

Libros de **Cátedra**

Reproducción en ovinos y caprinos

Sincronización de celos e inseminación artificial

Andrés Telésforo Soto - María Verano Gómez
Carlos Alberto Seillant (autores)

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS VETERINARIAS


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

REPRODUCCIÓN EN OVINOS Y CAPRINOS

SINCRONIZACIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Andrés Telésforo Soto
María Verano Gómez
Carlos Alberto Seillant

Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal (INIRA)
Facultad de Ciencias Veterinarias



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



Agradecimientos

Queremos expresar nuestro agradecimiento a los productores ovinos y caprinos de las diferentes regiones del país quienes nos han permitido trabajar e investigar en sus establecimientos y en particular al personal y propietarios del establecimiento Santa Clara del partido de Dolores, Pcia de Buenos Aires.

A los compañeros del Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal (INIRA) y a la Universidad Nacional de La Plata que ha hecho posible la presentación de este libro.

A nuestras familias y amigos porque siempre están.

Índice

Introducción	5
Capítulo 1	
Fisiología reproductiva	6
<i>Andrés T. Soto y María V. Gómez.</i>	
Capítulo 2	
Sincronización de celos e inducción de la ovulación	22
<i>María V. Gómez y Andrés T. Soto.</i>	
Capítulo 3	
Inseminación artificial	51
<i>Carlos A. Seillant; María V. Gómez y Andrés T. Soto.</i>	
Capítulo 4	
Detección de celos	81
<i>Carlos A. Seillant</i>	
Autores	91

Introducción

La presente contribución ha sido preparada sobre la base de información nacional e internacional a los efectos del dictado del curso de Teriogenología, Biotecnología de la Reproducción y Producción de ovinos y caprinos que se desarrollan en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata y para divulgar los conceptos que se vierten sobre reproducción que puedan resultar de interés a productores, estudiantes de escuelas agrotécnicas y estudiantes universitarios de carreras afines al sector agropecuario.

Esta obra abarca el tratamiento de la regulación neuroendócrina del sistema reproductivo como herramienta esencial para comprender los métodos biológicos y artificiales de intervención sobre la fisiología reproductiva de la hembra, particularmente la sincronización de celos y la inducción de la ovulación y su asociación a los procedimientos de inseminación artificial, así como la descripción de esta última técnica.

A pesar de que el desarrollo inicial de ambas biotecnologías reproductivas data de décadas, no dejan de realizarse investigaciones en pos de mejorarlas e incrementar su efectividad y es nuestro objetivo describir en forma sintética los avances logrados.

CAPÍTULO 1

Fisiología de la reproducción

Andrés Telésforo Soto y María Verano Gómez

Generalidades

Los ovinos y los caprinos son considerados animales poliéstricos estacionales de fotoperíodo negativo; distinguiéndose una época o estación reproductiva, una estación no reproductiva o contraestación y dos estaciones de transición.

El patrón reproductivo anual de estas especies es regulado por la melatonina, la cual es liberada por la glándula pineal como respuesta a la percepción de horas de luz/oscuridad. El patrón de síntesis y liberación obedece a un ritmo circadiano y circunannual donde la melatonina se incrementa con la disminución de las horas luz y actúa en la región hipotalámica sobre la liberación del factor de liberación de gonadotrofinas (GnRH) bajo un mecanismo de tipo indirecto inhibiendo a las neuronas GnIH. La estación reproductiva se extiende, en la mayoría de las razas ovinas y caprinas, desde mediados del verano a principios del invierno y es la época en donde se presentan ciclos estrales regulares acompañados de ovulación. Sin embargo, dependiendo de diversos factores como la latitud, la raza, el estado nutricional y categoría animal, la estación reproductiva puede extenderse en el tiempo e inclusive los pequeños rumiantes pueden comportarse como animales poliéstricos continuos, aunque siempre la mayor actividad sexual será en el otoño. La contraestación reproductiva se caracteriza por la disminución o la ausencia de actividad sexual en el rodeo y los animales carecen de ciclos estrales, folículos ovulatorios y ovulaciones. La transición entre la contraestación y la época reproductiva se caracteriza por una ciclicidad irregular de la majada o el hato. Durante esta época se observan animales que presentan ciclos estrales cortos, cuya duración generalmente es de 5 a 7 días, en anestro y algunas hembras presentarán ciclos regulares.

