, bajo las condiciones de cría de Uruguay, se han reportado pérdidas en la calidad de ovulación (CL de mala funcionalidad) provocados por altas cargas parasitarias (Fernández Abella y col., 2006). La tasa de concepción se reduce marcadamente, determinando menor fertilidad, prolificidad y fecundidad; la fertilidad disminuye significativamente cuando la carga parasitaria supera los 900 HPG (Fernández Abella, 2015).

Infeciosas

El footrot o pietín es una enfermedad infecto-contagiosa que determina una rápida pérdida en CC de los animales. Marshall y col. (1991) en Australia, y Mederos y col. (2001) en Uruguay, reportan pérdidas productivas debidas a foot-rot con una disminución de hasta un 12% en el peso corporal y un 8% menos en peso de vellón limpio. Se reportan también perdidas embrionarias tardías asociadas a una perdida de CC por ésta enfermedad (Fernández Abella, 2015).

Según Bonino y Cavestany (2005), a nivel mundial las principales causas infecciosas de mortalidad embrionaria, fetal, abortos, mortinatos y nacimiento de corderos débiles son Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*), aborto ovino enzoótico

(*Clamydia psittaci*) y Campilobacteriosis (*Campilobacter fetus* variedad *intestinalis*). La toxoplasmosis es la primer o segunda causa en importancia de aborto ovino de naturaleza infecciosa en el mundo, y la primera en Uruguay (Freyre y col., 1983). La infección no se trasmite ni del carnero a la oveja, ni de esta a su cordero por la leche. Tampoco es posible su transmisión de una oveja que abortó a una sana, en forma directa, siendo la única forma de infección de esta enfermedad la ingestión de alimentos contaminados con ooquistes emitidos por los felinos (Freyre, 2003). El efecto de la enfermedad varía según el momento en que se contrae la infección. La misma contraída poco antes del servicio tiene poco efecto sobre la gestación subsiguiente (Freyre, 2003). Cuando la infección ocurre al inicio de la preñez, se produce la muerte y reabsorción del embrión, dejando ovejas aparentemente infértiles. Los fetos infectados hacia la mitad de la gestación resisten a la infección en gran proporción, siendo posible su muerte en el útero, en cuyo caso son expulsados como fetos momificados, o su sobrevivencia durante varias semanas, para al final ser mortinatos, o nacer vivos pero débiles y morir a las pocas horas del nacimiento (Freyre, 2003).

En un experimento realizado por Irabuena y col. (2005), la infección por toxoplasmosis en ovejas de cría determino la interrupción de la gestación de todas las ovejas que se encontraban en el primer mes de preñez, siendo las pérdidas muy elevadas entre el segundo y el tercer mes (>70%), y de menor incidencia cuando la infección se iniciaba en el cuarto o quinto mes de gestación (<25%). Según Freyre (2003), las ovejas infectadas con toxoplasma durante la gestación avanzada (desde 110 días en adelante) tienen una parición normal, aunque sus corderos puedan estar infectados, crecerán sin ningún síntoma aparente. Irabuena y col. (2005), no observan diferencia de peso al mes de nacidos, entre los corderos hijos de madres seroconvertidas durante la gestación, respecto a aquellos nacidos de madres seropositivas o seronegativas.

A través de los ensayos realizados evaluando pluviometría artificial no se observaron diferencias en la cantidad de ovejas seroconvertidas (Fernández Abella y col., 2007; 2008). Lo cual parece indicar, que años lluviosos la mayor incidencia de toxoplasmosis es debida a una mayor supervivencia de los ooquistes en el suelo (Freyre y col., 1997), y no a una mayor susceptibilidad de las ovejas. Si bien las muertes fetales normalmente son de baja magnitud (2 a 7%), la mayoría de estas son debidas a una infección de Toxoplasmosis.

OBJETIVOS

Objetivo general

El objetivo general del trabajo fue evaluar el impacto de una suplementación proteica focalizada, previa al servicio repaso, sobre la respuesta y pérdidas reproductivas de un servicio de IATF realizado vía cervical.

Objetivos específicos

a. Evaluar el no retorno al estro a los 21 días (NR_D21), la fertilidad, prolificidad y fecundidad a los 60 días pos servicio de IATF.

b. Evaluar momento y tipo de pérdidas reproductivas hasta los 60 días pos servicio de IATF.

HIPÓTESIS

La alimentación focalizada con Harina de Soja en ovejas en fase de reconocimiento materno de la gestación (días 8 a 14 pos servicio) disminuye la fertilidad, prolificidad y fecundidad final de un servicio de IATF por generar un mayor número de pérdidas reproductivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en estación reproductiva (marzo-junio), en el establecimiento "El Recuerdo", perteneciente a la familia Errandonea López, ubicado a 5 Km de la localidad de Tomás Gomensoro, departamento de Artigas, Uruguay (30,4° S - 57,4° O). Todos los procedimientos experimentales empleados fueron puestos a consideración y avalados previamente por el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República (Exp: 111400-000079- 12).

Animales

De un total de 328 ovejas multíparas cruza Merino Australiano*Merino Dohne con CC \geq 2,75 (escala 0-5, Russel y col., 1969), se consideraron 312, sanitariamente aptas, acostumbradas al consumo de suplementos. Se utilizaron 10 carneros adultos de raza Merino Dohne, reproductiva y sanitariamente aptos (serología negativa a Brucela Ovis), acostumbrados previamente a la vagina artificial.

Manejo sanitario

Un mes previo al inicio del experimento se realizó un baño precaucional contra ectoparásitos (Mixan®, Cipermetrina-Ethión; Laboratorio La Buena Estrella, Canelones, Uruguay), y una dosificación antihelmíntica pre-servicio (Startect®, Derquantel-Abamectina; Laboratorio Zoetis, Montevideo, Uruguay). Se realizó control de eficacia de la dosificación a los 10 días y controles de HPG cada 15 días (técnica de Mac Master), no observándose incrementos durante todo el experimento. Se inmunizaron también los animales contra enfermedades clostridiales (Clostrisán®, Laboratorio Santa Elena, Montevideo, Uruguay).

Manejo nutricional y evaluación del campo nativo

Las ovejas fueron ubicadas el Día -14 (Día 0= Día de IATF) en un potrero de 16,5 ha sobre campo natural de basalto medio, libre de pastoreo ovino por más de 3 meses, a una dotación de 3,0 UG/ha, permaneciendo allí hasta el final del experimento (Día 26). Se estimó, a la entrada y salida de los animales, la disponibilidad real de MS del potrero (método del doble muestreo; Haydock y Shaw, 1975). Para ello se estableció una escala de 5 puntos incrementales en cantidad de forraje representativos de la pastura y se recorrió las parcelas para identificar el valor de escala promedio. Se realizaron cortes de la escala establecida mediante la utilización de un rectángulo de 0,5 por 0,2 m donde se cortó la pastura al ras con tijera de aro. Las muestras se secaron por 48 horas en estufa de aire forzado a 60°C para obtener porcentaje de materia seca y la cantidad de forraje por unidad de escala. Con dichos valores y el valor de escala visual obtenido en la recorrida de las parcelas se estimó la cantidad de materia seca por ha. Las muestras de pastura, así como del suplemento proporcionado fueron enviadas al Laboratorio de Nutrición Animal de INIA “La Estanzuela” para análisis de calidad.

La disponibilidad inicial de forraje del potrero fue de 3092 kg MS/ha y la final de 1575 kg MS/ha, determinando una asignación de forraje de 4 y 2 kg MS/kg de PV, al inicio y fin respectivamente. La oferta de forraje para el período (41 días de pastoreo), considerando una tasa de crecimiento de 10 kg MS/ha/día (Baeza y col., 2010), fue del 10% del PV y a la salida de 4,9%.

La composición química del campo natural fue de PC: 8,2 y 10,0%, FDA: 42,7 y 44,4%, FDN: 71,2 y 69,2, y Cenizas: 9,9 y 11,5%, al ingreso y salida del potrero respectivamente. La calidad del suplemento (Harina de Soja peleteada; Veterinaria Bortagaray. Salto, Uruguay) fue de PC: 50,6%, FDA: 11,8, FDN: 20,2% y Cenizas: 5,2.

Se registraron los niveles diarios de precipitaciones ocurridas durante todo el período de trabajo (pluviómetro Walmur®). Las ovejas tenían agua ad libitum mediante bebederos.

Sincronización de estros e IATF

Todas las ovejas fueron sincronizadas con un protocolo a base a esponjas vaginales por 12 días impregnadas con P4 (Medroxiprogesterona 60 mg®; Laboratorio Syntex, Uruguay), a las que se les agrego Oxitetraciclina por aspersion para evitar adherencias y/o vaginitis (50 mg/pesario. Terramicina 100®; Laboratorio Zoetis, Uruguay). A los efectos de mejorar la respuesta ovulatoria las ovejas fueron suplementadas pre-servicio con Harina de soja peleteada (Hitateguy, 2016). Se hizo una fase de adaptación incremental al suplemento durante 2 días (0,5 y 1,0% del PV

promedio/oveja/día, Días -9 y -8 respectivamente), y de consumo durante 5 días (1,2% del PV promedio/oveja/día, Días -7 a -3 inclusive). Al retiro de las esponjas se inyectó gonadotropina coriónica equina (eCG; 360 UI/oveja im.; Novormon 5000®; Syntex, Uruguay), y PG para asegurar la luteólisis (DL-Cloprostenol, 125 µg/oveja im.; Estrumate®, Laboratorio Schering-Plough, Alemania).

La IATF se realizó a las 52 ± 2 horas promedio de retiradas las esponjas, con semen heteroespérmico fresco diluido en leche descremada UHT + antibiótico (Enrofloxacina 10% Baytril Laboratorio Bayer; 250mg/Litro) por la vía cervical (Duran del Campo, 1980). Se utilizó un volumen de inseminación de 0,15 cc/oveja (semen más diluyente), y una dosis de ciento treinta millones de espermatozoides vivos por oveja, evaluada por medio de microscopio óptico (Wild Heerbrugg M11, Suiza) y fotómetro (Minitube, Alemania) según Evans y Maxwell (1987).

