

## CAPÍTULO 2

# Sincronización de celos e inducción de la ovulación

*María Verano Gómez y Andrés Telésforo Soto*

### Generalidades

La intervención en la fisiología reproductiva, tanto en ovinos y caprinos, se puede llevar a cabo tanto con métodos biológicos, físicos o farmacológicos o bien combinaciones de los mismos. Si bien, los procesos de intervención sobre la fisiología reproductiva de las hembras de pequeños rumiantes se pueden llevar a cabo por cualquiera de esos métodos, no todos tienen el mismo efecto, la misma efectividad y practicidad de uso, siendo el control hormonal de la reproducción el método más utilizado (Tabla 2.1). A través de la administración de hormonas se puede controlar o modificar diferentes aspectos de la fisiología de las hembras de los pequeños rumiantes. Hormonalmente, podemos *intervenir sobre la época reproductiva*, tratando de obtener un adelantamiento de la estación reproductiva y por ende que la misma tenga una mayor duración en el tiempo, e *intervenir sobre la duración del ciclo estral*, acortándolo o prolongándolo, con el objetivo de concentrar los celos (sincronización). Además, los avances en los estudios de la fisiología reproductiva en estas especies han permitido *la intervención sobre la emergencia de la onda folicular y la inducción de la ovulación* lo cual permitió el establecimiento del proceso de inseminación a tiempo fijo (IATF).

El principal objetivo de la sincronización de celos es lograr que las hembras, mayoritariamente, tengan un celo fértil durante un período que sea lo más acotado posible en el tiempo. Acorde al grado de concentración de los celos en el tiempo que se produzca a partir de la implementación de un determinado protocolo de sincronización, éste permitirá la implementación o no de procesos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Un protocolo de sincronización de celos para IATF no sólo debe sincronizar el mayor porcentaje de celos en un tiempo acotado, sino que también debe sincronizar la emergencia de la onda folicular y el momento de ovulación. Caso contrario, cuando la sincronización provocada por un determinado protocolo tiende a la dispersión de celos, se deberá recurrir a la detección de celos para la implementación de los procesos de inseminación artificial (IACD).

**Tabla 2.1**

*Métodos de intervención sobre la época reproductiva y el ciclo estral*

MÉTODOS			Ejemplo
BIOLÓGICOS o NATURALES			Efecto macho Efecto hembra
ARTIFICIALES	Físicos	a) Modifican la época reproductiva	Modificación del fotoperíodo: Luz
	Farmacológico (hormonal)	a) Modifican la época reproductiva	Melatonina
		b) Modifican el ciclo estral	Prostaglandina F2 $\alpha$ , Progesterona, progestágenos

## Métodos biológicos o naturales de intervención sobre la fisiología reproductiva de la hembra

### Generalidades

Diversos estudios iniciales realizados en ratones han descrito los efectos biológicos de la interacción socio-sexual entre machos y hembras. A partir de ello, fueron estudiados en especies animales domésticas y silvestres. Entre los principales efectos definiremos:

- *Efecto Lee-Boot*: los ciclos estrales de las hembras ante la ausencia de un macho se tornan irregulares, disminuyen su duración, hasta que finalmente entran en anestro
- *Efecto Whitten*: las hembras en una situación de anestro frente a la introducción de un macho o sus olores comienzan a ciclar y sus ciclos estrales tienden a sincronizarse. Este efecto ha sido el más estudiado en pequeños rumiantes y recibe el nombre de “efecto macho”.
- *Efecto Bruce*: las hembras con gestaciones precoces, al introducirse un macho diferente de aquel que la haya copulado tienden a la pérdida de la gestación.
- *Efecto Vandenberg*: se produce un adelantamiento en la edad a la pubertad de la hembra frente a la presencia de un macho.

A continuación, describiremos los principales efectos biológicos de las interacciones socio-sexuales entre machos y hembras en las especies caprina y ovina.

## Efecto macho

El efecto macho, también denominado bioestimulación, es definido como el efecto estimulador de un macho presente sobre la actividad sexual de la hembra que es expuesta al mismo. Es un fenómeno socio-sexual en el cual la introducción de un macho sexualmente activo estimula a hembras en anestro fisiológico a ciclar. Es una técnica utilizada para reestablecer y sincronizar la ciclicidad e inducir ovulaciones en las hembras. En la práctica es utilizado principalmente durante la transición de la contraestación reproductiva a la época reproductiva, momento en el cual las hembras de una majada o de un hato caprino se pueden encontrar en anestro o ciclando, tanto con ciclos cortos o regulares, en diversas proporciones. De esta manera se logra adelantar y ampliar la temporada reproductiva entre 30 y 45 días. También, se ha observado su efecto en hembras pre-púberes induciendo una aparición más temprana de la ciclicidad (pubertad). En hembras posparto el efecto es mayormente variable dependiendo de factores tales como la condición corporal, balance energético y la presencia o ausencia del cordero al pie. En hembras ovinas ciclando, al momento de inducir el efecto macho, se observó una mayor tasa de ovulación en comparación con majadas sin efecto macho en el primer ciclo estral.

Para lograr el efecto no sólo podemos utilizar machos enteros, sino que también podemos recurrir a la utilización de machos retajos vasectomizados e inclusive capones androgenizados. En cualquiera de los casos, el porcentaje de machos a utilizar debe ser del 3-6%. Si se utilizan machos enteros, los mismos deben tener el apto reproductivo, particularmente de buena libido, ya que durante la época no reproductiva presentan una disminución en la misma y en la síntesis de testosterona. Para que se produzca el efecto macho, los machos deben estar aislados de las hembras durante un período de tiempo y a una distancia tal que las hembras no puedan detectar a los machos por ninguna de las vías sensoriales. El tiempo de separación entre sexos debe ser de al menos de 3 – 4 semanas y la distancia es variable, teniendo en cuenta que generalmente se necesita un mayor distanciamiento en caprinos que en ovinos. Se aconseja que la distancia entre ambos grupos sexuales no sea menor a los 40 – 50 metros pudiendo llegar a los 500 metros. Durante este período se recomienda que las hembras no tengan contacto con elementos que puedan estar impregnadas con las feromonas de los machos (ropa, lana, instalaciones, etc). Luego de este aislamiento, los machos son introducidos abruptamente en el grupo de hembras, provocando cambios neuroendócrinos en ellas e induciendo la ovulación, la cual puede o no estar acompañada de celo.

El efecto macho se produce por la estimulación endócrina en las hembras a través de las diversas vías sensoriales. Sin embargo, diferentes estudios indicarían que el olfato es el principal sensorio interviniente, pero tanto el táctil y en menor medida la visión, la audición, y las señales comportamentales serían indispensables. Es difícil discernir la implicancia y prevalencia que puede tener cada uno de los sentidos aunque diversos trabajos de investigación, en los cuales a las hembras se les inducía una anosmia artificial suprimiendo el epitelio olfatorio y el neuroepitelio del órgano vomeronasal y luego eran expuestas a un macho,

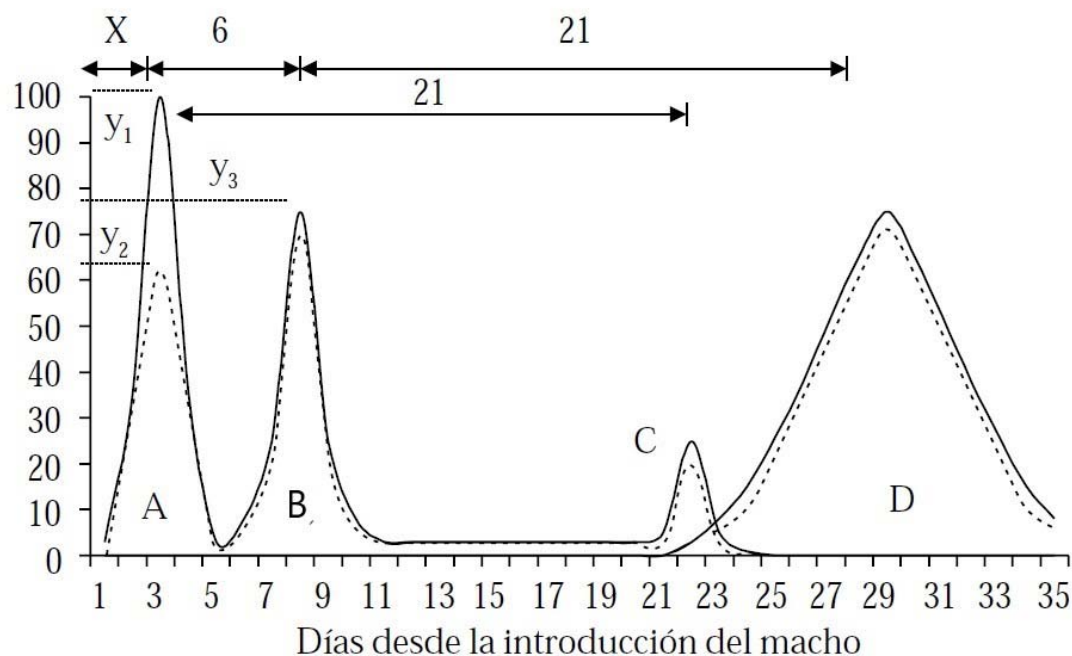
dan cuenta que el olfato sería la principal vía para provocar el efecto ya que se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de ovulaciones y celos inducidos comparativamente con los grupos testigo. Las señales olfatorias transmitidas por los machos son dependientes de andrógenos, y corresponden a sustancias químicas volátiles denominadas feromonas, presentes en secreciones sebáceas y sudoríparas. Estas sustancias son captadas por el órgano vomeronasal y el epitelio olfatorio, y este mensaje hormonal es transformado en un mensaje neuroquímico que a través de los nervios olfatorios e interacciones neuronales concluyen en la estimulación del sistema neuronal GnRH hipotalámico. El incremento en la síntesis y liberación de GnRH provoca un rápido incremento en la síntesis y liberación pulsátil de LH, finalizando en el pico preovulatorio de LH y la ovulación aproximadamente a las 30 horas de la introducción del macho. Mayoritariamente, esta ovulación no va acompañada de celo en las hembras ovinas, dependiendo del porcentual de hembras anéstricas o que hayan ciclado previamente. Sin embargo, en las cabras alrededor del 70% de las hembras presentan celo junto con la ovulación. En ambas especies, la ovulación se continúa con la faz luteal la cual puede presentar una duración normal hasta la luteólisis (día 13-14 en la oveja y día 16-17 en la cabra) o una duración más corta (generalmente menor a 10 días) con un cuerpo lúteo que produce valores hormonales subluteales. Luego de la luteólisis, ocurre una nueva ovulación seguida, por lo general, de una faz luteal normal. Esta segunda ovulación generalmente está acompañada de celo (Figura 2.1).