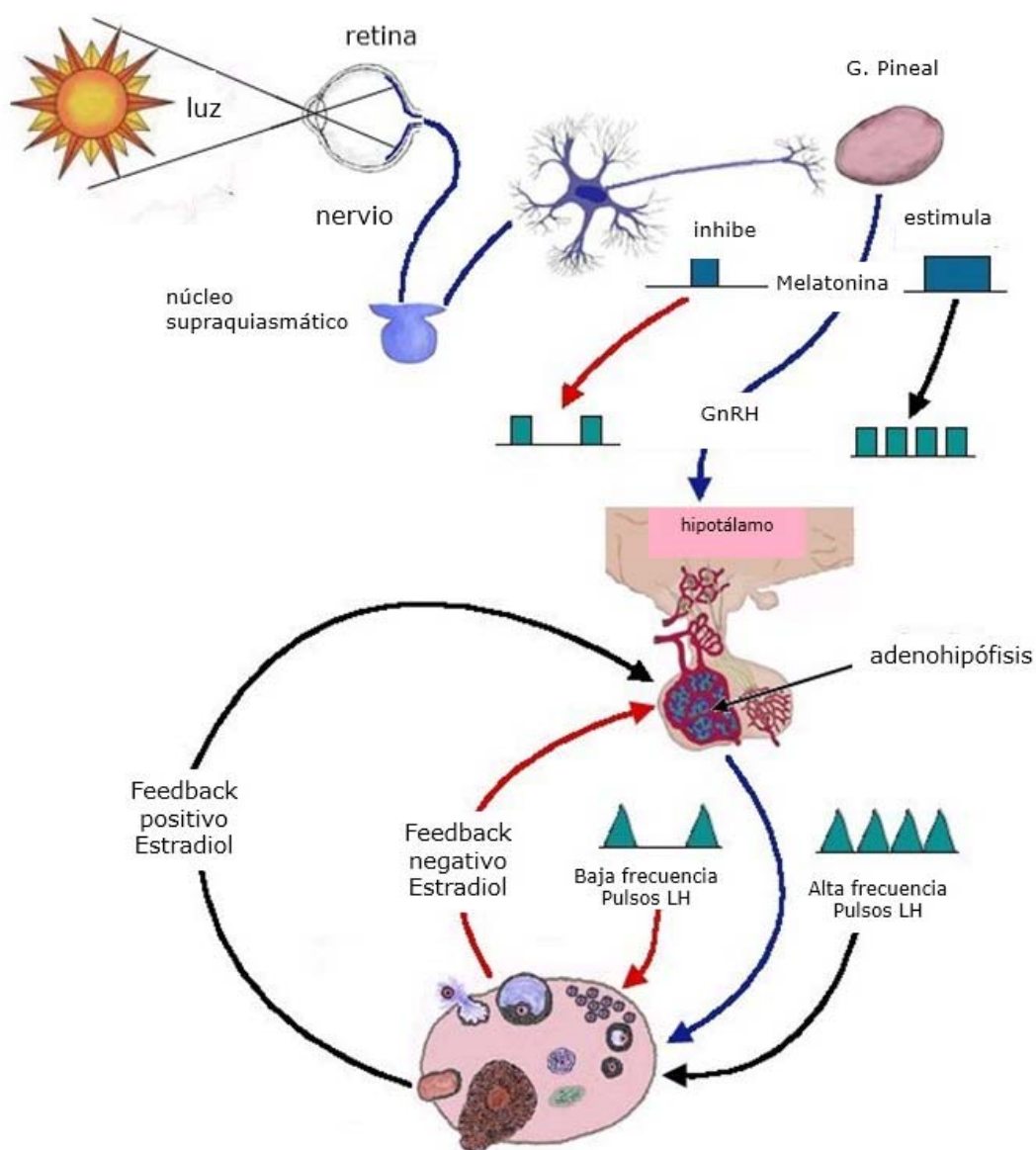
Regulación neuroendocrina

El ciclo estral ovino está regulado por el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, el cual es estimulado por la cantidad de horas luz diaria. Las variaciones en la intensidad y cantidad de horas luz (estímulo físico) son captadas por la retina, donde ese estímulo físico es