Diseño experimental

Los procedimientos realizados se resumen en la Figura 3. Las ovejas se manejaron pastoreando siempre juntas y fueron separadas en dos grupos solo durante el período de suplementación diferencial. El Día 7 pos servicio de IATF se evaluó en todas las ovejas la TO (Nº de cuerpos lúteos/oveja ovulada) mediante ecografía trans-rectal (según Viñoles y col., 2010; ecógrafo Aloka Pro Sound y transductor lineal 7,5 MHz, Japón), y se procedió a dividir la majada en dos grupos homogéneos (Control y Tratamiento) en base a su TO ($1,57 \pm 0,59$; 151 ovejas de ovulación simple, 145 dobles -85 unilaterales y 60 bilaterales-, y 16 triples -3 unilaterales y 13 bilaterales-), la CC al Día -2 ($3,0 \pm 0,2$; 26% con 2,75; 63% con 3,0; 9% con 3,25; y 2% con 3,5) y el PV inicial ($40,9 \pm 4,9$; media \pm DS).

Fueron desestimadas 15 ovejas de los cálculos por diferentes motivos (6 ovejas no ovularon, 7 tuvieron ovulaciones múltiples ≥ 4 , y 2 sufrieron adherencia de esponja en vagina al momento de su retiro). Inmediatamente el potrero fue dividido en 2 parcelas similares y cada grupo fue alojado en una de ellas. El grupo Tratamiento recibió entre los Días 8 y 14 (7 días totales) una suplementación proteica con Harina de Soja peleteada a razón de 1,2% del PV promedio. Esta se proporcionó una vez al día en horas de la mañana (9 AM), en comederos lineales que permitían el consumo de ambos lados. Se midió el rechazo del consumo cada mañana, siendo este despreciable. Los grupos fueron rotados de parcela a mitad de la suplementación para minimizar el efecto "parcela" en los resultados. Al finalizar la suplementación diferencial los grupos fueron unidos, comenzando un servicio de repaso con carneros al 2,5% (Días 14 al 21), pintados con grasa y tierra de color, que ingresaron en forma progresiva a medida que aumentaron las ovejas en estro. Las ovejas pintadas fueron registradas al final del repaso.

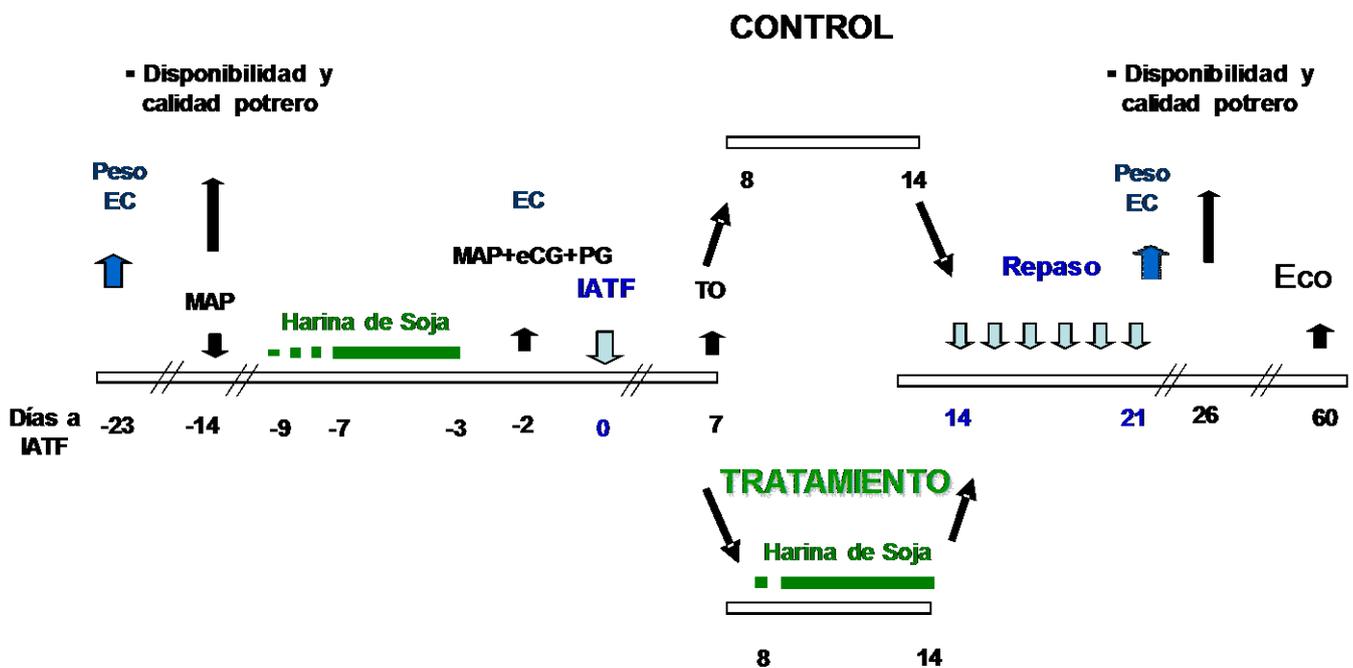


Figura 3. Diseño experimental

Variables productivas

Se evaluó PV con ayuno de 12 horas al inicio y fin del ensayo (Días -23 y 21 respectivamente) con balanza electrónica (NQ&F con indicador A&D AD-4406, Japón; apreciación 0,1 kg), y CC aproximadamente cada 21 días (Días -23, -2 y 21), estimándose evolución de éstas variables durante el experimento.

Se estimó el consumo voluntario de las ovejas en base al PV inicial promedio (40,8 kg) y un consumo del 3% del PV, asumiendo solo sustitución de pastura por suplemento. El consumo voluntario estimado fue de 1,2 kg MS/oveja/día, donde durante el período de suplementación (Días 8 al 14) el campo natural aportó 0,75 kg MS/oveja/día (1,8% del PV) y el suplemento 0,48 kg MS/oveja (1,2% del PV).

También se estimó el consumo de PC (gr) aportada por el campo natural (con o sin selección; Montossi y col., 2000) y por el suplemento ofrecido, en base al consumo voluntario estimado y al análisis de calidad de los alimentos. La PC promedio que aportó la pastura fue de 111 gr/día/oveja (en ovejas sin acceso a suplemento), mientras que la PC aportada por el suplemento (Días 8 al 14, grupo Tratamiento) fue de unos 240 gr/día/oveja. Se estima que las ovejas que no tuvieron acceso al suplemento (grupo Control) sólo pudieron haber cosechado 111 gr/día de PC (~ 0,27% del PV) en caso de no haber selección, y 155 gr/día de PC con selección de la pastura (~ 0,34% del PV). En cambio, las ovejas que tuvieron acceso al suplemento (grupo Tratamiento) pudieron haber cosechado en esos días un total de 308 gr/día de PC (68 gr del CN + 240 gr del suplemento; ~ 0,75% del PV), y hasta un 40% extra si la pastura fue seleccionada (total de PC 335 gr/oveja/día; ~ 0,82% del PV). Es decir, entre 180 y 197 gr de PC extras, o sea entre 116 y 177% más de PC/oveja/día (con o sin selección de pastura respectivamente) durante los días del tratamiento diferencial (Días 8 al 14).

Variables reproductivas

Se evaluó en cada grupo el no retorno al estro desde el Día 14 al 21 pos IATF (ovejas que no retornan al servicio/ovejas inseminadas *100; NR_D21), la preñez (ovejas gestantes/total de ovejas en servicio*100), prolificidad (fetos/ovejas gestantes) y fecundidad (fetos/total de ovejas en servicio*100) al Día 60 por vía trans-abdominal (ecógrafo Aloka Pro Sound y transductor 3,5 MHz, Japón).

Las pérdidas reproductivas fueron comparadas en ambos grupos. Se asumió que todos los ovocitos producidos fueron fertilizados y que las diferencias entre el número de CL al Día 7 y los fetos observados a la ecografía al Día 60 refleja directamente la pérdida de embriones previa al reconocimiento materno o posterior al mismo. Se asume también que todas las ovejas que no repiten estro entre el Día 14 y 21 estaban gestantes a ese momento. Para analizar las pérdidas reproductivas las ovejas fueron clasificadas en diferentes categorías basadas en los resultados de ecografía. Las categorías incluyen aquellas ovejas que tuvieron: a) "Pérdidas Parciales" en ovulaciones múltiples (1 o 2 embriones perdidos en ovejas con 2 o 3 CL): mayor TO al Día 7 que fetos al Día 60, b) "Pérdidas Totales": 1, 2 o 3 embriones perdidos en ovejas con 1, 2 o 3 CL respectivamente y, c) "Retención Total" (ovejas que no tuvieron pérdidas): igual número de CL al Día 7 que fetos al Día 60.

Análisis estadístico

Cambios en el PV y CC se analizaron mediante análisis de varianza (GLM. SAS, 2001). Variables categóricas como porcentaje de ovejas que NR_D21, preñez y pérdidas reproductivas parciales o totales fueron comparadas mediante el test de Chi Cuadrado; la prolificidad y la fecundidad por el test de Brown (Brown, 1988), considerando como nivel de significación en todos los casos $P \leq 0,05$.

RESULTADOS

Precipitaciones

Las precipitaciones acontecidas durante el experimento se presentan en la

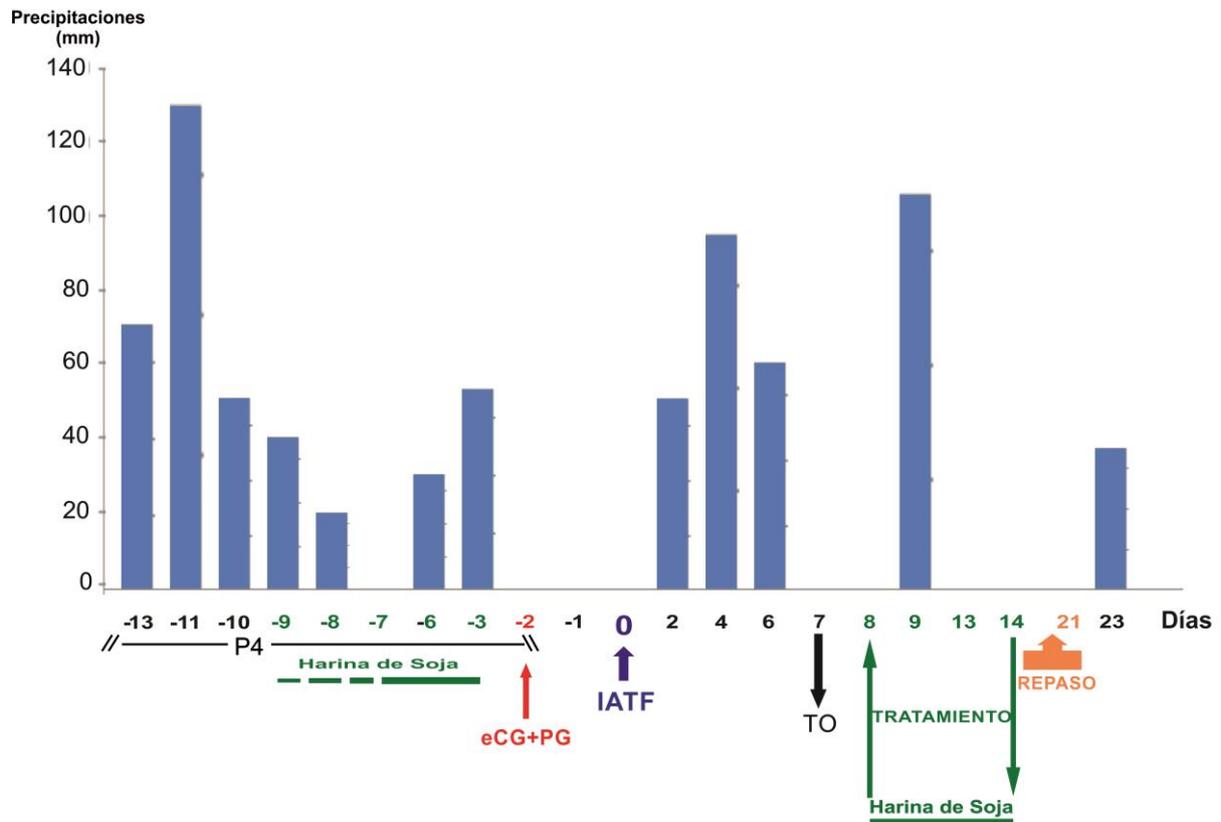


Figura 4.