En caprinos, al introducirse los machos a un hato, se produce la ovulación en más del 90% de las hembras en los primeros cinco días con un pico a los tres días, y esta primera respuesta ovulatoria mayoritariamente es acompañada de conducta estral en aproximadamente el 60% de los casos. Luego, una gran proporción de las cabras experimenta un ciclo corto y presentarán una segunda ovulación entre los 7 y 11 días de introducidos los machos, siendo el pico ovulatorio a los 9 días de la introducción de los machos. Estas hembras, a posteriori, generan un ciclo normal cuyo pico ovulatorio y de celo se produce a los 30 días de la introducción de los machos. Alrededor del 20 al 30% de las hembras generan un ciclo normal luego de la primera ovulación por lo cual se genera la segunda ovulación entre el día 21 y 25, con un pico aproximado al día 24 de la introducción de los machos (Figura 2.1). Tanto los celos que se producen durante el primer y el segundo pico, entre los días 1 y 11 aproximadamente, no debieran utilizarse para ser inseminados.

La resultante del efecto macho, expresada en el porcentual de hembras que tuvieron ovulación o expresaron celo, es variable. La situación de anestro de una hembra en particular o de la majada no sólo es dependiente de la especie y época reproductiva. Factores tales como la presencia del cordero al pie de la madre, la lactancia, el balance energético negativo y la baja condición corporal tienen un rol negativo en cuanto a la posibilidad de que las hembras puedan salir del anestro estacional. También, situaciones particulares individuales, tales como patologías ováricas o del útero, determinan un impedimento para la inducción de la ciclicidad. Además de la especie, debemos considerar la raza entre los factores que influyen sobre la respuesta al efecto macho. En razas ovina como Merino e Ideal se considera que el 50-90% de

las hembras responden al efecto. Sin embargo, en razas como Corriedale, Border Leicester o Suffolk la respuesta suele ser menor al 30%.

**Figura 2.1**



*Nota.* Representación esquemática de la respuesta ovulatoria (----) y estral (- - -) posterior a la introducción del macho en cabras anéstricas. A partir de la introducción de los machos, en los primeros cinco días se produce la ovulación en más del 90% ( $y_1$ ) de las hembras (A), con un pico a los tres días (x), y esta primera respuesta ovulatoria es acompañada de conducta estral en aproximadamente el 60% de los casos ( $y_2$ ). Luego, la mayoría de las cabras ( $y_3$ ) experimenta un ciclo corto y presentarán una segunda ovulación entre los 7 y 11 días, siendo el pico ovulatorio a los 9 días (B). Estas hembras, a posteriori, generan un ciclo normal cuyo pico ovulatorio y de celo se produce a los 30 días de la introducción de los machos (pico D). Alrededor del 20 al 30% de las hembras generan un ciclo normal luego de la primera ovulación por lo cual generan la segunda ovulación entre el día 21 y 25, con un pico aproximado al día 24 (pico C) de la introducción de los machos. (Adaptado de Chemineau, P 1983).

### Efecto hembra

Se citó que el efecto macho es un fenómeno socio-sexual. Sin embargo, cuando pensamos en una población reproductiva se plantea al menos tres interacciones entre los individuos: macho-hembra, hembra-macho y hembra-hembra.

Como fue descrito, la introducción repentina de los machos en una majada o en un hato caprino provocaba un efecto sincronizador de los celos en las hembras. Sin embargo, también las hembras en celo inducen cambios hormonales y de la conducta en los machos durante la

contraestación reproductiva. La presencia de hembras en celo promueve en los machos un incremento en el olfateo de la región urogenital, aproximaciones, montas, presencia de secreciones derivadas de las glándulas anexas y eyaculaciones. Se observó que la libido de un macho mejoraba cuando era introducido junto a hembras en celo 24-48h previas a ser introducido en el grupo de hembras en anestro. También, se ha constatado que la presencia de hembras en celo causa un inmediato incremento en la frecuencia de pulsos de LH y en la concentración plasmática de testosterona (Figura 2.2).

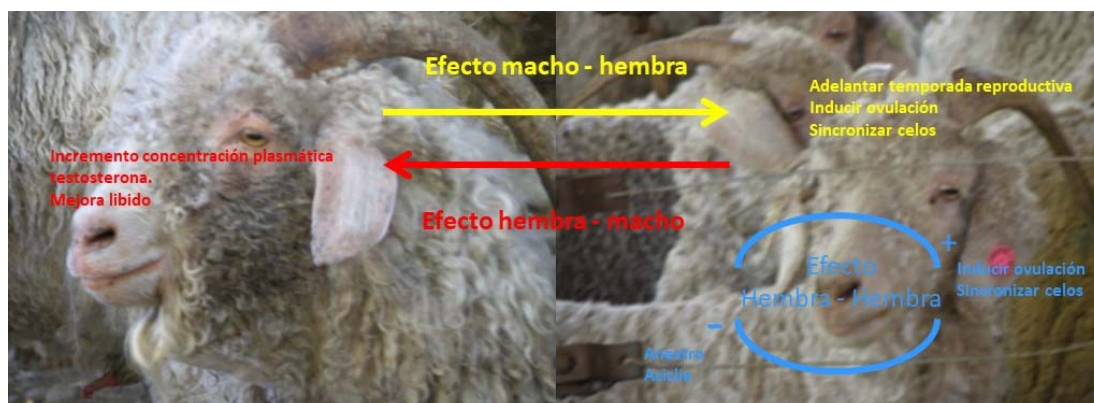
La interacción hembra-hembra produce principalmente dos efectos como respuesta. En primer término, la presencia continua de hembras cíclicas o la introducción de hembras en estro por inducción hormonal sobre hembras en anestro estacional es capaz de inducir la ovulación y la sincronización de las mismas. Sin embargo, cuando una población de hembras se encuentra mayoritariamente en anestro estacional y en ausencia de machos tiende a que se inhiba la ciclicidad de las hembras que se encontraban cíclicas y que la población de hembras culmine en un estado de aciclia (Figura 2.2).

Otro punto que favorece la respuesta tanto del efecto macho como del efecto hembra es la introducción de machos o hembras nuevos a la majada.

A modo de conclusión, las interacciones sociales entre machos y hembras provocan efectos reproductivos que tienden en adelantar la temporada reproductiva, sincronizar los celos y las ovulaciones de las hembras, y mejorar la libido de los machos, acorde a como se manejen estas interacciones y de las posibles variables presentes (Figura 2.2).

**Figura 2.2**

*Representación esquemática de las interacciones macho-hembra y sus principales efectos*



Nota. (Soto, A.T y Gómez, M.V. 2021)

## **Métodos artificiales de intervención sobre la fisiología reproductiva de la hembra**

### **Generalidades**

Los métodos artificiales son de índole físico, como el manejo de la luz con el objetivo de iniciar la época reproductiva anticipadamente, o de índole farmacológico, mediante la utilización de hormonas. El método farmacológico es el más utilizado en la práctica para iniciar anticipadamente la época reproductiva, inducir ovulaciones y sincronizar los celos mediante la aplicación de una hormona principal, asociada en ocasiones a otra hormona, en un momento y tiempo determinado. La duración de la colocación o los tiempos en que se aplica la hormona son la base para la conformación de protocolos de sincronización. Las principales hormonas que se emplean para intervenir sobre la fisiología reproductiva de los pequeños rumiantes son la melatonina, la cual permite modificar el inicio de época reproductiva, la progesterona y sus derivados sintéticos ( $P_4$ ) y la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (PGF) las cuales son capaces de modificar el ciclo estral.

### **Uso de hormonas para modificar la estación reproductiva**

#### **Melatonina**

La melatonina exógena es utilizada en el control de la actividad reproductiva en forma de implantes auriculares en los pequeños rumiantes dada la necesidad de garantizar una liberación continua. El tipo de liberación hormonal causada por el implante hace que la hormona proporcione una información fotoperiódica que es interpretada como de días cortos por parte de los ovinos y caprinos. Los implantes de melatonina pueden ser utilizados tanto en hembras como en machos en la contraestación reproductiva.

Se ha observado que el empleo de implantes de melatonina en el carnero y macho cabrío tiene efecto sobre la calidad seminal, la síntesis y secreción de testosterona y LH, en el tamaño testicular e incrementar la libido. El tratamiento con melatonina en los machos incrementa la frecuencia de montas y servicios.

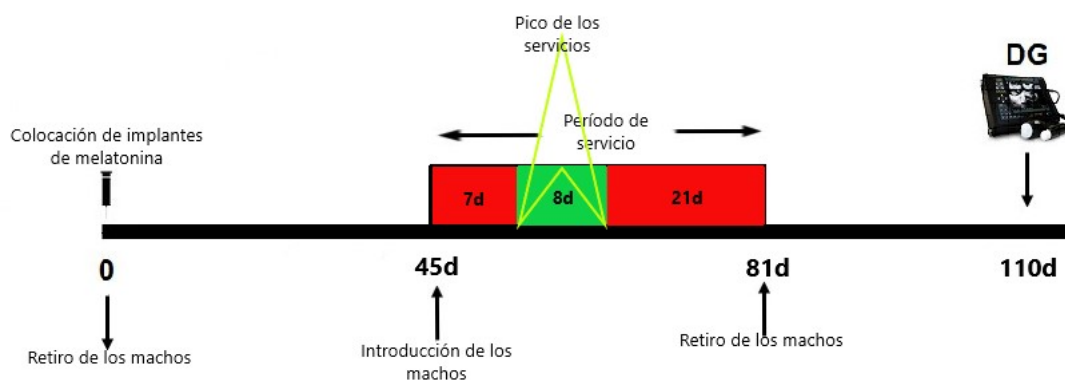
El uso de implantes auriculares de melatonina en las hembras ovinas y caprinas induce la ciclicidad en hembras anéstricas y los protocolos pueden ser utilizados solos o bien combinados con efecto macho. También, pueden ser combinados con otros tratamientos de acción fotoperiódica (luz artificial) u hormonales de sincronización de celos con el fin de lograr este último efecto de sincronización. Se ha observado, que generalmente los mejores

resultados en el porcentaje de gestación y de prolificidad se obtienen cuando ambos sexos han recibido el tratamiento con melatonina.