transformado en una señal química (neurotransmisores), y redirigida a través del nervio óptico, tracto retinohipotalámico, hacia el núcleo supraquiasmático, luego al ganglio cervical superior cuyas neuronas postganglionares realizan sinapsis con neuronas inhibitorias, quienes toman contacto con los pinealocitos de la epífisis, en donde el mensaje nervioso actúa modulando la síntesis de la melatonina. La acción inhibitoria sobre los pinealocitos disminuye durante las horas de oscuridad, permitiendo la síntesis y liberación de melatonina, lo que provoca un aumento en la producción y secreción de GnRH (Figura 1.1), lo cual lo haría a través de la modulación de la expresión de la hormona inhibitoria de gonadotropina (GnIH).

Figura 1.1

Fotoperíodo y regulación neuroendocrina en la oveja

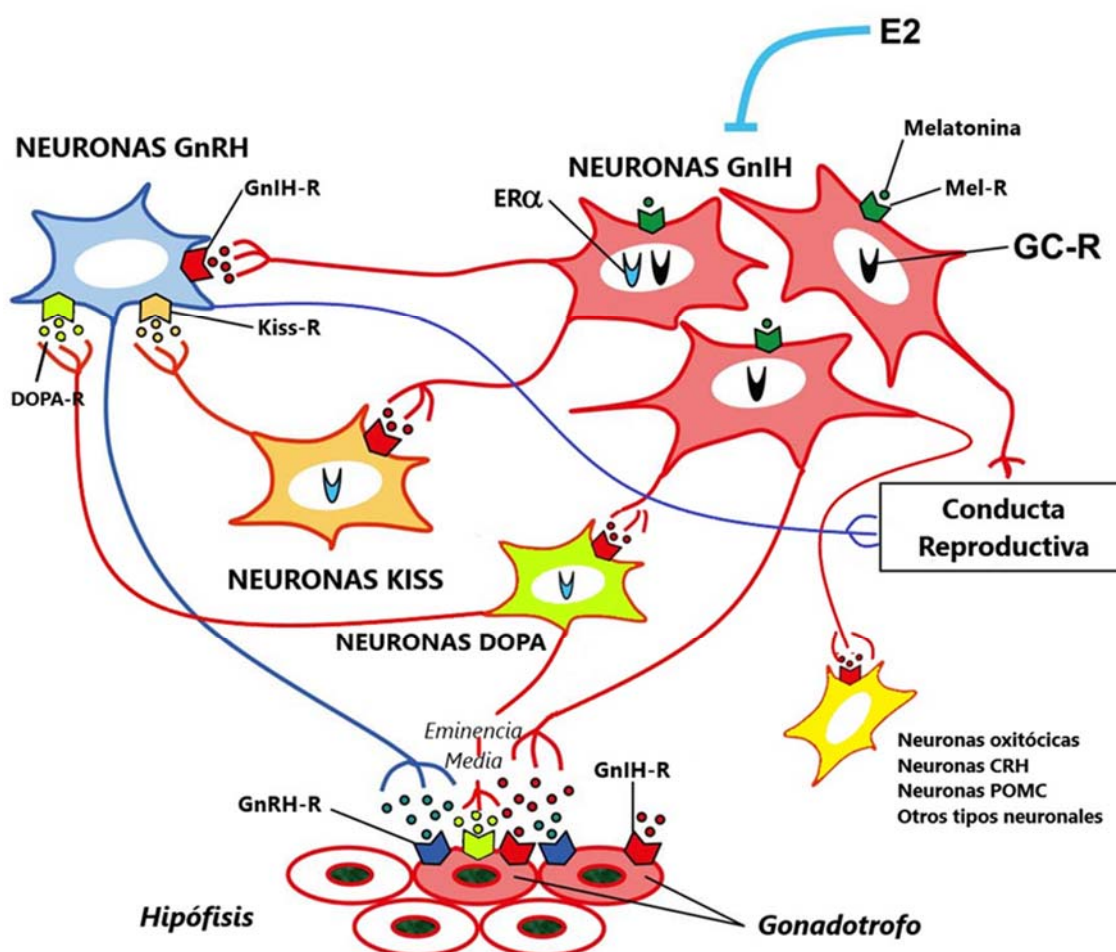


Nota. (Adaptado de Karsch (1984) y Malpeaux et al. (2002))

El factor de inhibición de gonadotrofinas (GnIH) es un péptido sintetizado por neuronas hipotalámicas involucrado en los mecanismos de regulación de la síntesis de gonadotrofinas, de la conducta y procesos autonómicos. Su función es inhibir la secreción de gonadotrofinas al disminuir la actividad de las neuronas GnRH y al ejercer una regulación directa sobre la síntesis y secreción de gonadotrofinas hipofisarias, tanto en ovinos como en los caprinos. En los ovinos, las neuronas GnIH se distribuyen principalmente en el área dorso medial hipotalámica y en el núcleo paraventricular