Figura 4. Precipitaciones acontecidas durante el ensayo

Durante el ensayo se registraron lluvias por un total de 735 mm, con un acumulado de 392 mm entre los Días -13 a -3 y 310 mm entre los Días 2 y 9 respecto de la IATF.

Evolución de la CC y PV

En la gráfica 5 se presenta la evolución de CC a lo largo del experimento

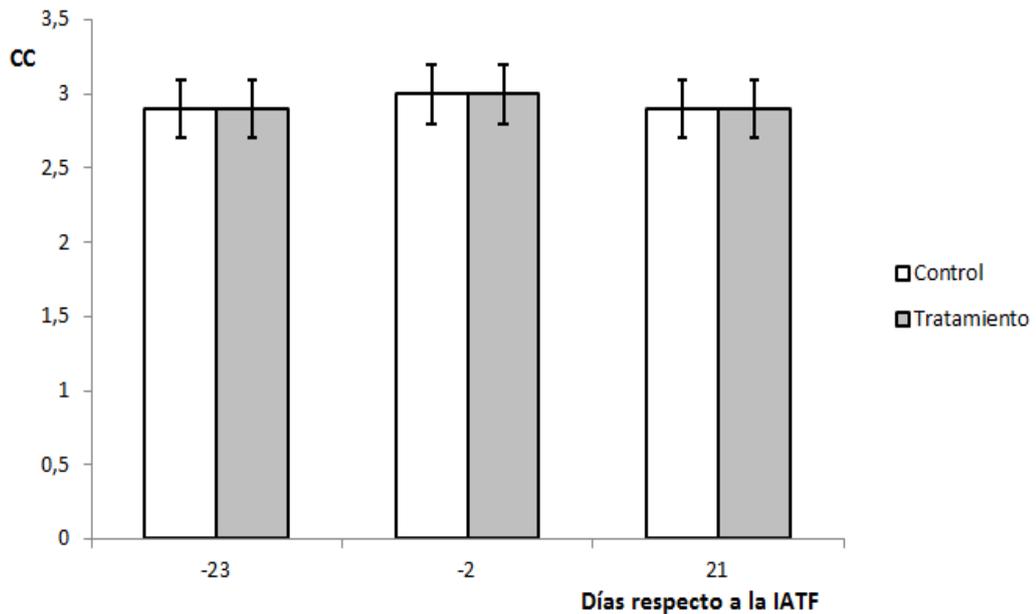


Figura 5. Evolución de condición corporal a lo largo del ensayo

No se observan diferencias significativas entre grupos en CC en ninguno de los momentos evaluados ni a lo largo del experimento ($P > 0,05$). Al Día -2 la CC de ambos grupos se incrementó en 0,1 puntos respecto al inicio (Día -23), disminuyendo lo mismo hacia el final del experimento (Día 21).

En la gráfica 6 se presenta la evolución del PV a lo largo del experimento.

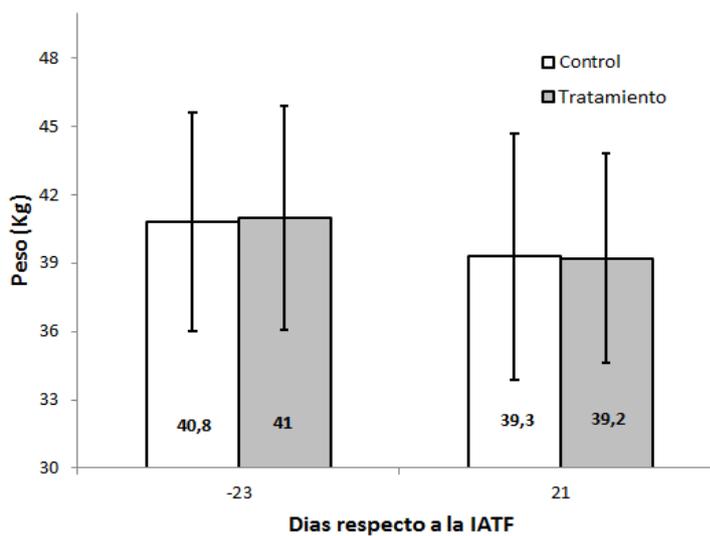


Figura 6. Evolución de peso vivo a lo largo del ensayo

Al inicio del experimento (Día -23) las ovejas de ambos grupos presentaban una diferencia promedio de PV de solo 0,2 kg entre sí. Al final (Día 21) todas las ovejas perdieron peso ($P>0,05$), las ovejas del grupo Control perdieron 1,6 kg en promedio (~ 3,9% del PV), mientras que las ovejas del grupo Tratamiento perdieron 1,7 kg (~ 4% del PV).

Respuesta reproductiva

Los resultados se presentan en la Tabla 1 No se observan diferencias significativas en ninguna de las variables reproductivas consideradas ($P>0,05$). Las pérdidas porcentuales totales de ovejas preñadas entre el NR-D21 y la Preñez a los 60 días fueron muy bajas (1,3% en promedio), y no diferentes entre grupos ($P>0,05$).

Tabla 1. Resultados reproductivos en ovejas múltiparas Merino servidas por IATF vía cervical con semen fresco, pastoreando solo campo natural (Control) o suplementadas con Harina de Soja los Días 8 al 14 respecto a la IATF (Tratamiento).

	NR-D21 (%)	Preñez (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
Control (157)	63,7 a	62,4 a	1,33 ± 0,76 a	82,8 a
Tratamiento (155)	65,8 a	64,5 a	1,32 ± 0,75 a	85,2 a

NR-D21: tasa de no retorno al estro al Día 21 (ovejas que no retornan al estro/total de ovuladas*100) evaluada desde el Día 14 al 21 con carneros pintados. Tasa de Preñez (ovejas gestantes/total de ovuladas*100), Prolificidad (fetos/oveja gestante) y Fecundidad (fetos/total de ovuladas*100) evaluadas al Día 60 por ecografía vía abdominal. Sincronización de estros y ovulación: esponjas vaginales de MAP 60 mg por 12 días + 125 µg de cloprostenol DL y 360 UI de eCG a su retiro + consumo de pellets de Harina de Soja al 1,2% del PV desde el Día -7 al -3 inclusive. IATF (Día 0) a 52 ± 2 h del retiro de esponjas. Grupo Tratamiento: ovejas suplementadas con pellets de Harina de Soja al 1,2% del PV desde el Día 8 al 14 pos servicio inclusive.

Pérdidas reproductivas

Tabla 2. Pérdidas reproductivas Parciales, Totales, o Retención Total de embriones (% de ovejas) hasta el Día 60 en ovejas multíparas Merino servidas por IATF vía cervical con semen fresco, pastoreando solo campo natural (Control) o suplementadas con Harina de Soja los Días 8 al 14 respecto a la IATF (Tratamiento).

Ovulación	Pérdidas Parciales (%)			Pérdidas Totales (%)			Retención Total (%)		
	Doble	Triple	Triple	Simple	Doble	Triple	Simple	Doble	Triple
Embriones perdidos	"1"	"2"	"2"						
Control (n=157)	32,4 (23/71)	33,3 (3/9)	33,3 (3/9)	45,5 (35/77)	32,4 (23/71)	11,1 (1/9)	54,5 (42/77)	35,2 (25/71)	22,2 (2/9)
Total/Ovuladas	18,5 (29/157)			37,6 (59/157)			43,9 (69/157)		
Tratamiento (n=155)	35,1 (26/74)	0 (0/7)	28,6 (2/7)	43,2 (32/74)	27,1 (20/74)	42,9 (3/7)	56,8 (42/74)	37,8 (28/74)	28,6 (2/7)
Total/Ovuladas	18,1 (28/155)			35,5 (55/155)			46,5 (72/155)		

Pérdidas Parciales (1 o 2 embriones perdidos en ovejas con ovulación doble o triple): mayor número de cuerpos lúteos al Día 7 que fetos a la ecografía del Día 60 (% de ovejas). Pérdidas Totales: 1, 2 o 3 embriones perdidos en ovejas con ovulación simple, doble o triple respectivamente (% de ovejas). Retención Total (ovejas que no tuvieron pérdidas): igual número de cuerpos lúteos al Día 7 que fetos al Día 60 (% de ovejas). Día 0= IATF.

La retención de embriones no fue significativamente diferente entre los grupos comparados ($P > 0,05$) independientemente de que las ovejas provengan de una ovulación simple, doble o triple. El porcentaje de ovejas con pérdidas totales o con retención total de sus embriones no fue tampoco significativamente diferente entre grupos ($P > 0,05$), y representó en el promedio de los grupos el 36,5 y 45,2% del total de ovejas ovuladas (pérdidas totales o retención total respectivamente).

No se observan diferencias significativas entre grupos en el porcentaje de ovejas con pérdidas parciales (1 o 2 embriones) provenientes de ovulaciones dobles o triples ($P > 0,05$), ni en el porcentaje de ovejas con ovulación múltiple agrupadas (dobles más triples; 36,3 vs. 34,5% Control y Tratamiento respectivamente; $P > 0,05$). El porcentaje de ovejas con pérdidas parciales no fue tampoco significativamente diferente entre grupos ($P > 0,05$), y representó en el promedio de los grupos el 18,3% del total de ovejas ovuladas.