Los implantes de melatonina (18mg) son colocados en forma subcutánea en la cara externa de la base del pabellón auricular de los animales. Los machos, en caso de ser tratados, se les colocará 3 implantes. De realizarse el protocolo con efecto macho, independientemente que se realice o no el tratamiento con melatonina de los machos, las hembras deben separarse de los machos por al menos 30 días, aunque se recomienda una separación de 45 días. Inicialmente una vez colocado los implantes auriculares a las hembras (0d) las mismas estarán separadas de los machos por 45 días, momento en el cual se introducirán los machos. Durante este período de 45 días, las hembras comenzarán a ciclar en un tiempo variable, dependiendo de diversos factores (especie, raza, balance energético, condición corporal, fecha de inicio del tratamiento con melatonina, empleo de otros tratamientos de inducción, entre otros). No hay un proceso de sincronización en la inducción de la ciclicidad particularmente cuando se emplea solo implantes de melatonina. Generalmente, la mayoría de las hembras del hato caprino o de la majada se encontrarán ciclando dentro de los 40 días. A partir de la introducción de los machos (45d) se producirá un pico de servicios entre los días 7 y 15, entre los 52 y 60 días desde el momento del implante auricular. Los servicios se llevarán a cabo por un tiempo de 35 días.

**Figura 2.3**

*Protocolo de utilización de implantes de melatonina exógena en caprinos asociado con efecto macho*



*Nota.* (Adaptado de Gatica, M.C. 2012)

### Uso de hormonas para modificar el ciclo estral

Los ciclos estrales pueden ser modificados en su duración. Los mismos pueden acortarse o prolongarse de acuerdo a la hormona utilizada dado sus correspondientes mecanismos de acción. La progesterona y sus derivados sintéticos, los progestágenos, tienen la capacidad de prolongar el ciclo estral y la PGF de acortarlo. Si bien los corticoides (dexametasona) pueden



prolongar el ciclo estral en los rumiantes al inhibir la síntesis de prostaglandinas, no son utilizados en los procesos de sincronización de celos, pero debemos tenerlo en cuenta dado su frecuente empleo en los tratamientos clínicos de la práctica veterinaria, por lo cual podría interferir con el tratamiento de sincronización.

### **Prostaglandina F2 $\alpha$**

La prostaglandina F2 $\alpha$  es un ácido graso insaturado derivado del ácido araquidónico. Actúa sobre el cuerpo lúteo provocando la lisis del mismo (luteólisis) lo que conlleva al acortamiento en la duración del ciclo estral. Actualmente se utilizan análogos sintéticos, tales como el cloprostenol sódico y el delprostenate; de aquí en adelante utilizaremos PGF para nombrar tanto a la prostaglandina natural como a sus análogos sintéticos. La vía de administración más generalizada es la intramuscular aunque puede utilizarse otras vías como intravulvo-submucosa. La dosis para lograr la luteólisis es variable dependiendo principalmente del tipo de análogo que se utilice y la vía de administración.

Teniendo en cuenta que el mecanismo de acción de la PGF es la luteólisis, su efecto sólo es esperable en hembras cíclicas; es necesaria la existencia de un cuerpo lúteo para que pueda ejercer su acción. Esta limitante fisiológica conlleva a que *la utilización de la PGF sea posible sólo durante la época reproductiva y que las hembras se hallen ciclando*. Sin embargo, tiene la ventaja de su fácil administración y costo accesible aunque debe tenerse la precaución de mantener el producto en lugares frescos y protegidos de la luz.

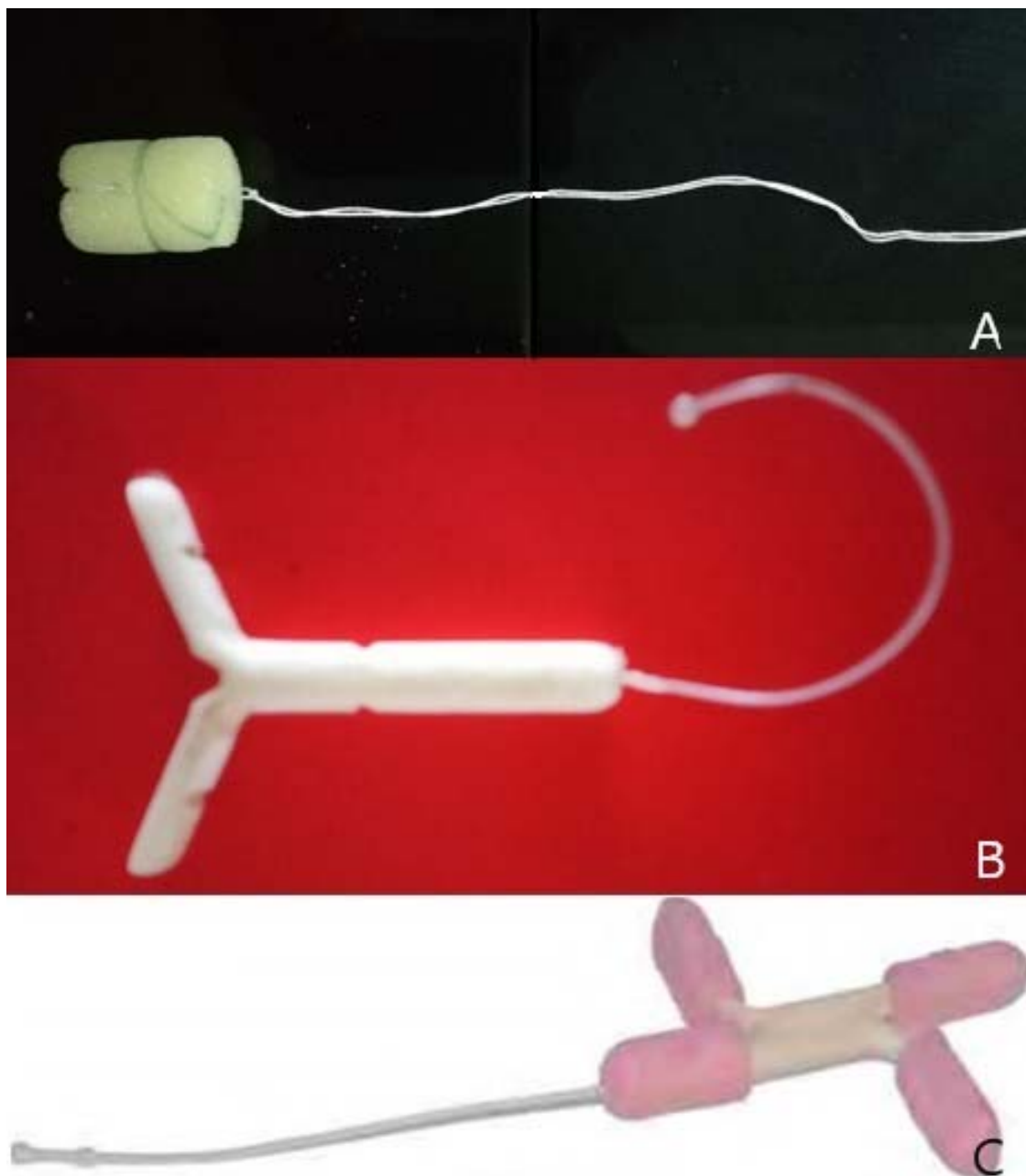
### **Progesterona y progestágenos**

La progesterona (P<sub>4</sub>) exógena y los progestágenos actúan sobre el eje hipotálamo-hipofisiario inhibiendo la liberación de GnRH, FSH y LH simulando la acción de un cuerpo lúteo. Al momento de interrumpir su administración provocan la liberación de FSH y LH. Por su diferente mecanismo de acción que la PGF, la P<sub>4</sub> y los progestágenos tienen la ventaja de poder utilizarse tanto en hembras cíclicas como en anestro por lo cual pueden ser usadas tanto en la estación reproductiva como en la contraestación. La vía de administración más frecuente es la vía vaginal mediante el empleo de dispositivos intravaginales de liberación, aunque se pueden administrar por vía oral, intramuscular o subcutánea. Estas últimas vías de administración presentan como desventaja la necesidad de un mayor número de encierres.

Los dispositivos intravaginales de liberación pueden ser esponjas intravaginales (Imagen 1 A) o dispositivos intravaginales siliconados (Imagen 2.1 B y C). Las esponjas intravaginales generalmente contienen acetato de medroxiprogesterona (MAP, 60mg) o acetato de fluorogestona (FGA, 40/45mg). Los dispositivos intravaginales siliconados están impregnados con P<sub>4</sub> natural (300mg). Los dispositivos intravaginales de liberación deben ser conservados en ambientes frescos, secos y oscuros.

### Imagen 2.1

*Dispositivos intravaginales utilizados en la sincronización de celos en ovinos y caprinos*



*Nota.* A) Esponjas con acetato de medroxiprogesterona (MAP, 60mg); B) CIDR impregnado con P<sub>4</sub> natural (300mg); C) CRONIPRES impregnados con P<sub>4</sub> natural (160mg) (Soto, A.T. y Gómez, M. V. 2020)

Los protocolos de sincronización de celos de acuerdo al tiempo en el cual las esponjas o los dispositivos siliconados se mantienen colocados en la hembra se pueden clasificar en cortos o largos. Los protocolos cortos tienen una duración en el tiempo de 5 a 7 días y se fundamenta en la duración de una onda folicular. Los protocolos largos tienen mayoritariamente una duración de 12 (contraestación reproductiva) a 14 días (estación reproductiva) y se basan en la duración de la faz lútea del ciclo estral.

## Protocolos de sincronización de celos

Existe una diversidad de protocolos de sincronización de celos los cuales pueden variar de acuerdo a su duración, en la combinación de métodos naturales y artificiales, en la hormona principal y las combinaciones hormonales que se utilizan y acorde a la época en que van a ser utilizados. Cada uno de los posibles protocolos presenta ventajas y desventajas en el uso lo cual se deberá tener en cuenta para un correcto empleo y optimizar los resultados. De manera similar, tener el conocimiento de la existencia de diferentes protocolos de sincronización de celos permite una mayor eficiencia al momento de organizar un proceso de sincronización de celos escalonados.