y sus fibras se distribuyen en el área preóptica y área septal medial hipotalámica, coincidiendo con áreas de alta concentración de neuronas GnRH, y en la eminencia media, coincidiendo con una densa red de fibras GnRH vinculada estrechamente con el sistema porta hipofisario. Las neuronas GnIH también se vinculan con otros tipos neuronales como neuronas oxitócicas, DOPA, pro-opiomelanocortin, factor liberador de corticotrofina y kisspeptinas, lo cual crea un complejo sistema regulatorio neuroendocrino que modula la respuesta reproductiva (Figura 1.2).

Figura 1.2

Modelo esquemático de la regulación neuroendócrina melatonina-GnIH-GnRH en el hipotálamo



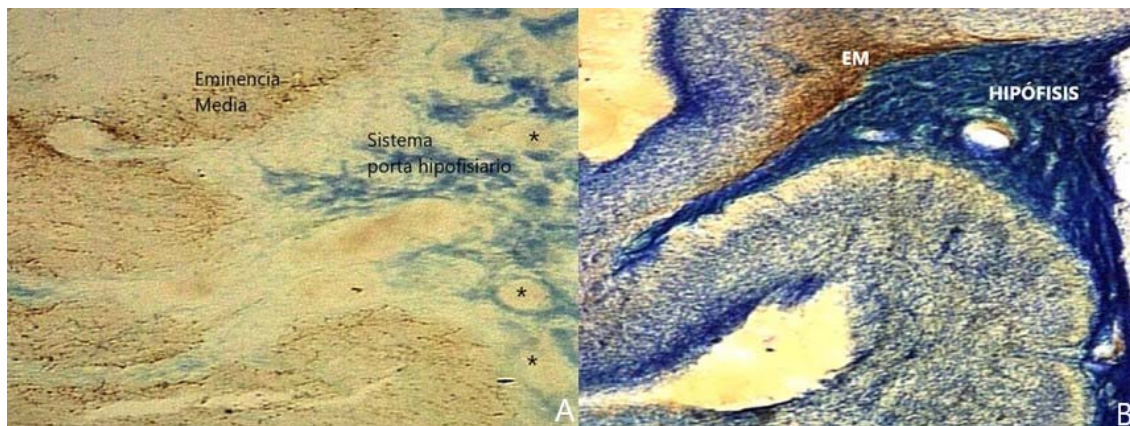
Nota. Las neuronas GnIH proyectan sus axones hacia las neuronas GnRH y a la eminencia media. Los receptores GnIH se encuentran en las neuronas GnRH y en el gonadotrofo. La GnIH inhibe la actividad de las neuronas GnRH y gonadotrófica de la hipófisis. La GnIH

también regula la actividad de las neuronas GnRH a través de su acción sobre las neuronas Kiss y proyectan sus fibras hacia otros tipos neuronales (dopamina, pro-opiomelanocortina (POMC), factor liberador de corticotrofina [CRH]). La expresión de GnIH es regulada por la melatonina, E₂ y situaciones de stress ya que las neuronas GnIH expresan receptores a melatonina (Mel-R), glucocorticoides (GC-R) y de estrógenos ([ER α]) (Adaptado de Karsch (1984), Malpeaux et al (2006), y Gómez; MV y Soto, AT (2020)