Las ovejas con ovulación simple, doble o triple no tuvieron un porcentaje de preñez (ovejas con retención total más ovejas con pérdidas parciales) diferente entre grupos (54,5 vs. 56,8%, 67,6 vs. 72,9% o 88,9 vs. 57,1%, para grupo Control y Tratamiento; ovulación simple, doble o triple respectivamente; $P > 0,05$).

DISCUSIÓN

La hipótesis planteada acerca de que una alimentación focalizada con Harina de Soja, en ovejas en fase de reconocimiento materno de la gestación (días 8 a 14 pos servicio), disminuye la fertilidad y/o prolificidad de un servicio de IATF por generar un mayor número de pérdidas reproductivas, no pudo ser aceptada. Las pérdidas reproductivas acontecidas en ambos grupos experimentales fueron similares.

Los requerimientos diarios de PC para una oveja en mantenimiento de 40,8 kg de PV son de 90 gr (NRC, 2007), por tanto, se estarían cubriendo los requerimientos del grupo Control, aun sin selección de la pastura. Los niveles de PC consumidos por el grupo Tratamiento, durante los días de suplementación diferencial, fueron significativamente superiores a los del grupo Control (al menos el doble). Sin embargo, estos niveles estarían cercanos a aquellos que pueden elevar la urea plasmática por encima de su rango normal de 10 nmol/L^{-1} es decir más de 350 gr de PC (Radostitis y col. 1994; Hindson y Winter, 2002). Esto ocurriría debido a fallas en la metabolización hepática del amoníaco producido en el rumen, lo cual podría comenzar a ser citotóxico generando daño de las membranas celulares (Lloyd, 1970; Emmanuel y Edjtehadi, 1981). En consecuencia, se produciría además de un uso limitado de la glucosa por las células en general (Spires y Clark 1979; Emmanuel y Edjtehadi, 1981; Banchemo y col. 2004), un aumento del amoníaco y urea en útero, que podrían ser en sí mismos también embriotóxicos (Bishonga y col., 1996; McEvoy y col., 1997; Robertson y col., 2014; 2015a, b). Trabajos nacionales observan un incremento importante del nivel de urea plasmático pos suplementación con Harina de Soja por tres semanas (Esponda, Itzaina y Ramos, 2016). Sin embargo esta suplementación no fue realizada durante el reconocimiento materno de la gestación sino previo o durante los primeros días pos servicio, incrementando la prolificidad pero sin efecto aparente sobre las pérdidas reproductivas de ese servicio. No conocemos en nuestro experimento que valores de amoníaco y urea se alcanzaron al final de la suplementación en el grupo Tratamiento. Si sabemos que, a juzgar por los resultados observados, no parecen haber generado toxicidad de los embriones como para provocar pérdidas diferenciales.

Los resultados de NR-D21 y las pequeñas diferencias observadas con el valor de preñez final al Día 60 (1,3% menor en promedio) nos sugieren que las pérdidas totales de embriones, en ambos grupos de ovejas, acontecieron fundamentalmente previo o al momento del reconocimiento materno de la gestación. En términos comparativos se podría decir que la preñez en ambos grupos (ovejas con retención total más ovejas con pérdidas parciales) alcanzó valores muy aceptables para nuestras condiciones experimentales considerando el biotipo racial, el tipo de servicio y el protocolo de sincronización empleado (raza Merino, IATF vía cervical con semen fresco, protocolo P4-eCG; Gordon, 1999; Olivera-Muzante y col., 2011; 2013; Hitateguy, 2016).

Sin embargo, y aunque sin diferencias entre grupos experimentales, se observaron pérdidas parciales en ovejas con ovulación múltiple (35,4% promedio del total de las múltiples y 18,3% de total de ovejas ovuladas), y pérdidas totales (36,5% del total de las ovejas ovuladas), que disminuyeron la preñez, prolificidad y fecundidad potencial, y que sería importante poder explicar. Las pérdidas parciales en ovejas de ovulación múltiple constituyen una fuente importante dentro de las pérdidas reproductivas globales diagnosticadas en Nueva Zelanda (Knight, 1990) y Australia (Kleeman y Walker, 2005). Varias son las causas que se podrían relacionar de alguna u otra forma a estas pérdidas reproductivas en nuestro experimento. Por la naturaleza de las mismas (igual impacto en ambos grupos), estas parecen ligadas a uno o varios factores que interactuaron sobre muchas de las ovejas. Entre estas posibles causas podríamos considerar y/o descartar aquellas ligadas a temas sanitarios, a los tratamientos de sincronización de estros utilizados, al manejo nutricional, a causas genéticas, y/o a causas ambientales, etc.

Respecto a posibles causas sanitarias, podemos descartar con certeza en nuestro experimento la aparición de algún brote de parasitosis a *Haemonchus contortus* como causa de estas pérdidas reproductivas, tal cual reportan algunos autores en nuestro país (Fernández Abella y col., 2006). El no incremento en los contajes de HPG en materia fecal y/o la falta de sintomatología clínica (mucosas, diarreas, etc.) durante todo el período, así lo reafirman. Tampoco se suscitó durante el experimento ningún evento de enfermedades podales, aún con las importantes precipitaciones acontecidas, que pudiera explicar las fallas o pérdidas reproductivas diagnosticadas (Fernández Abella, 2015).

Por otro lado, el protocolo de sincronización de estro empleado (P4 por 12 días y eCG), y la suplementación focalizada con Harina de Soja agregada previo al servicio, permitió generar un número importante de ovulaciones para poder testar la hipótesis de trabajo. En un ensayo previo en este mismo establecimiento, la suplementación aplicada posibilitó mejorar en forma significativa la fecundidad de las ovejas respecto a las que no la recibieron (Hitateguy, 2016), alcanzando similares resultados a los de nuestro experimento. Sin embargo, es reportado que el protocolo de P4-eCG, a pesar de ser el más usado (Gordon, 1999), evidencia fallas y/o pérdidas reproductivas en sí mismo. Se piensa que dado el alto peso molecular de la eCG (68.000), su larga vida media en sangre, y/o su elevado ratio de FSH/LH (Gordon, 1999; Menchaca y Rubianes, 2004), se pueden observar en ovinos y bovinos, alteraciones hormonales por un incremento en la estrogenicidad de los folículos (Barret, 2002), desarrollo de quistes foliculares (Viñoles y col., 2001), y/o en protocolos de superovulación un mayor porcentaje de estructuras embrionarias no fertilizadas o degeneradas (Kelly, 1997; Olivera y col., 2001). Todo esto, sumado a la posibilidad de ovulación de folículos envejecidos por el uso de tratamientos “largos” con P4 (Ungerfeld y Rubianes, 1999; Viñoles y col., 2001), podría dar lugar al desarrollo de ovocitos y embriones de menor calidad, y en consecuencia a la posibilidad de mayores fallas o pérdidas reproductivas. La hora de IATF elegida pensamos fue la adecuada para el protocolo, vía y tipo de semen empleado (Evans y Maxwell, 1987) por tanto, se descarta en principio, el envejecimiento de gametos como fuente de pérdidas reproductivas.

Respecto al manejo nutricional planteado en el diseño del experimento, pensamos que la asignación y oferta de forraje al inicio y salida del pastoreo, y la

calidad del potrero reservado, aseguraron cubrir los requerimientos de mantenimiento de las ovejas, por tanto, no se piensa en principio, en los efectos de una subnutrición en ese período (Edey, 1969; 1976b; Abecia y col., 1994; 1999; 2006; Viñoles y col., 2012; 2010; 2009) como explicación a las pérdidas reproductivas observadas. Si bien la evolución de CC y PV evidencia que las ovejas tendieron a perder algo en estas variables hacia el final del experimento (0,1 puntos de CC y 4% del PV), dada la magnitud de esta disminución, no parecen ser la causa de las pérdidas reproductivas observadas.

No conocemos sin embargo, los efectos negativos que pudo haber generado la suplementación realizada con Harina de Soja a todas las ovejas, previo al servicio de IATF. Algunos reportes en cabras y ovejas utilizando lupino evidencian que si bien mejora la respuesta en TO, los CL generados podrían ser de menor calidad (producción de progesterona en fase lútea temprana), debido a un incremento significativo en los niveles de urea plasmática durante el período periovulatorio. Esto tendría consecuencias a nivel del desarrollo folicular y oocitario (Rooke y col., 2004), la producción de progesterona del CL (Alves y col., 2011), y un posible impacto en la supervivencia de los embriones generados (Hashem, 2012), explicando de esa forma parte de las pérdidas totales de embriones.

El aumento en TO y embriones potenciales generado en nuestro experimento pudo haber provocado una mayor tasa de mortalidad en ellos, que explique las pérdidas reproductivas parciales y/o totales observadas, tal cual lo reportan otros investigadores (Kelly y Allison, 1976; Kleeman y col., 1990; Wilkins (1989), sobre todo asociado a razas de baja prolificidad genética como la utilizada en este experimento (Kleeman y col., 1990). La incidencia de ovulaciones dobles unilaterales, respecto a las bilaterales, generó una menor fecundidad final en nuestro experimento (69,5 vs. 123,7; $P < 0,07$; datos agrupados no presentados), tal cual lo reportan otros autores (White y col., 1981). Esto pudo haber contribuido a explicar parte de las pérdidas observadas.

Por último, la ocurrencia de efectos climáticos de relevancia previo y posterior al servicio (precipitaciones acumuladas), como las ocurridas en nuestro experimento, han sido reportadas como una causa importante de disminución en la TO y/o en el incremento de la muerte de embriones por degeneración, con fallas en el reconocimiento materno de la gestación o pérdidas posteriores (Gun y Doney, 1973; Fernández Abella y col., 2007).

En resumen, varias son causas que pudieron haber provocado esta disminución en la prolificidad y fecundidad potencial en las ovejas de nuestro experimento, sin diferencias entre tratamientos aplicados. Se destacan a nuestro entender, las pérdidas reportadas que ocurren por el uso de protocolos hormonales en la sincronización de estros, la raza utilizada para mantener los embriones generados, la ubicación de las ovulaciones dobles, y las importantes precipitaciones ocurridas previas y posteriores al servicio de IATF.