### Protocolos basados en el uso de prostaglandina F<sub>2α</sub>

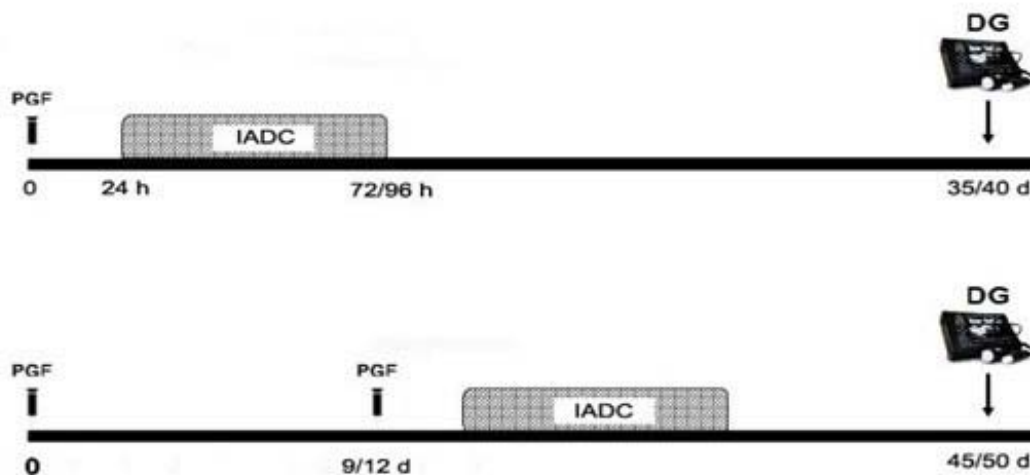
Los protocolos basados en PGF más sencillos implican la utilización de una dosis única o dos dosis separadas a un intervalo 9-14 días dependiendo de la especie animal. La utilización de una dosis única sincroniza el celo al 60-75% de las hembras y una doble aplicación una cifra mayor al 85% durante los cuatro días siguientes a la última aplicación, concentrándose los celos entre las 24 y 72 h (Figura 2.4). Debido a la dispersión de los celos, estos protocolos debieran ser utilizados preferentemente para procesos de inseminación a celo detectado (IADC) e inclusive algunos autores prefieren no utilizar el celo sincronizado sino el posterior. Sin embargo, hay ensayos satisfactorios con la utilización de una doble aplicación de 125µg cloprostenol e inseminación a tiempo fijo (IATF) a las 53-56 de la última aplicación con semen fresco.

Existe la evidencia de que el cuerpo lúteo en los ovinos sería refractario a la acción del análogo delprostenate sólo en los primeros 2 días post-ovulación. En base a dichas observaciones se propuso un protocolo de sincronización de celo y ovulación denominado Synchrovine® el que consiste en la aplicación de 2 dosis de PGF con un intervalo de 7d. El protocolo Synchrovine® produce una alta sincronización de celos (94%) durante las primeras 72 h luego de la segunda aplicación de delprostenate (160 µg/dosis), concentrándose los celos entre las primeras 25-48 h (78%). El porcentaje de preñez con este protocolo varió entre el 30-65%, dependiendo de la vía y el momento de IA. Sin embargo, el porcentaje de preñez fue del 37% mediante el empleo de IATF a las 42 h por vía cervical con semen fresco. Modificaciones en el protocolo original tales como la disminución de la dosis, la separación en 8 d entre aplicaciones o la aplicación de GnRH, no arrojaron mejoras en los valores de fertilidad.

En síntesis, en las majadas donde la condición corporal es baja o hay un alto número de ovejas en anestro, la eficiencia global de los protocolos en base a la aplicación de PGF se reduce sustancialmente, por lo cual su uso está limitado a majadas con un alto porcentaje de ovejas ciclando durante la época reproductiva. La utilización de IATF en estos protocolos aún

no está estandarizada debido a que los resultados han sido variables dependiendo del número de días que separan las aplicaciones, de la vía y momento de IA.

**Figura 2.4**



*Nota.* Representación esquemática de protocolos de sincronización de celos con una o dos aplicaciones de PGF. DG: diagnóstico de gestación (Soto, A.T. y Gómez, M.V.)

### Protocolos basados en el uso de progesterona o progestágenos

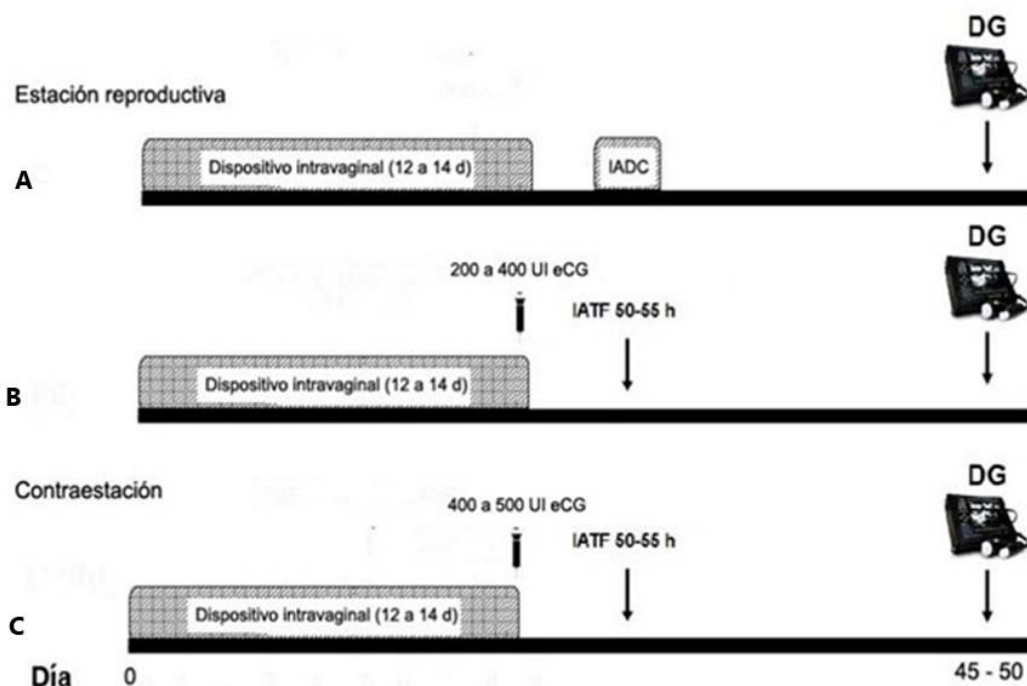
La P<sub>4</sub> o sus derivados sintéticos podían ser administrados por diferentes vías. Sin embargo, nos limitaremos a desarrollar protocolos mediante el uso de dispositivos dado que son los de mayor practicidad y frecuencia de uso. Los protocolos de P<sub>4</sub> o sus derivados sintéticos tienen la ventaja de que pueden ser utilizados en cualquier época del año para sincronizar celos. Como se mencionó anteriormente, el tiempo de colocación de la esponja o el DIV determina el tipo de protocolo de sincronización, largo o corto.

### Protocolos de sincronización largos

Los primeros protocolos de sincronización de celos mediante el uso de esponjas o DIV impregnadas con P<sub>4</sub> o sus derivados sintéticos se basaron en la duración de la fase lútea, por lo que los DIV o esponjas permanecían colocados por un lapso de 12-14d (figura 2.5). Inicialmente fueron utilizados solos, sin la aplicación de otra hormona, durante la estación reproductiva dando como resultado una sincronización de celos y ovulaciones dispersas, por lo cual se realizaba detección celos para llevar a cabo el proceso de IA (Figura 2.5A). Posteriormente, este protocolo fue combinado con la aplicación IM de gonadotrofina coriónica equina (eCG) a las 24/48h previas o al momento del retiro del DIV permitiendo una mayor concentración de celos y ovulaciones, y el empleo de IATF (Figura 2.5B y C).

**Figura 2.5**

*Representación esquemática de protocolos de sincronización de celos largos mediante la utilización de dispositivos intravaginales*



*Nota.* A) En estación reproductiva sin la aplicación de eCG. B) En estación reproductiva con la aplicación de eCG. C) En contraestación reproductiva. (Soto, A.T. y Gómez, M.V.)

Estos protocolos largos se caracterizan por causar concentraciones superiores a 2ng/ml de P<sub>4</sub> durante los primeros 6 días, mientras que en los últimos 6 o 4 días del protocolo ocurre un descenso a concentraciones séricas subluteales (~1ng/ml). Esto difiere de lo que ocurre fisiológicamente, ya que durante la fase luteal las concentraciones de P<sub>4</sub> séricas aumentan lentamente y al momento de la luteólisis disminuyen abruptamente (Figuras 2.6 y 2.7). Las concentraciones séricas subluteales de P<sub>4</sub>, a partir del día 6 de colocado el DIV, provocan un recambio folicular más lento y promueven un excesivo desarrollo y persistencia del folículo mayor lo cual conlleva a que el folículo dominante presente mayor vida media y tamaño, y que la ovulación ocurra a partir de ovocitos envejecidos predisponiendo a una menor fertilidad respecto a las ovulaciones no inducidas artificialmente.

**Protocolos de sincronización cortos**

A partir de la confirmación de la presencia de ondas foliculares durante el ciclo estral de los ovinos y caprinos, se realizaron experiencias de sincronización de celos basándose en el tiempo transcurrido entre la emergencia de una y otra onda folicular. Estos protocolos de sincronización de celo se caracterizan por presentar un período de exposición a la P<sub>4</sub> exógena

o progestágenos de 5 a 7 días, evitando concentraciones séricas subluteales de P4 por períodos de tiempo prolongados. Las concentraciones séricas supraluteales de P4 disminuyen la tasa de crecimiento y el tamaño del folículo dominante y favorecen el recambio folicular, asegurando la presencia de un folículo “joven” al momento de la ovulación.