Las neuronas GnIH del núcleo paraventricular hipotalámico expresan receptores a melatonina por lo cual esta hormona actuaría directamente a través de su receptor en la inducción de la expresión de GnIH. En mamíferos cuya actividad reproductiva se encuentra regulada por el fotoperíodo, se constataron variaciones estacionales en el número de células GnIH y en la expresión de GnIH cuando fueron sometidos a cambios en el número de horas luz o a la aplicación de melatonina exógena. En los ovinos, durante la época reproductiva, se produce un incremento en la secreción de melatonina que inhibe la expresión de GnIH. En cambio, durante la contraestación reproductiva, la GnIH se incrementa en el sistema porta hipofisiario lo cual coincide con el hallazgo de que las fibras GnIH se disponen en una densa red en la eminencia media. Además, las neuronas GnIH tienen receptores de 17 β estradiol (E₂), al igual que las neuronas Kiss, por lo cual estas neuronas responderían a la acción de esta hormona induciendo una respuesta sobre las neuronas GnRH. En mamíferos reproductivamente estacionales, los patrones de expresión de GnIH y sus correspondientes receptores en el hipotálamo varían a lo largo del ciclo estral, siendo su máxima expresión durante el diestro y su menor expresión en el estro.

La GnRH es un péptido sintetizado por neuronas hipotalámicas que estimulan la síntesis de gonadotropinas y regula la conducta reproductiva. Las neuronas GnRH se disponen en forma aislada o formando pequeños grupos en la parte ventral del hipotálamo, desde las áreas septales hasta la parte anterior de la región infundibular de los rumiantes. La mayor concentración de somas neuronales GnRH se halla en el área preóptica y en el área medial preóptica. Sus fibras neuronales se distribuyen en dos vías principales. Una vía recorre la pared del tercer ventrículo hacia el infundíbulo atravesando sucesivamente los núcleos periventricular, paraventricular y arcuato, los cuales son núcleos compartidos con neuronas y fibras GnIH, y la otra vía está conformada por la mayor parte de las fibras, las cuales descienden hacia la eminencia media y forman una densa red que rodea los capilares primarios del sistema porta-hipofisiario llegando en parte hasta el tallo de la pituitaria en contacto con las células de la parte intermedia de la glándula hipófisis (Imagen 1.1). La concentración de fibras inmunorreactivas a GnRH presentes en la eminencia media varía en diferentes estadios fisiológicos (lactancia/seca), durante la época reproductiva (cíclicas y anéstricas) y el ciclo estral (diestro y ovulación).

Imagen 1.1



Nota. A) zona inmunoreactiva de fibras y GnRH libre (coloración marrón) en la eminencia media (EM) en contacto con la hipófisis (40X) B) fibras y GNRH-ir libre en la eminencia media (EM) en contacto con los vasos sanguíneos del sistema porta hipofisiario (100X). Los asterísticos indican vasos sanguíneos (Soto, A.T. 2011).

Ciclo estral

El ciclo estral de la oveja tiene una duración media de $17d \pm 2$ días y de 21 ± 3 días en la cabra. La cabra de Angora generalmente tiene un ciclo de menor duración, de $19d \pm 1$ días. En ambas especies, se considera fisiológica la presencia de ciclos estrales cortos cuya duración es menor a 14 días, presentando generalmente un rango de duración entre 5 a 10 días. Los ciclos estrales cortos se presentan durante la transición hacia la época reproductiva como también, en mayor o menor medida, luego de efectuarse el efecto macho y en los procesos artificiales de sincronización de celos. La proporción en el número de hembras que presentan estos ciclos cortos está influenciada por el estado nutricional.