CONCLUSIÓN

Se concluye que la suplementación de ovejas con Harina de Soja, en los niveles aquí testados, entre los Días 8 al 14 pos servicio de IATF no generó diferencias en el comportamiento y/o pérdidas reproductivas de este servicio,

pudiendo ser una opción interesante a validar para mejorar la prolificidad del servicio repaso y por ende la global del servicio realizado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abecia J A., Forcada F., González-Bulnes A (2012) Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 130:173-179.
2. Abecia J A., Forcada F., González-Bulnes A (2011) Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 27:67-79.
3. Abecia J A., Sosa C., Forcada F., Meikle A (2006) The effect of undernutrition on the establishment of pregnancy in the ewe. *Reproduction Nutrition Development*. 46:367-378.
4. Abecia J A., Forcada F., González-Bulnes A (2002) The effect of progestagen treatment on sheep reproductive performance at different phases of the oestrus cycle. *Animal Reproduction Science*. 51:149-155.
5. Abecia J A., Forcada F., Lozano J M (1999) A preliminary report on the effect of dietary energy on prostaglandin f2 (production in vivo, interferon tausintesis by the conceptus, endometrial progesterone concentration on days 9 and 15 of pregnancy and associated rates of embryo wastage in ewes. *Theriogenology*. 52:1203-1213.
6. Abecia J A., Rhind S M (1994) Efectos de la nutrición sobre la mortalidad embrionaria en la especie ovina. *OVIS*. 33:63-72.
7. Acritopoulou S., Haresign W (1980) Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF2 α given at different stages of oestrous cycle. *Journal of Reproduction Fertility*. 58:219-223.
8. Adams N R (1990) Clover disease: The state of the art. En: Oldham C M., Martin G B., Purvis I W. *Reproductive Physiology of Merino Sheep Concepts and Consequences*. Perth, The University of Western Australia. 327 p.
9. Aisen E (2004) *Reproducción ovina y caprina*. Buenos Aires, Intermédica. 206p.
10. Alves N G., Torres C A A., Guimaraes G D., Moraes E A., Rodriguez M T., Cecon P R., Bitencourt L L., Amorin L S (2011) Effects of urea in the diet on ovarian follicular dynamic and plasma progesterone concentration in Alpine goats. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 40:1512-1518.
11. Aké J R., Heredia M., Alfaro M (2003) Effect of hormone in the superovulatory response and synchrony of estrus on pregnancy rate in peli buey ewes. *Veterinaria México*. 34:225-233.
12. Arnold G W., Wood P., McR., Nairn M., Allen J., Wallace S R., Weeldenberg J (1978) Comparison of luping varieties for grain yield, nutritive value of stubbles, incidence of infection white Phomopsis leptostromiformis and

- occurrence of lupinosis. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 18:442-452.
13. Ashworth C J., Sales D I., Wilmut I (1989) Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 87:23–32.
 14. Azzarini M (2000) Consideraciones y sugerencias para mejorar los procreos ovinos. En: SUL. Una propuesta para mejorar los procreos ovinos. Montevideo, Secretariado Uruguayo de la Lana. p. 3-35.
 15. Baeza S., Lezama F., Piñeiro G., Altesor A., Paruelo J M (2010) Spatial variability of aboveground net primary production in Uruguayan Grasslands. A remote sensing approach. *Applied Vegetation Science*. 13:72-85.
 16. Banchemo G., Montossi F., Barbieri I (2013) Como lograr una buena encarnada para mejorar la eficiencia reproductiva de nuestras majadas. *Revista INIA*. 32:12-16.
 17. Banchemo G., Vázquez A., Vera M., Quintans G (2012) Adding condensed tannins to the diet increases ovulation rate in sheep. *Animal Production Science*. 52:853-856.
 18. Banchemo G., Vázquez A., Vera M., Quintans G (2011) Utilización de taninos condensados para incrementar la tasa ovulatoria en ovejas. XV Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p. 252-253.
 19. Banchemo (2008) Flushing corto una herramienta para aumentar el porcentaje de mellizos en ovejas de baja a moderada prolificidad. *Revista INIA*. 14:8-12.
 20. Banchemo G., Fernández M., Ganzábal A., Vázquez A., Quintans G (2006) Manejo genético y nutricional para aumentar la tasa mellicera de nuestras majadas. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. p. 71-76.
 21. Banchemo G., Fernández M E., Ganzábal A (2005) Manejo nutricional estratégico previo a la encarnada para aumentar el porcentaje de mellizos en ovejas Ideal e Ideal x Frisona Milchscaf. *INIA Serie de Actividades de Difusión*. 426:3-5.
 22. Banchemo G., Quintans G., Milton J., Lindsay D (2005) Alimentación estratégica para mejorar la lactogénesis de la oveja al parto. *INIA Serie de actividades de difusión*. 401:127-136.
 23. Banchemo G E., Quintans G., Martin G B., Milton J T B., Lindsay D R (2004) Nutrition and colostrum production in sheep. 2. Metabolic and hormonal

- responses to different energy sources in the final stages of pregnancy. *Reproduction, Fertility, and Development*. 16:1-9.
24. Barrett D M W., Bartlewski P M., Cook S J., Rawlings N C (2002) Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to 35 PGF₂ given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology*. 58:1409–1424.
 25. Bennett H W., Underwood E J., Shier F L (1946) A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Australian Veterinary Journal*. 22:2-12.
 26. Bentancor E., González V (2015) Comparación reproductiva de diferentes protocolos de IATF vía cervical en ovinos en base a prostaglandina o progéstágenos y eCG. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, UdelaR. 58p.
 27. Bishonga C., Robinson JJ., McEvoy T G., Findlay P., Aitken R., Robertson I (1996) Excess dietary urea intake in ewes and its effect on ovulation rate and embryo development. *Japanese Journal of Veterinary Research*. 44:139-151.
 28. Bishop M H W (1964) Paternal contribution to embryonic death. *Journal of Reproduction and Fertility*. 7:383-396.
 29. Bolet G (1986) Timing and extent of embryonic mortality in pigs, sheep and goats. Genetic variability. En: Sreenan JM., Diskin MG. *Embryonic Mortality in Farm Animals*. Dordrecht, Nijhoff. p. 12-43.
 30. Bonino J., Cavestany D (2005) Aspectos de pérdidas reproductivas de origen infeccioso en ovinos. *Producción Ovina*. 17:69-76.
 31. Braden A W., Moule G R (1964) Effect of stress on ovarian morphology and oestrus cycles in ewes. *Australian Journal of Agricultural Research*. 15:937-949.
 32. Bradford G E (1979) Genetic variation in prenatal survival and litter size. *Journal of Animal Science*. 49:66-74.
 33. Brien F., Cumming I., Clarke I., Cocks C (1981) Role of plasma progesterone concentration in early pregnancy of the ewe. *Journal of Agricultural Science*. 21:562–565.
 34. Brien F., Cumming, I., Baxter R (1977) Effect of feeding a lupin grain supplement on reproductive performance of maiden and mature ewes. *Journal of Agricultural Science*. 89:437–443.
 35. Brown G H (1988) The statistical comparisons of reproduction rates for groups of sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 39:899-905.

36. Camacho J C., Rodríguez C., Hernández J E (2008) Características reproductivas de ovejas peli buey sincronizadas e inducidas a la pubertad. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. 16:18-24.
37. Casida L E., Woody C O., Pope A L (1966) Inequality in function of the right and left ovaries and uterine horns of the ewe. Journal of Animal Science. 25:1169-1171.
38. Cox S F., McMillan W H., Donnison M J (1998) Establishment of a herd of cattle with divergent potential pregnancy rate. Theriogenology. 49 (1): 242.
39. Curll M L., Davidson J L., Freer M (1975) Efficiency of lamb production in relation to weight of the ewe at mating and during pregnancy. Australian Journal of Agricultural Research. 26:553-565.
40. Davis A J., Fleet I R., Harrison F A., Walker F M M (1980) Pulmonary metabolism of prostaglandin F₂ α in the conscious non-pregnant ewe and sow. Journal of Physiology. 301:86.
41. Dobson H., Ghuman S., Prabhakar S., Smith R (2003) A conceptual model of the influence of stress on female reproduction. Reproduction. 125:151-163.
42. Doney J., Gunn R., Griffiths J (1973) The effect of pre-mating stress on the onset of oestrus and ovulation rate in Scottish Blackface ewes. Journal of Reproduction and Fertility. 35:381-384.
43. Downing J A., Joss J., Connell P., Scaramuzzi R J (1995) Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. Journal of Reproduction and Fertility. 103:137-145.
44. Downing J A., Scaramuzzi R J (1991) Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic metabolic hormones in sheep. Journal of Reproduction and Fertility. 43:209-227.
45. Durán del Campo A (1993) Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos. Montevideo, Hemisferio sur. 199p.
46. Durán del Campo A (1980) Anatomía, Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial en Ovinos. Montevideo, Hemisferio Sur. 264p.
47. Dutt H (1964) Detrimental effects of high ambient temperature on fertility and early survival in sheep. International Journal Biometeorology. 8:43-56.
48. Edey T N (1976a) Embryo mortality in sheep breeding. Sheep Breeding Proceedings International Congress. Muresk y Perth, Australia. 400-401.
49. Edey T N (1976b) Nutrition and embryo survival in the ewe. Proceedings of The New Zealand Society of Animal Production. 36:231-239.

50. Edey T N (1969) Prenatal mortality in sheep. A review. *Animal Breeding*. 37:173-190.
51. Emmanuel B., Edjtehadi M (1981) Glucose biokinetics in normal and urea-treated sheep (*Ovis aries*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 68:555–560.
52. Esponda M., Itzaina M C., Ramos J F (2016) Evaluación del libre acceso al concentrado proteico como modalidad de suplementación para el flushing de ovejas sobre campo natural. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria. UdelaR. 90p.
53. Evans A C O., Duffi P., Hynes N., Boland M P (2000) Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 53:699-715.
54. Evans G., Maxwell C (1990) Inseminación artificial en ovejas y cabras. Evans, G. Salamon, S. Inseminación artificial en ovejas y cabras. Zaragoza, Acribia. p. 158-161.
55. Evans G., Maxwell W M C (1987) Handling and examination of semen. En: Maxwell WMC. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Sydney, Butterworth's. p. 85-104.
56. Faichney G J., White G A (1987) Effects of maternal nutritional status nutrition on fetal and placental growth and on fetal urea synthesis *Journal Biology Science*. 40:365-377.
57. Fels H E., Neil H G (1968) Effects on reproduction of prolonged grazing of oestrogenic pasture by ewes. *Australian Journal of Agricultural Research*. 19:1059-1068.
58. Fernández Abella D., Villegas N (2015) Inseminación Artificial en Ovinos. En: Fernández Abella D. Tecnologías Reproductivas Bovinas y Ovinas. Montevideo, Hemisferio Sur. p. 127-151.
59. Fernández Abella D., Folena G., Formoso D., Irabuena O (2008) Estudio de la mortalidad embrionaria y fetal en ovinos. IV. Efecto del estrés pluviómetro artificial y natural sobre actividad ovárica y las pérdidas reproductivas. *Producción Ovina*. 20:2129.
60. Fernández Abella D., Formoso D., Goicoechea I., Locatelli A., Scarlato S., Ibañez W., Irabuena O (2007) Estudio de la mortalidad embrionaria y fetal en ovinos III. Efecto de la asignación de forraje y de un estrés pluviométrico artificial sobre la tasa ovulatoria y pérdidas reproductivas en ovejas Corriedale. *Producción Ovina*. 19:15-23.
61. Fernández Abella D., Castells D., Piaggio L., Deleon N (2006) Estudio de la mortalidad embrionaria y fetal en ovinos. I. Efecto de distintas cargas

parasitarias y su interacción con la alimentación sobre las pérdidas embrionarias y fecundidad. *Producción Ovina*. 18:25-31.