**Figura 2.6**

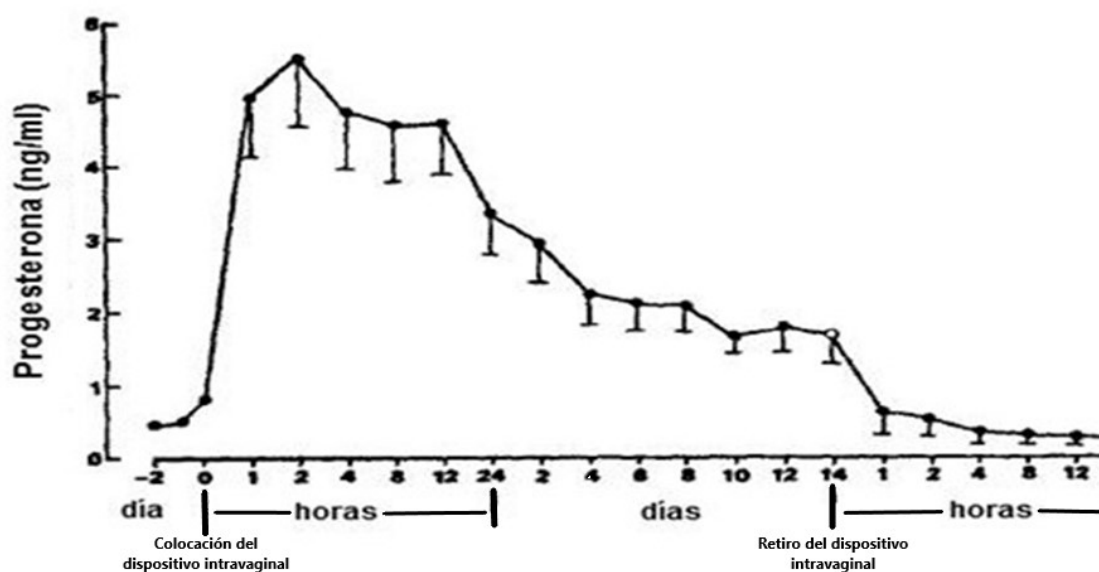
*Concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> en ovejas durante el ciclo estral*



Nota. (Adaptado de Hauger, 1977)

**Figura 2.7**

*Concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> en ovejas con DIV durante 14d Día 0: inserción DIV Día 14: retiro DIV*

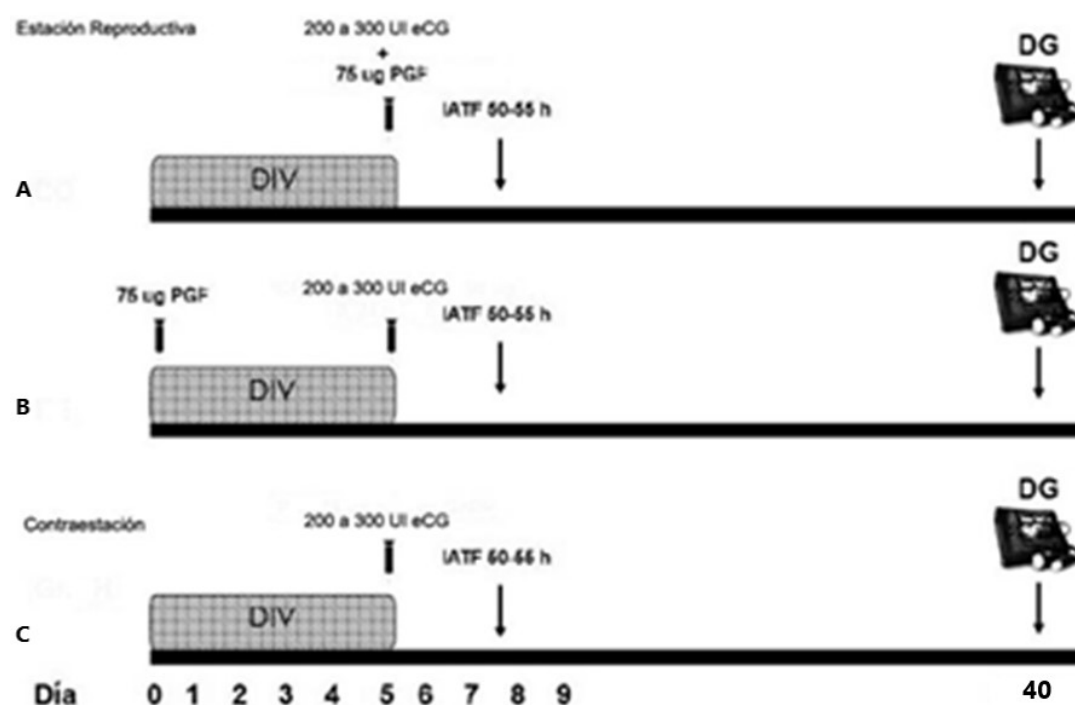


Nota. (Adaptado de Ainsworth y col., 1986).

La aplicación de la PGF en los protocolos cortos durante la estación reproductiva resulta indispensable ya que la duración del tratamiento, el tiempo en que está inserto el DIV en el animal, es menor a la fase lútea, por lo cual sin la aplicación de PGF persistiría el cuerpo lúteo en un porcentaje alto de las hembras luego de retirado el dispositivo (Figura 2.8 A y B). La implementación de protocolos cortos sin la aplicación de PGF durante la época reproductiva induce dispersión de celos (36-144hs) ya que la regresión luteal se produce en diferentes momentos. Sin embargo, durante la contraestación reproductiva, no existe la necesidad de aplicar la PGF ya que la mayoría de las hembras se encontrarían en anestro (Figura 2.8C).

**Figura 2.8**

*Representación esquemática de protocolos de sincronización de celos cortos mediante la utilización de dispositivos intravaginales*



*Nota.* A) En estación reproductiva con la aplicación de PGF al momento del retiro del DIV. B) En estación reproductiva con la aplicación de PGF al inicio del tratamiento. C) En contraestación reproductiva (Soto, A.T. y Gómez, M.V.)

Por lo explicitado con anterioridad, además de la aplicación de una dosis de eCG al momento del retiro del DIV, se deberá aplicar una dosis de PGF en el momento de la colocación o del retiro del DIV (Figura 9A y B). En ovinos, la aplicación de PGF 24h previas o al momento del retiro del dispositivo produce un elevado porcentaje de ovejas en celo (~83%), con un porcentaje de preñez al primer servicio de ~67%. En cabras, la aplicación de una dosis de PGF al inicio de un tratamiento corto de sincronización de celos indujo la regresión del CL

en el 91,3% de los animales con un porcentaje de preñez del 49,3% y del 63,7% luego de una IATF a las 48 y a las 54 h, respectivamente.

### **Reutilización de DIV**

Los DIV comerciales (CIDR-G®, DICO®) poseen una concentración de 300mg de P<sub>4</sub> y fueron desarrollados para ser utilizados durante 12-14d en los protocolos de sincronización de celos, por lo que su utilización durante 5-7d posibilita su posterior re-uso. Con el fin de maximizar la relación costo/beneficio en los protocolos de sincronización de celos, se realizaron varios ensayos relacionados a la reutilización de los mencionados DIV en los cuales se concluyó que la reutilización sería una buena alternativa a implementar en los protocolos cortos de sincronización de celos en ovinos. En estos estudios, el porcentaje de ovejas detectadas en celo y el porcentaje de ovejas que ovularon fue del 80% y 100% (1er uso), 90% y 100% (2do uso), y 70% y 100% (3er uso, respectivamente). Además, el porcentaje de preñez fue de 75-80% y 44-67% para el 1er y 2do uso del DIV; pero cuando se los utilizó por 3ra vez, el porcentaje de preñez fue altamente variable. Asimismo, las concentraciones séricas de P<sub>4</sub> se mantuvieron por arriba de 2 ng/ml para el primer y segundo uso del DIV; pero las concentraciones séricas fueron inferiores a 2 ng/ml para el tercer uso.

Debe tenerse en cuenta que luego del retiro del DIV, deben higienizarse los mismos con solución sanitizante, secados y guardados en recipientes o bolsas que los protejan de la humedad y la luz.

### **Empleo y dosificación de eCG**

En rumiantes, la eCG tiene la capacidad de unirse a receptores de FSH y de LH, con una acción principal similar a la FSH y secundariamente a la LH. En pequeños rumiantes, los protocolos de sincronización de celos basados en el uso de P<sub>4</sub> o progestágenos se complementan con una aplicación IM de eCG, independientemente de la duración del tratamiento (largo o corto) y de la época (reproductiva o contraestación).

La aplicación de eCG se puede realizar 48h o 24h previas, o al momento del retiro del DIV o esponja. Para evitar un encierre más y en pro del bienestar animal, la aplicación de eCG se realiza al momento del retiro del DIV o esponja.

El uso reiterado de eCG en cabras y ovejas tiene el inconveniente de provocar una respuesta humoral inmune anti-eCG disminuyendo su eficacia a partir de un retraso en la presentación de celo y del pico preovulatorio de LH, una menor tasa de fecundación y gestación que conllevan a un descenso de la fertilidad.

El principal factor a tener en cuenta para dosificar es la época del ciclo reproductivo en la cual se va a sincronizar. En términos generales, durante la época reproductiva se administran entre 250 a 400 UI y en la contraestación 400 a 500 UI.

Otros factores a tener en cuenta son:



- ✓ Tratamientos previos con eCG: la presencia de anticuerpos anti-eCG conlleva a un aumento de la dosis.
- ✓ Categoría de la hembra (borrega/oveja): en la categoría borrega suele utilizarse la dosis mínima recomendada, en parte porque existe una alta probabilidad de que no haya sido expuesta a la eCG.
- ✓ Raza o cruce (tasa ovulatoria): en razas con alta tasa de ovulación deben aplicarse dosis menores que en razas menos prolíficas ya que se corre el riesgo de provocar superovulaciones.
- ✓ Estado fisiológico (seca/lactante): las hembras durante la lactancia se encuentran con un balance energético negativo y si además se encuentran con el cordero al pie determinan que la fertilidad sea menor. Además, en un sistema tradicional de cría ovina o caprina se encontrarían en contraestación reproductiva.
- ✓ Condición corporal: las hembras deberán tener preferentemente una condición corporal de 3 y no menor a 2,5 para el proceso de sincronización de celos e inseminación artificial. Cuando esta condición no se cumple se puede incrementar la dosis eCG para mejorar la respuesta del proceso de sincronización.