El ciclo estral, en ambas especies, comprende una fase lútea, que se extiende desde la ovulación hasta la luteólisis, y otra folicular que comprende el período entre la luteólisis y la ovulación durante el estro.

El celo o estro dura entre 24 y 38 horas en las hembras ovinas y hasta 48 horas en las hembras caprinas. La duración e intensidad del celo son menores tanto en las borregas como en las cabrillas, La sintomatología del celo en ambas especies es poco notable a los fines prácticos e inespecífica. En ambas especies se presenta edema y eritema vulvar, así como una escasa cantidad de flujo. Además, en la especie caprina, podemos observar un incremento en la frecuencia de los movimientos de la cola y un bajo porcentaje ($\leq 3\%$) que se montan entre ellas. En ambas especies, las hembras que se encuentran en celo suelen estar en las cercanías o rodeando a un macho, lo cual es más notable en la especie caprina. Dada las características estrales planteadas en ambas especies, y particularmente en las hembras ovinas, al carecer de sintomatología estral específica, se considera a los fines prácticos que

carecen de sintomatología estral, por lo cual sería necesario la utilización de machos retajos para identificar a las hembras en celo.

La ovulación ocurre hacia el final del estro, aproximadamente 8 horas antes de su finalización. La tasa de ovulación varía entre 1 a 3 ovocitos por ciclo estral de acuerdo a la condición corporal, la raza y cruza, la estación del año y la presencia de genes prolíficos como el gen Booroola entre otros.