62. Fernández Abella D., Formoso D., Lafourcade E., Rodríguez Monza P., Monza J., Aguerre J J., Ibañez W (2005) Efecto del nivel de oferta de *Lotus uliginosus* cv. Maku previo al servicio sobre la fecundidad ovina. *Producción Ovina*. 17:37-46.
63. Fernández Abella D., Villegas N (1995) Investigación en Reproducción ovina en la zona de basalto. Primer encuentro de investigadores de la regional norte, UDELAR. Salto, Uruguay. 1-18.
64. Fernández Abella D (1995) Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Montevideo, Universidad de la República. 206p.
65. Fernández Abella D., Saldanha S., Surraco L., Villegas N., Hernández Z., Rodríguez P (1994) Evaluación de la variación estacional de la actividad sexual y crecimiento de lana en cuatro razas ovinas. *Boletín Técnico de Ciencias Biológicas*. 4:19-43.
66. Fernández Abella D (1993) Gestación y parto. En: Fernández Abella D. Principios de fisiología reproductiva ovina. Montevideo, Hemisferio Sur. p. 208-209.
67. Fernández Abella D., Álvarez L., Fontaina R., Kintzi H., Nande D., Tagle R (1992) Evaluación de diferentes métodos de sincronización de celo en servicios de primavera. *Boletín Técnico de Ciencias Biológicas*. 2:57-68.
68. Fernández Abella D H (1987) Temas de reproducción ovina. Montevideo, Universidad de la República. 258p.
69. Fierro S., Gil J., Viñoles C., Soca F., Bancharo G., Olivera-Muzante J (2014) Protein supplementation during a short-interval prostaglandin-based protocol for timed AI in sheep. *Animal Reproduction Science*. 149:158-162.
70. 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.
71. Fierro S., Olivera J., Gil J., Viñoles C (2011) Effects of prostaglandin administration on follicular dynamics, conception, prolificacy and fecundity in sheep. *Theriogenology*. 76:630-639.
72. Fierro S (2010) Pérdidas Reproductivas en Ovejas Sincronizadas con Prostaglandina. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria. UdelaR. 45p.
73. Fletcher I C (1981) Effects of energy and protein intake on ovulation rate associated with the feeding of lupin grain to Merino ewes. *Australian Journal of Agricultural Research*. 32:79-87.

74. Forcada Miranda F (1996) Reproducción Ovina. En: Buxadé, C. Zootecnia. Madrid, Mundi prensa. 77-93.
75. Freyre A (2003) Toxoplasmosis en la majada. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. p. 26-27.
76. Freyre A., Bonino J., Falcón J., Castells D., Méndez J., Casaretto A., Gedda C., Scremini P., Pereira D., Amir A., Caresani A (1997) Aborto ovino toxoplasmático: su significación económica en el Uruguay. Producción Ovina. 10:29-41.
77. Freyre A., Falcon C., De Olivera V., Sampaio I (1983) Relevamiento de la infección toxoplasmica en el ovino en el Uruguay. Anales de la Facultad de Veterinaria. 18-20:89-99.
78. Gambetta A (2016) Desafíos del rubro ovino para el siglo XXI. Seminario internacional .de producción ovina. SUL. Montevideo,Uruguay.
www.sul.org.uy/descargas/des/18.A.Gambetta_Desaf%C3%ADos_de_la_producci%C3%B3n_ovina_para_el_siglo_XXI.pdf Fecha de consulta: 12/09/2016.
79. Ganzabal A., Ruggia A., Miquelerena J (2003) Producción de corderos en sistemas intensivos. INIA Serie de Actividades de Difusión. 342:1-7.
80. Gardiner M R., Peterson D S (1972) Pathogenesis of mouse lupinosis induced by a fungus (Cytospora sp.) growing on dead lupins. Journal of Comparative Pathology. 82:5-13.
81. Gardiner M R (1967) Lupinosis. Advanse in Veterinary Science. 11:85-138.
82. Geisler P A., Newton J E., Mohan A E (1977) A mathematical model of fertilization failure and early embryonic mortality in sheep. Journal of Agricultural Science. 89:309-317.
83. Gil J (2002) Inseminación artificial en ovinos. En: Ungerfeld R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea. 319-338.
84. Gillan L., Maxwell W M C., Evans G (2004) Preservation and evaluation of semen for artificial insemination. Reproduction, Fertility and Development. 16:447-454.
85. 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.
86. González–Bulnes A., Contreras-Solis I (2012) Estrategias sostenibles para el manejo reproductivo de la oveja. Reunión Bianual sobre Reproducción Animal. Temascaltepec de González, Méjico. p. 108-121.

87. Gordon I (1999) Fixed-time sheep artificial insemination. En: Gordon I. Controlled Reproduction in sheeps and goats. Wallingford, CAB. p. 86-109.
88. Gunn R., Doney J (1973) The effects of nutritional and rainfall at the time of mating on the reproductive performance of ewes. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 19:253-258.
89. Greyling J P C., Erasmus J A., Taylor G J., Van der Merwe S (1997) Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. *Small Ruminant Research.* 26:137-143.
90. Griffiths J., Gunn R., Doney J (1970) Fertility in Scottish Blackface ewes as influenced by climatic stresses. *The Journal of Agricultural Science.* 75:485-488.
91. Guerra J C., Thwaites C J., Edey T N (1971) The effects of live weight on the ovarian response to pregnant mare serum gonadotrophin and on embryo mortality in the ewe. *Journal of Agricultural Science.* 76:177-178.
92. Hackett A J., Langford G A., Robertson H A (1981) Fertility of ewes after synchronisation of oestrus with a prostaglandin F_{2α} and artificial insemination. *Theriogenology.* 15:599-603.
93. Hafez E., Hafez B (2002) Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7^a ed. South Carolina, Mc Graw-Hill Interamericana. 519p.
94. Hanrahan J P (1982) Selection for increased ovulation rate, litter size and embryo survival. *World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.* Valencia, España. p. 294-309.
95. Harrison L M., Kenny N., Niswender G D (1987) Progesterone production, LH receptors and oxytocin secretion by ovine luteal cell type on days 6, 10 and 15 of the oestrus cycle and day 25 of pregnancy. *Journal of Reproduction Fertility.* 79:359-548.
96. Hashem N M (2012) Effect of short-term flushing with lupin grain during pre-ovulatory period on ovarian activity and metabolic changes in Damascus female goats. *Animal Production Department, Faculty of Agriculture (El-Shatby), Alexandria University, 21545 Alexandria, Egypt.* 49:275-284.
97. Hawk H W., Cooper B S., Pursell V G (1981) Increased sperm death in the cervix and uterus of estrous ewes after regulation of estrus with prostaglandin or progestagen. *Journal of Animal Science.* 52:601-610.
98. Hawk H W., Cooper B S (1977) Sperm transport into the cervix of the ewe after regulation of estrus with prostaglandin or progestagen. *Animal Science.* 44:638-644.

99. Haydock K P., Shaw N H (1975) The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agricultural Animal Husband.* 15:663-670.
100. Hindson J C., Winter A C (2002) *Manual of Sheep Diseases.* Oxford, Blackwell Science. 283 p.
101. Hitateguy M (2016) Efecto de la suplementación focalizada sobre distintos protocolos de sincronización de estros en ovinos. Proyecto Final. CETP. ITSP. 39p.
102. Houghton J A S., Liberati N., Schrick F N., Townsend E C., Dailey R A., Inskeep E K (1995) Day of estrus cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *Journal of Animal Science.* 73:2094-2101.
103. Irabuena O., Fernandez Abella D., Villegas N., Collazo L., Batistoni J (2005) Incidencia de la infección con *Toxoplasma gondii* durante la gestación en la fecundidad ovina. *Producción Ovina.* 17:61-68.
104. Juengel J L., Davis G H., McNatty K P (2013) Using sheep lines with mutations in single genes to better understand ovarian function. *Reproduction.* 146:111-123.
105. Kaltenbach C C., Davies H L (1970) Fertilization, sperm transport, and early embryonic loss in ewes grazed on cultivars of subterranean clover. (*T. subterraneum*). *Australian Journal of Agricultural Research.* 21:107-114.
106. Kelly R W., Speijers E J, Ralph I G., Newnham J P (1992) Lambing performances and wool production of maiden and adult Merino ewes fed different amounts of lupin seed in mid pregnancy. *Australian Journal of Agricultural Research.* 43:339-354.
107. Kelly R W., Wilkins J., Newnham J (1989) Fetal mortality from day 30 of pregnancy in Merino ewes offered different levels of nutrition. *Journal of Agricultural Research.* 29:339-342.
108. Kelly R W (1984) Fertilization failure and embryonic wastage. En: Lindsay D R, Pearce D T. *Reproduction in Sheep.* Camberra, Australian Academy of Science. p. 127-133.
109. Kelly R W., Johnstone P D (1982) Reproductive performance of commercial sheep flocks in South Island district. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* 25:519-523.
110. Kelly R W., Allison A J (1976) Returns to service, embryonic mortality and lambing performance of ewes with one and two ovulations. *Sheep Breeding Proceedings International Congress.* Muresk y Perth, Australia. p. 418-423.