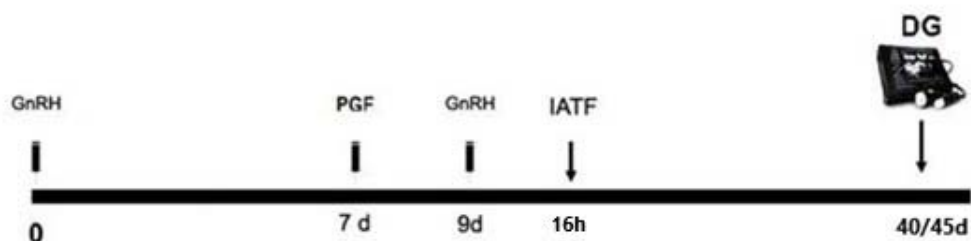
### **Protocolos asociados al empleo de GnRH o estrógenos**

Con el fin de sincronizar el inicio de la onda folicular o inducir la ovulación en un momento determinado, tanto en protocolos basados en el uso de PGF o P<sub>4</sub>, se han ensayado protocolos que involucran la administración de GnRH o estrógenos (E<sub>2</sub>).

El Ovsynch, es un protocolo que combina PGF con GnRH y ha sido implementado en cabras. El protocolo Ovsynch consiste en la aplicación de una dosis inicial de GnRH (0d) con el objetivo de generar una nueva onda folicular. A los 7 días de iniciado el protocolo se aplica una dosis de PGF con la finalidad de provocar la luteólisis. Finalmente, se aplica una segunda dosis de GnRH a las 48h (9d), para inducir la ovulación y la IA se realiza a las 16h de la segunda aplicación de GnRH (Figura 2.9). Sin embargo, se observó una regresión prematura del cuerpo luteo en el 30% de las hembras frente al 17% que presentaron las hembras sincronizadas con esponjas+eCG.

### **Figura 2.9**

*Representación esquemática de un protocolo de sincronización de celos en base a la aplicación de PGF y GnRH (Ovsynch)*

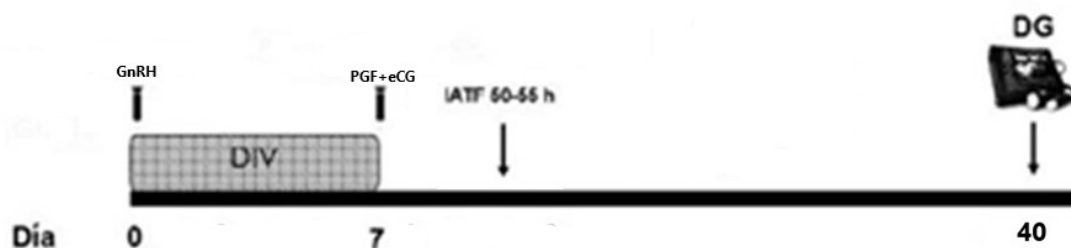


*Nota.* DG: diagnóstico de gestación (Soto, A.T. y Gómez, M.V)

Otra alternativa planteada al Ovsynch es la aplicación de GnRH (0d) y PGF al día 5 en forma conjunta con eCG en el cual se produce la ovulación a las 53h promedio e inseminándose a las 52h promedio de la aplicación de eCG. Esta última hormona puede sustituirse por GnRH, pero su aplicación se realiza al día 6 de iniciado el tratamiento. También, se planteó un protocolo similar al Ovsynch el cual varía en el día de aplicación de PGF el cual se realiza al día 6 del tratamiento. Uno de los protocolos experimentales más sencillos planteados mediante el uso de PGF y GnRH consiste en la aplicación de PGF (0d -5mg dinoprost-) y GnRH (2d -buserelina 0.004mg-) e inseminando entre las 16-18h luego de la aplicación de GnRH. Este protocolo induce la ovulación en el 85% de las hembras. Sin embargo, en contra partida, el 40% de las hembras generó un ciclo corto.

También, se han ensayado protocolos basados en el uso de P<sub>4</sub>, que involucran la administración de GnRH. Dentro de esta alternativa se ensayó con en la aplicación de GnRH (d0) al momento de la colocación del dispositivo intravaginal, el cual permanece por el término de 7 días, y al momento de su retiro se aplica una dosis de PGF y eCG (d7). Este protocolo ha sido empleado tanto en estación reproductiva como en contraestación, con el cual se logró entre el 78 y 89% de ovulación y ~60% de preñez (Figura 2.10), Una variante ensayada se realizó sin la aplicación final de eCG al momento del retiro del dispositivo intravaginal en el cual la mayoría de las ovulaciones se produjeron entre las 67 y 79h desde el retiro del dispositivo intravaginal.

**Figura 2.10**

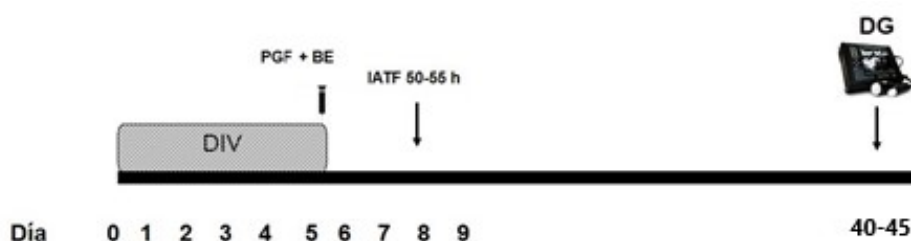


*Nota.* Representación esquemática de un protocolo de sincronización de celos mediante el uso de dispositivos intravaginales impregnados de P<sub>4</sub> y una dosis de GnRH inicial para sincronizar las ondas foliculares. DG: diagnóstico de gestación (Soto, A.T. y Gómez, M.V)

Otras variantes ensayadas fueron la colocación de un dispositivo intravaginal impregnado con P<sub>4</sub> durante el término de 6 días y 24h previas al retiro del dispositivo intravaginal se aplicó una dosis de eCG y PGF, y finalmente una dosis de GnRH a las 24/36h pos retiro del dispositivo; por otra parte se ensayó con la colocación de un dispositivo intravaginal impregnado con P<sub>4</sub> durante un período de 5 días y la aplicación de una dosis de PGF al inicio del tratamiento (d0) y una dosis de GnRH a las 30h pos retiro del dispositivo.

Una alternativa al empleo de GnRH para inducir el momento de ovulación ha sido el empleo de benzoato de estradiol. En el protocolo ensayado durante la época reproductiva se utilizó un dispositivo intravaginal impregnado con P<sub>4</sub> durante el término de 5 días y al momento de su retiro se aplicó una dosis de PGF y benzoato de estradiol (100µg) realizándose la IATF a las 50-55h de retirado el dispositivo. El 80% de las hembras ovularon entre las 12 y 54h de retirado el dispositivo y el 67% de los mismos ocurrieron entre las 30 y las 42h inclusive. El porcentaje de gestación por inseminación cervical fue del 42% con semen fresco (Figura 2.11).

**Figura 2.11**



*Nota.* Representación esquemática de un protocolo de sincronización de celos en base a la aplicación de P<sub>4</sub> y benzoato de estradiol DG: diagnóstico de gestación (Gómez, M.V y Soto, A.T. 2020).

### Consideraciones en la colocación y retiro de los DIV o esponjas

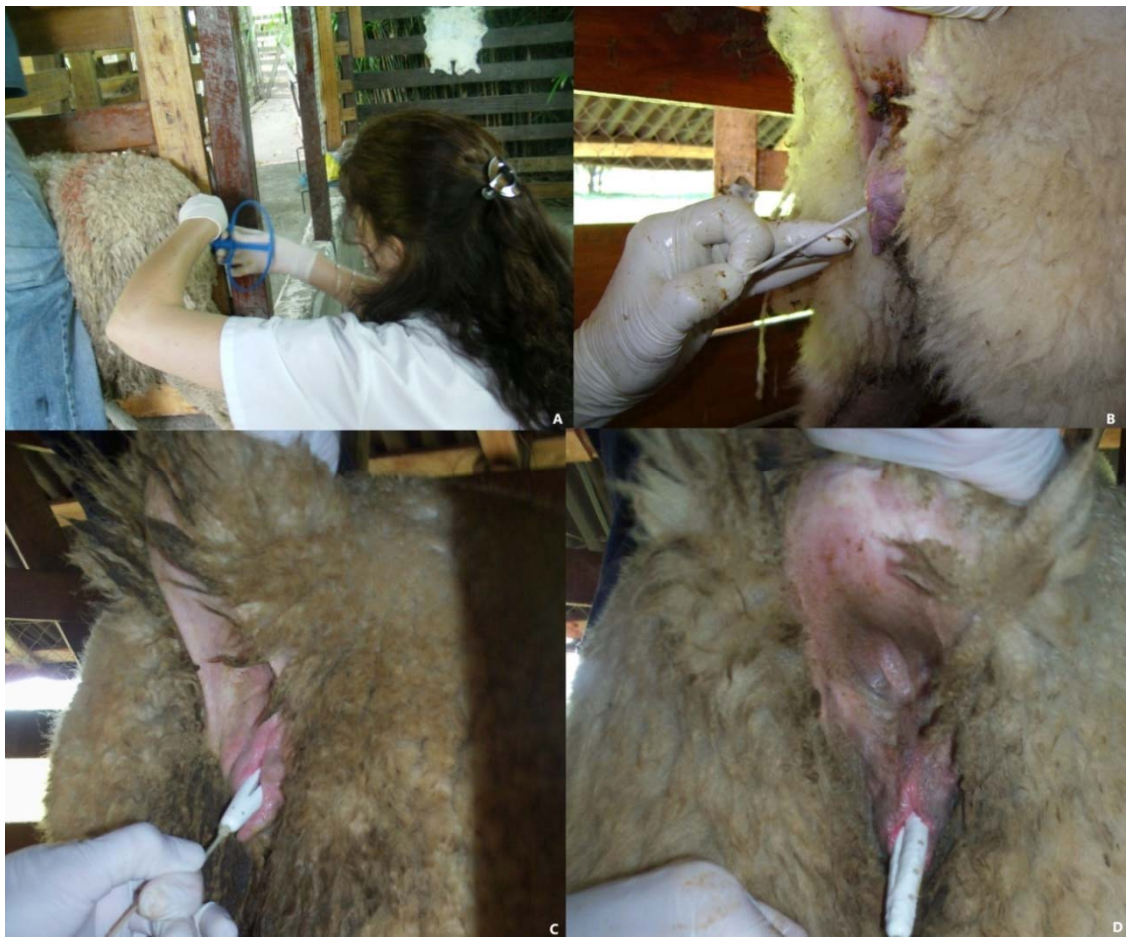
La colocación de DIV siliconados o esponjas presenta pautas básicas de higiene y de técnica necesarias para evitar lesiones, infecciones y resultados negativos luego de la sincronización. A continuación, se mencionan los puntos claves para una colocación y retiro de los dispositivos intravaginales

- ✓ Uso de guantes descartables.
- ✓ Los aplicadores deben estar limpios y desinfectados. La limpieza y desinfección del aplicador debe realizarse entre animal y animal, y posteriormente secado con papel absorbente descartable o similar.
- ✓ El DIV o esponja se coloca dentro el aplicador, el cual es introducido primero hacia dorsal para evitar el piso de la pelvis y luego hacia craneal lo más profundamente posible. Se coloca la esponja empujando con una varilla y el DIV presionando el

émbolo del aplicador. En el caso de la esponja, se retira la varilla y el tubo aplicador de manera simultánea o bien primeramente la varilla, previo a haber desplazado levemente hacia caudal el aplicador. En el caso del DIV se retira el aplicador con en el émbolo presionado (Imagen 2.2).