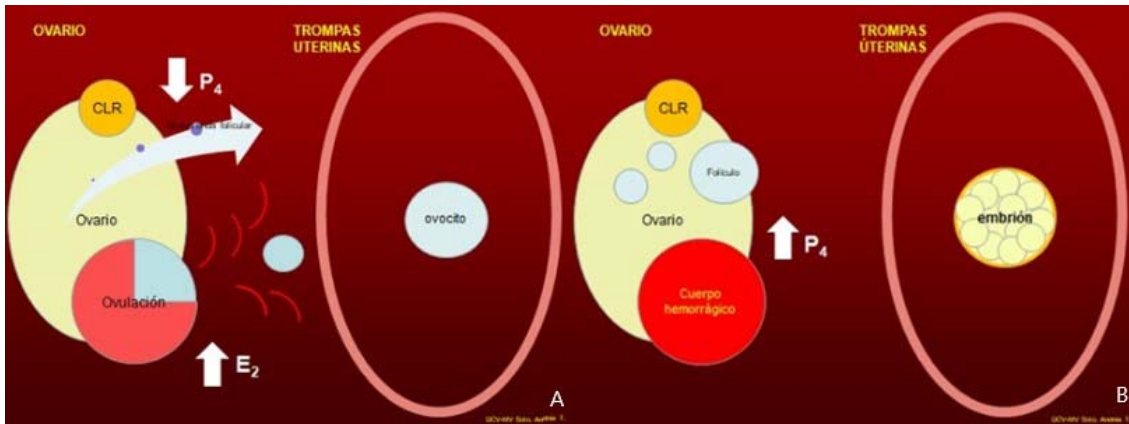
Regulación endócrina del ciclo estral

La síntesis y secreción de gonadotropinas es controlada a través de dos centros neuronales GnRH ubicados en el hipotálamo, el centro tónico y el centro cíclico o preovulatorio. El centro tónico, conformado principalmente por el núcleo ventromedial y el arcuato, libera GnRH en forma pulsátil. Estos pulsos constantes y de baja amplitud (5pg/ml) estimulan la liberación de pulsos de baja amplitud de la hormona luteinizante (LH). El centro cíclico, formado principalmente por el núcleo supraquiasmático y las áreas preóptica, medial preóptica e hipotalámica anterior, produce la liberación de concentraciones basales de GnRH hasta que recibe el estímulo positivo apropiado que provoca pulsos de liberación de GnRH de elevada amplitud y frecuencia en un corto período de tiempo. Durante el inicio de la fase folicular (proestro), la hormona folículo estimulante (FSH) y la LH se incrementan debido a la liberación de GnRH. La FSH y la LH actúan en el ovario estimulando el crecimiento y desarrollo folicular y la producción de E₂ por parte de los folículos. Durante el estro, se incrementa la síntesis E₂ e inhibina por parte del folículo dominante lo cual provoca la disminución en la síntesis y liberación de FSH. El incremento en la síntesis y liberación de E₂ y las concentraciones basales de progesterona (P₄) conforman el estímulo necesario para desencadenar el incremento en la frecuencia de pulsos de síntesis y liberación de GnRH 14 horas previas a la ovulación. El pico preovulatorio de GnRH provocará el consecuente pico preovulatorio de LH y la ovulación (Figura 1.3 A). Luego de la ovulación, el folículo comienza a llenarse de sangre transformándose en cuerpo hemorrágico el cual desarrolla a cuerpo lúteo a través del proceso de luteinización por la acción de la LH sobre las células de la teca interna y de la granulosa del folículo ovulatorio. Las células de la teca interna desarrollan a células luteales pequeñas y las de la granulosa a células luteales grandes. Ambos tipos celulares sintetizan y secretan P₄, diferenciándose en que las células luteales grandes producen la mayor cantidad de P₄ y no son sensibles a la LH (Figura 1.3 B).

La P₄ ejerce un efecto inhibitorio sobre el eje hipotalámico-hipofisiario, inhibiendo la síntesis y secreción de GnRH, FSH y LH y regula la expresión de receptores involucrados en la regulación del ciclo estral y en la secreción de prostaglandina F₂α (PGF). La P₄ es la hormona responsable de la preparación uterina para la implantación del embrión, así como del mantenimiento de la gestación y del desarrollo mamario previo al parto. Al final de la fase luteal, de estar presente un embrión, éste sintetizará interferón tau el cual inhibe la síntesis uterina de

PGF. De no producirse esta señal embrionaria se desencadenará el proceso luteolítico (Figura 1.4 A y B).

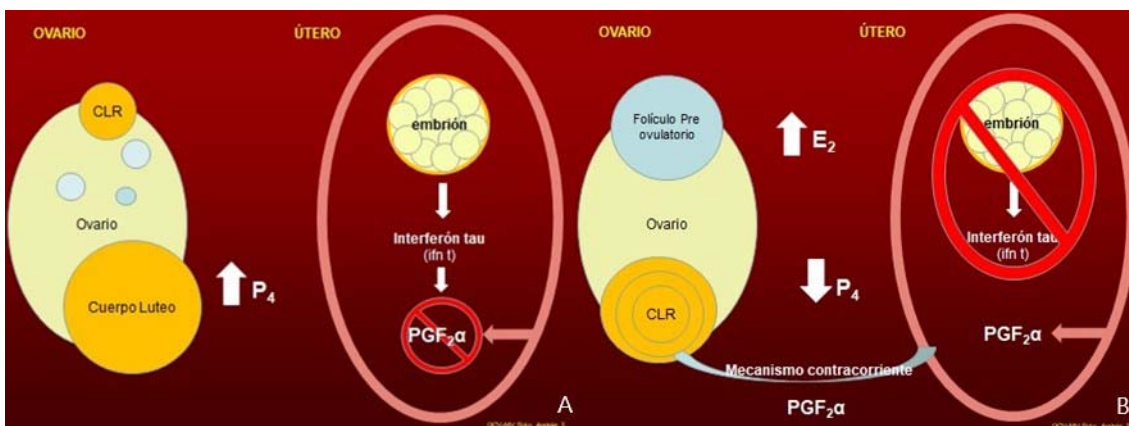
Figura 1.3



Nota. A) Representación esquemática del momento ovulatorio y post ovulatorio. El período se caracteriza por una alta concentración plasmática de estrógenos y una baja concentración de progesterona. Inmediatamente al proceso de ovulación se inicia una nueva onda folicular y el ovocito comienza a transitar las trompas uterinas para su fertilización. B) Representación esquemática del período inicial de la fase lútea en la cual se forma el cuerpo hemorrágico seguido de su transformación en cuerpo lúteo con el consecuente incremento en la síntesis y liberación de P₄. Paralelamente se produce el proceso de fertilización y primeros estadios embrionarios en las trompas uterinas (Soto, A.T. 2020).