111. Kleemann D., Walker S K (2005) Fertility in South Australian commercial Merino flocks: sources of reproductive wastage. *Theriogenology*. 63:2416-2433.
112. Kleemann D., Walker S K., Grimson R J., Smith D H., Grosser T I., Seamark R F (1991) Exogenous progesterone and embryo survival in Booroola-cross ewes. *Reproduction Fertility and Development*. 3:71-77.
113. Kleeman D., Walker S., Walkley J., Grimson R., Smith D., Grimson R., Seamark R (1990) Fertilization and embryo loss in Booroola Merino x South Australian Merino ewes: Effect of the F gene. *Theriogenology*. 33:487- 498.
114. Langlands J P., Donald G E., Bowles J E., Smith A J (1991) Subclinical selenium insufficiency. I. Selenium status and response in live weight and wool production of grazing ewe supplemented with selenium. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 31:25-31.
115. Langford G A., Marcus G J., Batra T R (1983) Seasonal effects of PMSG and number of inseminations on fertility of progestagen-treated sheep. *Animal Reproduction Science*. 57:307-312.
116. Larson L L., Ball P H J (1992) Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology*. 38:255-267.
117. Leyva V., Buckrell B C., Walton J S (1998) Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*. 50:395-416.
118. Lightfoot R J., Croker K P., Neil H G (1967) Failure of sperm transport in relation to ewe infertility following prolonged grazing on oestrogenic pastures. *Australian Journal of Agricultural Research*. 18:755-765.
119. Lindsay D R., Knight T W., Smith J F., Oldham C M (1975) Studies in ovine fertility in agricultural regions of Westwrn Australia: ovulation rate, fertility and lamb performance. *Australian Journal of Agricultural Research*. 26:189-198.
120. Lloyd W (1970) Chemical and Metabolic Aspects of Urea–Ammonia Toxicosis in Cattle and Sheep. Tesis. Iowa State University. 217 p.
121. 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.
122. Lunstra D D., Christenson R K (1981) Fertilization and embryonic survival in ewes synchronized with exogenous hormones during the anestrous and estrous seasons. *Journal of Animal Science*. 53:458-466.
123. Marshall D J., Walker R J., Cullis B R., Luff M F (1991). The effect of footrot on body weight and wool growth of sheep. *Australian Veterinary Journal*. 68:45-49.

124. Martin G B., Milton J., Davidson R., Banchero-Hunzicker G., Lindsay D., Blache D (2004) Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 82-83:231-246.
125. Martin G B., Rodger J., Blache D (2004) Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*. 16:491-501.
126. Maxweel W., Salamon S (1993) Liquid Storage of Ram Semen: A Review *Reproduction Fertility and Development*. 5:613-638.
127. Maxwell W M C (1986) Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Animal Reproduction Science*. 10:301-308.
128. McCrabb G J., Egan A R., Hosking B J (1992) Maternal under nutrition during mid pregnancy in sheep: variable effects on placental growth. *Journal of Agricultural Science*. 118:127-132.
129. McCracken J A., Glew M E., Scaramuzzi R J (1970) Corpus luteum regression induced by prostaglandin F2-alpha. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 30:544-546.
130. McEvoy T., Robinson J., Aitken R., Findlay P., Robertson I (1997) Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. *Animal Reproduction Science*. 47:71-90.
131. McMilan (1996) Potential survival rates to term for transferred in vitro and in vivo derived bovine embryos. *Theriogenology*. 233p.
132. McMillan., W H., McDonald M F (1985) Survival of fertilized ova from ewe lambs and adult ewes in the uteri of ewe lambs. *Animal Reproduction Science*. 8:235-240.
133. Mc Natty K., Heath D., Henderson K., Plus S., Hurst R., Ellis L., Montgomery G., Morrison L and Thurley D (1984) Some aspects of thecal and granulosa cell function during follicular development in the bovine ovary. *Journal Reproduction and Fertility*. 72:39-53.
134. Mederos A., Casaretto A., Ferreira G., Bonino J., Scremini P (2001) Evaluación de pérdidas productivas debidas a Footrot en ovinos. INIA Serie FPTA-INIA. 07:23-31.
135. Mejía O., María P (2010) Características reproductivas de los ovinos. Curso teórico-práctico técnicas de reproducción asistida en ovinos. Guamo, Tolima. Asociación de Ovinocultura. p. 66-72.

136. Menchaca A., Rubianes E (2004) New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development*. 16:403-413.
137. MGAP. Dicose (2016) Anuario estadístico agropecuario 2016 Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-diea/anuario2016>
Fecha de consulta 03/10/2016.
138. MGAP. DIEA. (2014). Anuario estadístico ganadero. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/anuario_2014_-_diea.pdf
Fecha de consulta: 10/10/2016.
139. Michels H., Vanmontfort D., Dewil E., Decuyper E (1998) Prenatal survival in relation to periovulatory phenomena and the site of ovulation in sheep: A review. *Small Ruminant Research*. 29:157-166.
140. Moller-Holtkamp P (1980) Conceptual e lliren dos nuevas hormonas para combatir los trastornos de la reproducción en los animales. VIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.p. 5-16.
141. Monniaux D (2016) Driving folliculogenesis by the oocyte-somatic cell dialog: lessons from genetic models. *Theriogenology*. 86:41-53.
142. Montossi F (2016) Producción ovina en Uruguay. Una opción competitiva para productores. Seminario internacional de producción ovina. SUL. Montevideo,Uruguay. Disponible en: www.sul.org.uy/descargas/des/01.F_Montossi_Producci%C3%B3n_ovina_en_Uruguay_una_opci%C3%B3n_competitiva_para_productores.pdf
Fecha de consulta 12/09/2016.
143. Montossi F., Pigurina G., Santamarina I., Berreta E (2000) Estudios de selectividad animal en diferentes comunidades vegetales de la región de basalto y su importancia práctica en el manejo del pastoreo con ovinos y vacunos. En: Montossi F., Pigurina G., Santamarina I., Berreta E. *Selectividad animal y valor nutritivo de la dieta de ovinos y vacunos en sistemas ganaderos. Teoría y práctica*. Montevideo, INIA. p. 14-48.
144. Moor R M., Crosby I M (1985) Temperature-induced abnormalities in sheep Oocytes during maturation. *Journal of Reproduction and Fertility*. 75:467-473.
145. Moor R M., Rowson L E (1966) Local maintenance of the corpus luteum in sheep with embryos transferred to various isolated portions of the uterus. *Journal of Reproduction and Fertility*. 12:539-550.
146. Muñoz-Gutierrez M., Findlay P A., Adam C L., Wax G., Campbell B K., Kendall N R., Khalid M., Forsberg M., Scaramuzzi R J (2005) The ovarian expression of m RNA for aromatase, IGF-I receptor, IGF-binding protein-2, -4

and -5, leptin and leptin receptor in cycling ewes after three days of leptin infusion. *Reproduction*. 130:869-881.

147. Muñoz-Gutierrez M., Blache D., Martin G B., Scaramuzzi R J (2004) Ovarian follicular expression of m RNA encoding the type IIGF receptor and IGF-binding protein-2 in sheep following five days of nutritional supplementation with glucose, glucosamine or lupins. *Reproduction*. 128:747-756.
148. Muñoz-Gutierrez M., Blache D., Martin G B., Scaramuzzi R J (2002) Folliculogenesis and ovarian expression of m RNA encoding aromatace in anoestrous sheep after 5 days of glucose or glucosamine infusion or supplementary lupin feeding. *Reproduction*. 124:721-731.
149. Nari A., Cardozo H (1987) Enfermedades causadas por los parasitos internos. Nematodos gastrointestinales. *Enfermedades de los Lanares*. Montevideo, Hemisferio Sur. p. 1-155.
150. Nephew K P., McClure K E., Pope W F (1989) Embryonic migration relative to maternal recognition of pregnancy in sheep. *Journal of Animal Science*. 67:999-1005.
151. Niswender G., Nett T (1994) Corpus luteum and its control in infraprimate species. En: Knobil E, Neill JD. *The physiology of Reproduction*. New York, Raven Press. p. 781-816.
152. Nottle M B., Haind P I., Seamark R F., Setchell B P (1988) Increases in ovulation rate in lupin-fed ewes are initiated by increases in protein digested post-ruminally. *Journal of Reproduction and Fertility*. 84:563-566.
153. NRC National Research Council (2007) Nutrient requirement of small ruminats sheep, goats, cervids and new world camelids. *Animal nutrition series*. 362p.
154. Olivera-Muzante J., Errandonea N., Fierro S., Viñoles C., Banchero G (2016) Short-term protein supplementation during a 15 days prostaglandin-based protocol for timed AI improves reproductive performance of ewes. *International Congress on Animal Reproduction (IRAC) Abstract book*. Tours, Francia. p. 509-510.
155. Olivera-Muzante (2015) ¿Es posible mejorar la supervivencia de corderos en nuestros sistemas ovinos? *Cangüé* 36: 15-17. Disponible en: <http://www.eemac.edu.uy/cangué/?view=project&id=8:n-36-2015>
Fecha de consulta: 22/11/16.
156. Olivera-Muzante J., Fierro S., Gil J., Bentancor E., Donadio D., Ferrari J., Gonzalez V., Vizcaino J M (2013) Resultados reproductivos de diferentes protocolos de IATF vía cervical en ovinos en base a prostaglandina o progestágenos y eCG. *Resúmenes XXIII Reunión de la Asociación*

Latinoamericana de Producción Animal. 18 al 22 de Noviembre. La Habana, Cuba. CD ROM.

157. Olivera-Muzante J., Fierro S., López V., Gil J (2011) Comparison of prostaglandin and progesterone based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*. 75:1232-1238.
158. Olivera J., Gil J., Fierro S., Alabart J L (2007) Pérdidas reproductivas entre el no retorno a servicio y la fertilidad a ecografía en ovinos bajo diferentes tecnologías de IA vía cervical. V Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. p. 62-63.
159. Olivera J., Gil J (2005) Estudio de diferentes alternativas para la sincronización de celos en ovinos: descripción y valorización económica. XXXIII Jornadas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p. 160-162.
160. Olivera J., Dighiero M., Oliveira G (2003) Sincronización de estros con un análogo de Prostaglandina F2a: viabilidad productiva y económica. XXXI Jornadas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p. 160-162.
161. Parr R A., Davis I F., Miles M A., Squires T J (1993) Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Research in Veterinary Science*. 55:311-316.
162. Parr R (1992) Nutrition - progesterone interactions during early pregnancy in sheep. *Reproduction Fertility and Development*. 4:297-300.
163. Parr R A., Davis I F., Fairclough R J., Miles M A (1987) Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 80:317–320.
164. Paar R., Cumming I A., Clarke I J (1982) Effects of maternal nutrition and plasma progesterone concentrations on survival and growth of the sheep embryo in early gestation. *Journal of Agricultural Science*. 98:39-46.
165. Peterson A J., Barnes D., Shanley R., Welch R A S (1984) Administering progesterone after mating improves pregnancy rate in sheep. *Proceedings of the Endocrine Society of New Zealand*. p. 13-21.
166. Peterson J E (1983) Embryotoxicity of phomopsin in rats. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. 61:105-115.
167. Ponzoni R (2014) Manejo ovino de precisión con especial referencia a desarrollos en Australia. XLII Jornadas Uruguayas de Buiatría, 5 al 7 de junio. Paysandú, Uruguay. p. 16-17.
168. Radostitis O M., Blood D C., Gay C C (1994) *Veterinary Medicine*. London, Baillière. 1763 p.