- ✓ En las borregas y cabrillas preferentemente realizar aplicación manual.
- ✓ No es necesario desinfectar los dispositivos. Algunos autores recomiendan la aplicación de antibiótico sobre las esponjas para evitar vaginitis y adherencias.
- ✓ En caso de utilizar esponjas, el hilo debe pasar sobre la esponja para que la misma gire al ser retirada (Figura 2.12). Si los hilos son excesivamente largos, deberán cortarse (que no sobresalgan más de 5 cm) para evitar pérdidas. Las pérdidas deberán ser inferiores al 3-5%.
- ✓ Una vez colocado el DIV o esponja se deberá traccionar levemente para confirmar la correcta colocación (Imagen 2.2).
- ✓ Las esponjas deberán retirarse con una fuerza constante.
- ✓ Es factible que al momento de retirar las esponjas o DIV, particularmente cuando se implementó un protocolo largo, se presente un flujo abundante y oloroso. Esto se debe al acúmulo de moco, proliferación bacteriana y falta de higiene al momento de la aplicación lo que provocan una vaginitis que puede o no interferir significativamente con la fertilidad.
- ✓ Si piensa reutilizar los DIV, los mismos deberán ser guardados limpios, secos y al resguardo de la luz.
- ✓ La mayoría de las hormonas son sensibles a las altas temperaturas. Durante el trabajo deben mantenerse en un lugar fresco y a resguardo de los rayos solares. No dejarlas en el baúl del vehículo.

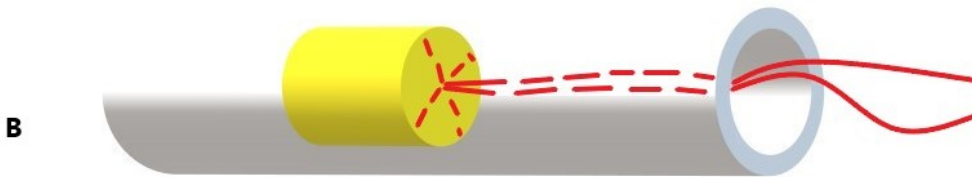
**Imagen 2.2**



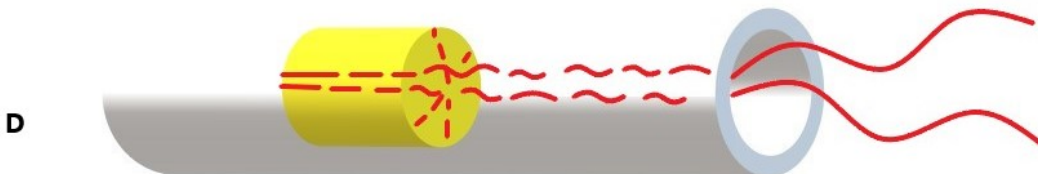
*Nota.* A) Colocación de un dispositivo intravaginal siliconado. B, C y D) Momentos del retiro del dispositivo intravaginal en unam oveja (Gómez, M.V. 2020)

Figura 2.12

**INCORRECTO**



**CORRECTO**



Nota. A y B) Disposición incorrecta de los hilos de la esponja al momento de su colocación. C y D) Disposición correcta. Los hilos de la esponja pasan sobre la misma lo cual permitirá su rotación al momento de la extracción.

## Bibliografía

- Abecia JA, Forcada F, González-Bulens A. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Vet Clin Food Anim.* 2011; 27: 67-69.
- Abecia, J.A.; Palacín I. y Roche, A. Efecto de los implantes de melatonina y la presencia de compañeros sobre los rendimientos de los moruecos durante la monta. ITEA (2015), Vol. 111 (1), 50-55
- Acritpopulou S, Haresign W. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 alpha given at different stages of the oestrous cycle. *J Reprod Fert.* 1980; 58 (1): 219-221.
- Arellano-Lezama, T., et al. "Efecto macho' en el manejo reproductivo de la oveja." *AGROProductividad*, vol. 6, no. 6,. 2013, pp. 3.
- Ainsworth L, Downey BR. A controlled internal drug-release dispenser containing progesterone for control of the estrous cycle of ewes. *Theriogenology.* 1986; 26(6):847-56
- Ali, A; Hayder, M; Saifelnaser EOH Ultrasonographic and Endocrine Evaluation of Three Regimes for Oestrus and Ovulation Synchronization for Sheep in the Subtropics *Reprod Domest Anim* 2009 44(6):873-8. doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01102.x
- Barrett DM, Bartlewski PM, Duggavathi R, Davies KL, Huchkowsky SL, Epp T, et al. Synchronization of follicular wave emergence in the seasonally anestrous ewe: the effects of estradiol with or without medroxyprogesterone acetate. *Theriogenology.* 2008; 69(7):827-36.
- Bartlewski P, Duggavathi R, Aravindakshan J, Barrett D, Cook S, Rawlings N. Effects of a 6-Day Treatment with medroxyprogesterone acetate after prostaglandin F2alpha induced luteolysis at midcycle on antral follicular development and ovulation rate in nonprolific western white-faced ewes. *Biology of Reproduction.* 2003; 68: 1403–1412.
- Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL. Reproductive cycles in sheep. *Anim Reprod Sci.* 2011; 124: 259-268.
- Bodin L, Drion PV, Remy B, Brice G, Cognié Y, Beckers JF. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronization. *Reprod Nutr Dev.* 1997; 37: 651-660.
- Chemineau P, Baril G, Leboeuf B, Maurel MC, Roy F, Pellicer-Rubio M, Malpoux B, Cognie Y. Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. *J Reprod Fert Sup.* 1999; 54: 129-142.
- Carlson KM, Pohl HA, Marcek JM, Muser RK, Wheaton JE. Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispensers for synchronization of estrus in sheep. *Animal Reproduction Science.* 1989; 18(1):205-18
- Casao A, Cebrián I, Asumpcão ME, Pérez-Pé R, Abecia JA, Forcada F, Cebrián-Pérez JA, MuñíoBlanco T (2010). Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8: 59-67.

- Cavalcanti AS, Brandão FZ, Nogueira LAG, Fonseca JF. Effects of GnRH administration on ovulation and fertility in ewes subjected to estrous synchronization. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2012; 41(6):1412-8.
- Cueto M y Gibbons A. Inseminación artificial cervical en ovejas sincronizadas con prostaglandinas. *Presencia*. 2011; 58: 15-19.
- Chemineau P. Effect on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year. *J Reprod Fert* 1983; 67:65-72
- Chemineau P, Baril G, Leboeuf B, Maurel MC, Roy F, Pellicer-Rubio M, et al. Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. *Journal of reproduction and fertility Supplement*. 1999; 54:129-42.
- Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F., Delgadillo, J.A., 1992 Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Ruminant Research*, 8: 299-312.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A., Guérin, Y., Ravault, J. P., Thimonier, J., Pelletier, J., 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*, 30: 157-184.
- Chenoweth PJ. 1983. Reproductive management procedures in control of breeding. *Anim Prod Aust* 15: 28.
- Delgadillo, J.A., Carrillo, E., Morán, J., Duarte, G., Chemineau, P., Malpoux, B. 2001. Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *Journal of Animal Science*, 79: 2245-2252
- Dixon AB, Knights M, Pate JL, Lewis PE, Inskeep EK. Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of prostaglandin F2 alpha. *Reprod Domest Anim*. 2006; 41: 142-148.
- Drion PV, Furtoss V, Baril G, Manfredi E, Bouvier F, Pougard JL, Bernelas D, Caugnon P, McNamara EM, Remy B, Sulon J, Beckers JF, Bodin L, Lebceuf B. Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reprod Nutr Dev*. 2001; 41: 401-412.
- Fierro S, Olivera-Muzante J, Gil J, Viñoles C. Effects of prostaglandin administration on follicular dynamics, conception, prolificacy and fecundity in sheep. *Theriogenology*. 2011; 76: 630-639.
- Flynn J, Duffy P, Boland M, Evans A. Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. *Animal reproduction science*. 2000; 62(4):285-96.
- Gatica, M.C.; Celi, I.; Guzmán, J.L.; Zarazaga, L.A. Utilización de fotoperiodo e implantes de melatonina para el control de la reproducción en caprinos Mediterráneos. *Rev. electrón. vet. REDVET 2012 Volumen 13 N° 10* - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101012.html>
- Gómez MV. Evaluación de protocolos de sincronización de celos con progesterona y benzoato de estradiol para inseminación artificial a tiempo fijo en ovinos. 2020 Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional de La Plata