169. Rathore A K (1970) Fertility of rams heated for 1,2,3, and 4 days mated to superovulated ewes. *Australian Journal of Agricultural Research*. 21:355-358.
170. Rathore A K (1968) Effects of high temperature on sperm morphology and subsequent fertility in Merino sheep. *Animal Production*. 7:270-274.
171. Restall B J., Brown G H., Blockey M B., Cahill L., Kearins R (1976) Assessment of reproductive wastage en sheep. Fertilization failure and early embryonic survival. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 16:329-335.
172. Rhind S M (2004) Effects of maternal nutrition on fetal and neonatal reproductive development and function. *Animal Reproduction Science*. 82-83:169-182.
173. Roberts E M., Hafez E S (1969) Synchronization of estrus in cyclic merino ewes with vaginal sponges and pregnant mare serum. *American Journal of Veterinary Research*. 30:207-210.
174. Robertson S M., Clayton E H., Friend M A (2015a) Reproductive performance in ewes fed varying levels of cut lucerne pasture around conception. *Animal Reproduction Science*. 158:75-85.
175. Robertson S M., Clayton E H., Morgan B., Friend M A (2015b) Reproductive performance of ewes grazing lucerne during different periods around mating. *Animal Reproduction Science*. 162:62-72.
176. Robertson S M., King B J., Allworth MB., Rummery J., Friend M A (2014) The effect of peri-conceptual grazing of live pasture on fetal numbers in unsynchronised ewes. *Animal Production Science*. 54:1008–1015.
177. 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.
178. Rooke J., Ewen M., Mackie K., Staines M., McEvoy T., Sinclair K (2004) Effect of ammonium chloride on the growth and metabolism of bovine ovarian granulosa cells and the development of ovine oocytes matured in the presence of bovine granulosa cells previously exposed to ammonium chloride. *Animal Reproduction Science*. 84:53-71.
179. Rubianes E., Castro T., Carbajal B (1996) Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Journal of Animal Science*. 76:473-475.
180. Rubianes E., Castro T., Viñoles C., Ungerfeld R., Carabajal B., Kmaid S (1995) Superovulación y transferencia embrionaria en ovinos. Montevideo, Departamento de Fisiología Facultad de Veterinaria. 43p.

181. Russel A J F., Doney J M., Gunn R G (1969) Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*. 72:451-454.
182. Salamon S., Maxwell W M C., Firth J H (1979) Fertility of ram semen after storage at 5°C. *Animal Reproduction Science*. 2:373-385.
183. Scalon P F (1972) Frecuency of transuterine migration of embryos in ewes and cows. *Journal of Animal Science*. 34:791-794.
184. Scaramuzzi R J., Brown H M., Dupont J (2010) Nutritional and metabolic mechanisms in the ovary and their role in mediating the effect of diet on folliculogenesis: a perspective. *Reproduction in Domestic Animals*. 45:32-41.
185. Scaramuzzi R J., Campbell B K., Downing J A., Kendall N R., Khalid M., Muñoz-Gutierrez M., Somchit A (2006) A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition and Development*. 46:339-354.
186. 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. *Reproduction Fertility and Development*. 5:459-478.
187. Schiewe M C., Howard J G., Goodrowe K L., Stuart L D., Wildt D E (1990) Human Menopausal Gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo 56 recovery after prostaglandin F2a synchronization is compromised by premature luteal regression. *Theriogenology*. 34:469-486.
188. Schinckel P G (1948) Infertility in ewes grazing subterranean clover pastures. *Australian Veterinary Journal*. 24:289-294.
189. Seekallu S V., Tossi B M., Duggavathi R., Barrett D M W., Davies K L., Waldner C., Rawlings N C (2010) Ovarian antral follicular 40 dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology*. 73:670-680.
190. Senger P L (2005) Pathways to pregnancy and parturition. 2a ed. Washington. Current conceptions. 373 p.
191. Senger P L (1999) Esquema: endocrinología del ciclo estral. Disponible en: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/fisiologia-animal/Material%20de%20clase/bloque-2-cap-9-tema-3.-ciclos-reproductores-de-las-hembras-domesticas.pdf>.
Fecha de consulta: 09/09/16.
192. Sharma R K (2010) The effects of uterine environment upon embryonic, fetal neonatal and post-natal development and glucose metabolism in sheep. Tesis. Massey University. 236 p.

193. Sliwowska J H., Billings H J., Goodman R L., Lehman M N (2006) Immunocytochemical colocalization of GABA-B receptor subunits in gonadotropin -releasing hormone neurons of the sheep. *Neuroscience*. 141:311-319.
194. Smith A J., Stewarth R D (1990) Effects of nutrition on the ovulation rate of ewes. En: Oldham C M., Martin G B., Purvis I W. *Reproductive Physiology of Merino Sheep. Concepts and consequences*. Perth, University of Western Australia. p. 85-101.
195. Smith R L., Berndtson W E., Unal M B., Pickett B W (1978) Influence of Percent Egg Yolk during Cooling and Freezing on survival of bovine spermatozoa. *Journal of Dairy Science*. 62:1297-1303.
196. Smith I D (1966) Embryonic mortality in Merino ewes exposed to high ambient temperatures. *Australian Veterinary Journal*. 42:468-470.
197. Souza C J., Campbell B K., Baird D T (1997) Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology of Reproduction*. 56:483- 488.
198. Spencer T E., Johnson G A., Bazer F W., Burghardt R C (2004) Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*. 128:657-668.
199. Spires H R., Clark J H (1979) Effect of intraruminal urea administration on glucose metabolism in dairy steers. *Journal of Nutrition*. 109:1438–1447.
200. Stewarth R., Oldham C M (1986) Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 16:367-370.
201. SUL (2016) Boletín de Exportaciones del Rubro Ovino. Uruguay: Exportaciones del Rubro Ovino. Período: febrero 2015 a enero 2016. Disponible en: <http://www.sul.org.uy/descargas/lib/datos%20de%20producci%C3%B3n%202015.pdf> Fecha de consulta: 12/09/2016.
202. Teleni E., King W R., Rowe J B., McDowell G H (1989a) Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. *Australian Journal of Agricultural Research*. 40:913-924.
203. Teleni E., Rowe J B., Croker K P., Murray P J., King W R (1989b) Lupins and energy- yielding nutrients in ewes. II. Responses in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetate and amino acids. *Reproduction Fertility and Development*. 1:117-125.

204. Torres S., Reboursuna C., Rombautsuna P., André D., Bertinuna J., Terqui M (1983) Conditions of embryonic development in the ewe after modification of the hormone balance of the dam. *Animal Reproduction Science*. 6:25-33.
205. Ungerfeld R (2002) *Reproducción en Animales Domésticos*. Montevideo, Ed. Melivea. V.I.
206. Ungerfeld R., Rubianes E (1999) Effectiveness of short-term progestagen priming's for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science*. 68:349:353.
207. Uribe-Velásquez L F., Restrepo R., Osorio J H (2009) Respostas foliculares e endócrinas em ovelhas após sincronização do estro usando progesterona, prostaglandinas (PGF2 α) e gonadotropinas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 3:14-27.
208. Van Warmelo KT., Marasas WFO., Adelaar TF., Kellerman TD., van Rensberg IJB., Minne JA (1970) Experimental evidence that lupinosis of sheep is a mycotoxicosis induced by the fungus *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak. *Journal of South African Veterinary Medical Association*. 41:235–247.
209. Vilariño M., Menchaca A (2007) Inseminación artificial en pequeños rumiantes. *Fisiología y manejo reproductivo en pequeños rumiantes*. Instituto de Reproducción Animal de Uruguay, Curso de posgrado. *Reproducción en Rumiantes*. Montevideo. Uruguay. p. 41-51.
210. Vinales C., Glover K M M., Paganoni B L., Milton J T B., Martin G B (2012) Embryo losses in sheep during short-term nutritional supplementation. *Reproduction Fertility and Development*. 24:1040–1047.
211. Viñoles C., Paganoni B., Glover K M M., Milton J T B., Blache D., Blackberry M A., Martin G B (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.
212. Viñoles C., Meikle A., Martin G B (2009) Short-term nutritional treatment grazing legumes or feeding concentrates increased prolificacy in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*. 113:82-92.
213. Viñoles C., Forsberg M., Martin G B., Cajarville C., Repetto J., Meikle A (2005) Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction*. 129:299-309.
214. Viñoles C., Meikle A., Repetto J., Cajarville C., Martin G.B., Forberg M (2003) Siete días de suplementación con concentrados permite aumentar la tasa ovulatoria en ovejas Corriedale. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. p. 144-146.

215. Viñoles C., Forsberg M., Banchero G., Rubianes E (2002) Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Animal Science*. 74: 539-545.
216. Viñoles C., Forsberg M., Banchero G., Rubianes E (2001) Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*. 55:993-1004.
217. Viñoles C., Meikle A., Forsberg M., Rubianes E (1999) The effect of sub luteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*. 51:1351-1361.
218. Vishwanath R., Shannon P (1997) Do sperm cells age? A review of the physiological changes in sperm during storage at ambient temperature. *Reproduction Fertility*. 9:321-331.
219. Watson P F., Martin I C (1976) Artificial insemination of sheep: the effect of semen diluent containing egg yolk on the fertility of ram semen. *Theriogenology*. 6:559-564.
220. Watson P F., Martin I C (1973) The response of ram spermatozoa to preparation of egg yolk in semen diluents during storage at 5 or -196°C. *Australian Journal of Biological Science*. 26:927-935.
221. White L M., Keisler D H., Dailey R A., Inskeep E K (1987) Characterization of ovine follicles destined to form subfunctional corpora lutea. *Journal of Animal Science*. 65:1595-1601.
222. White D H., Rizzoli D J., Cumming I A (1981) Embryo survival in relation to number and site of ovulations in the ewe. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 21:32-38.
223. Waites G H H., Ortavant R (1968) Effets précoces d'une élévation de la température testiculaire sur la spermatogenèse de bélier. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*. 84:493-504.
224. Wilkins J., Croker K (1990) Embryonic wastage in ewes. En: Oldham, C.M.; Martin, G.B.; Purvis, I.W. *Reproductive Physiology of Merino Sheep. Concepts and consequences*. Perth, The University of Western Australia. p. 169-177.
225. Wilkins J F (1989) Contribution of Embryo Loss to Reproductive Performance in Merino Ewes. Tesis. The University of Western Australia. 226 p.