- Gómez MV, Jones M, Ambrosi C, Faisal F, Silvestrini P, Soto A. Aplicación de un esquema corto de sincronización de celos e inseminación artificial a tiempo fijo en ovejas Romey Marsh en época reproductiva. XI Jornadas Técnico-Científicas, 2010, p 141-142, Casilda, Argentina.
- Hamra AH, McNally JW, Marcek JM, Carlson KM, Wheaton JE. Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrus ewes. *Animal Reproduction Science*. 1989; 18(1):219-26.
- Inskeep E, Stevens L, Rudy C. Fertility in Ewes Receiving Low Doses of Estradiol during Synchronized Estrus. *Journal of animal science*. 1979; 48(1):52-3.
- Karaca F, Ataman MB, Coyan K. Synchronization of estrus with short and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. *Small Ruminant Research*. 2009; 81: 185-188.
- Karsch FJ, Bowen JM, Caraty A, Evans NP, Moenter SM. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biology of reproduction*. 1997; 56 (2):303-9.
- Knight T.W, Widland, M, Litherland A.J. 1998. Effect of prior ram-ewe contact on the ability of rams to stimulate early oestrus. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 58:178-180.
- Langford GA, Marcus GJ, Hackett AJ, Ainsworth L, Wolynetz MS. Influence of estradiol-17 beta on fertility in confined sheep inseminated with frozen semen. *J Anim Sci*. 1980; 51(4):911-6.
- Luther JS, Grazul-Bilska AT, Kirsch JD, Weigl RM, Kraft KC, Navanukraw C, et al. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. *Small Ruminant Research*. 2007; 72(2-3):227-31.
- Maina D, Katz LS (1997). Exposure to a recently mated male increases ram sexual performance. *Applied Animal Behaviour Science* 5: 69-74.
- Martemucci G, D'Alessandro AG. Estrus and fertility responses of dairy ewes synchronized with combined short term GnRH, PGF2 $\alpha$  and estradiol benzoate treatments. *Small Ruminant Research*. 2010; 93: 41-47.
- Martemucci G, D'Alessandro AG. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2 $\alpha$ , GnRH, eCG treatments for natural service o AI fixed-time. *Anim Reprod Sci*. 2011; 123: 32-39.
- Martinez, M F; McLeod, B; Tattersfield, G; Smaill, B; Quirke, L D; Juengel; J L Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy in adult ewes and ewe lambs out of the breeding season using a GnRH+progesterone oestrus synchronisation protocol. *Anim Reprod Sci*. 2015; 155:28-35. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2015.01.010.
- Maurel MC, Roy F, Hervé V, Bertin J, Vaiman D, Cribeu E, Manfredi E, Bouvier F, Lantier I, Boue P, Guillou F. Immune response to equine Chorionic Gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes. *Gynecol Obstet Fertil*. 2003; 31: 766-769.
- Menchaca A y Rubianes E. New Treatments associated timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fertil Dev*. 2004; 16: 403-413.

- Menchaca A, Crispo M, Vilariño M, Rubianes E. Avances en la aplicación de biotecnologías reproductivas en ovinos y caprinos. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, 2007, p 165-182 Córdoba, Argentina.
- Menchaca A, Miller V, Gil J, Pinczak A, Laca M, Rubianes E. Prostaglandin F2 $\alpha$  treatment associated with timed artificial insemination in ewes. *Reprod Domestic Anim.* 2004; 39 (5): 352-355. (Abstract)
- Menchaca A, Miller V, Salveraglio V, Rubianes E. Endocrine, luteal and follicular responses alter the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. *Anim Reprod Sci.* 2007; 102: 76-87.
- Menchaca A. Tratamientos cortos con progestinas para inseminación artificial a tiempo fijo en caprinos Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de la República; Uruguay. 2006.
- Morello HH, Chemieau P. Capítulo 2: Características anatómicas y funcionales del sistema reproductor de la hembra. In: Aisen E, editor. *Reproducción Ovina y Caprina.* 1 ed. Buenos Aires; Argentina: Editorial Intermédica; 2004. p. 13-6.
- Oliveira MAL, Guido SI, Lima PF. Comparison of different protocols used to induce and synchronize estrus cycle of Saanen goats. *Small Rum Res.* 2001; 40: 149-153.
- Olivera-Muzante J, Gil J, Fierro S, Menchaca A, Rubianes E. Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology.* 2011; 76: 1501-1507.
- Preston BT, Stevenson IR, Lincoln GA, Monfort, SL, Pilkington JG, Wilson K (2012). Testes size, testosterone production and reproductive behaviour in a natural mammalian mating system. *Journal of Animal Ecology* 81: 296-305.
- Quintero Elisea JA, Macías Cruz U, Alvarez Valenzuela FD, Correa Calderón A, González Reyna A, Lucero Magaña FA, et al. The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. *Tropical Animal Health and Production.* 2011; 43(8):1567-73.
- Quispe TQ, Quintero LZ, Hernández AO, Méndez JV. Sincronización de estros en ovejas mediante un tratamiento corto con acetato de melengestrol (MGA) combinado con cipionato de estradiol (ECP). *Veterinaria México.* 1995; 26(1):23-9.
- Rekik, M; Ben Othmane, H; Lassoued, N. ; Sakly C Efficiency of oestrous synchronization by GnRH, prostaglandins and socio-sexual cues in the North African Maure goats *Reprod Domestic Anim* 2014 ;49(3):499-504. DOI:10.1111/rda.12319
- Rathbone M.J., Macmillan K.L., Jöchle W., Boland M.P., Inskoop E.K. Controlled-Release Products for the Control of the Estrus Cycle in Cattle, Sheep, Goats, Deer, Pigs and Horses. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems.* 1998, 15(4): 285-380
- Reyna J, Thomson PC, Evans G, Maxwell WM. Synchrony of ovulation and follicular dynamics in merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. *Reprod Domestic Anim.* 2007; 42 (4): 410-417.

- Robinson, TJ; Quinlivan, TD; Baxter, C. The relationship between dose of progestagen and method of preparation of intravaginal sponges on their effectiveness for the control of ovulation in the ewe. *J Reprod Fert.* 1968; 17: 471-483.
- Rosa HJD, Bryant MJ (2003). Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research* 48: 155-171
- Rubianes E, Beard A, Dierschke DJ, Bartlewski P, Adams GP, Rawlings NC. Endocrine and ultrasound evaluation of response to PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH at different stages of luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology.* 1997; 48: 1093-1104.
- Rubianes E, de Castro T, Carbajal B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Can J Anim Sci.* 1996; 76: 473-475.
- Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ . *Anim Reprod Sci.* 2003; 78: 47-55.
- Reyna J, Thomson PC, Evans G, Maxwell WMC. Synchrony of Ovulation and Follicular Dynamics in Merino Ewes Treated with GnRH in the breeding and Non-breeding seasons. *Reproduction in domestic animals.* 2007; 42(4):410-7.
- Soto A, Gómez MV, Pastorelli V. Sincronización de celos con un esquema corto e inseminación a tiempo fijo (IATF) utilizando dos momentos diferentes de aplicación de PGF<sub>2</sub> alfa en ovejas Pampinta durante la estación reproductiva. IX Congreso Latinoamericano de Especialistas en pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos.; 2015; Argentina: ALEPRYCS.
- Spitzer JC, Carpenter RH. Estrus and pregnancy rates following synchronization with chronolone intravaginal sponge or norgestomet ear implant in cycling ewes. *Theriogenology.* 1981; 16(3):287-94.
- Souza-Fabjan JMG, da Rosa RM, Balaro MFA, Pinto PHN, dos Santos GB, Arashiro EKN, et al. Effect of different hormonal combinations on follicular wave emergence and superovulatory response in sheep. *Theriogenology.* 2017; 103:24-9.
- Swelum A, Saadeldin I, Moumen A, Ali MA, Ba-Awadh H, Alowaimer A. Efficacy of using previously used controlled internal drug release (CIDR) insert on the reproductive performance, hormone profiles and economic measures of sheep. *Reproduction in Domestic Animals.* 2018; 53(5):1114-22.
- Ungerfeld R. The induction of oestrus in ewes during the non-breeding season using pre-used CIDRs and oestradiol-17 $\beta$  treatment. *Small Ruminant Research.* 2009; 84(1):129-31
- Ungerfeld R, Rubianes E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research.* 2002;46(1):63-6.
- Ungerfeld R, Rubianes E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science.* 1999; 68(03):349-53

- Uribe-Velásquez LF, Gutiérrez Toro C, Carreño Ortiz EE, Izquierdo Jiménez JH, Lenz Souza MA, Botero SA. Reutilización del dispositivo de progesterona (CIDR) asociado con protocolos de corta duración en cabras. *vetzootec*. 2011; 5(1):39-46.
- Valenzuela Jiménez N, Hernández Cerón J, Murcia Mejía C, Rodríguez Maltos R, Gutiérrez CG. Efecto del benzoato de estradiol en la presentación del pico preovulatorio de LH, momento de ovulación y fertilidad en cabras sincronizadas con acetato de melengestrol. *Agrociencia*. 2004; 38 (6):603-11.
- Vilariño M, Pinczak A, Menchaca A, editors. Tasa de preñez y fecundidad obtenida con un tratamiento corto vs un tratamiento largo asociado a IATF por laparoscopia en ovejas en anestro. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal; 2007a; Córdoba, Argentina.
- Vilariño M, Menchaca A, dos Santos E, Rubianes E, editors. Respuesta estral obtenida con el uso de PGF2alfa asociado a los tratamientos cortos con progesterona en ovejas ciclando. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal; 2007b; Córdoba, Argentina
- Vilarino M, Rubianes E, Menchaca A. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*. 2013; 79(1):206-10.
- Vilariño M, Rubianes E, Menchaca A. Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the Short-term Protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology*. 2011; 75(7):1195-200
- Vilariño M, Rubianes E, van Lier E, Menchaca A. Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO®) in sheep. *Small Ruminant Research*. 2010; 91(2–3):219-24.
- Viñoles C. Avances en la sincronización de celo y ovulación en las ovejas. *Spermova*. 2011; 1(1):95-7
- Viñoles C, Forsberg M, Banchemo G, Rubianes E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*. 2001; 55(4):993-1004.
- Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*. 1999;51(7):1351-61
- Wheaton JE, Carlson KM, Windels HF, Johnston LJ. CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*. 1993; 33 (1):127-41.
- Yacoub, A.N.; Gaulty M.; Sohnrey, B.; Holtz, W. Fixed-time deep uterine insemination in PGF2 $\alpha$ -synchronized goats. *Theriogenology* Volume 76, Issue 9, 2011, Pages 1730-1735
- Zarazaga, L.A., Gatica, M.C., Celi, I., Guzmán, J.L., Malpoux, B., 2009. Effect of melatonin implants on sexual activity in Mediterranean goat females without separation from males. *Theriogenology*, 72: 910-918.

Zarazaga, L.A., Gatica, M.C., Celi, I., Guzmán, J.L., Malpoux, B., 2010. Effect of artificial long days and/or melatonin treatment on the sexual activity of Mediterranean bucks. *Small Ruminant Research*, 93: 110-118.