Figura 1.4

Representación esquemática del período final de la fase lútea



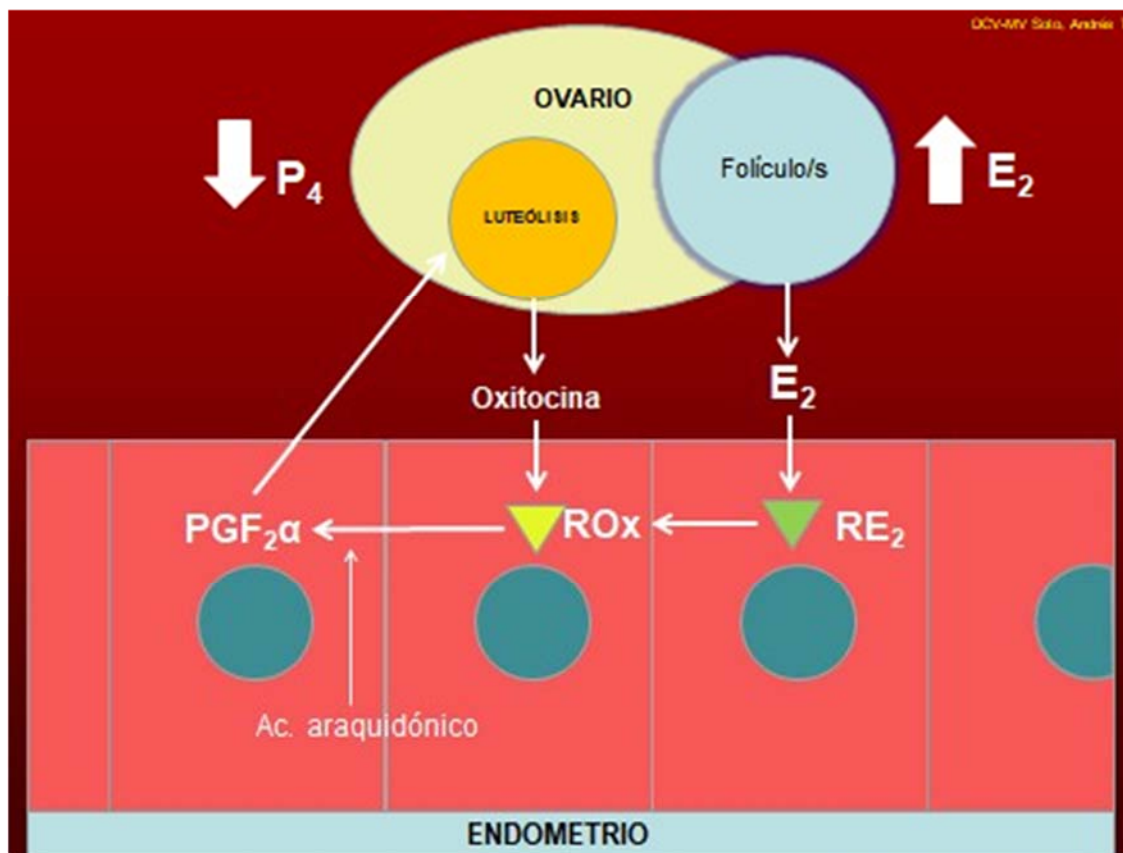
Nota. A) En caso de la existencia de un embrión viable, el mismo sintetizará interferón tau el cual inhibirá el complejo de liberación de prostaglandina F₂α y la persistencia del cuerpo lúteo. B) Debido a la inexistencia de un embrión, y por ende la ausencia de interferón tau, se desencadena el proceso de síntesis y liberación de prostaglandina F₂α y la regresión del cuerpo lúteo (Soto, A.T.).

La luteólisis es un proceso irreversible por medio del cual el cuerpo lúteo pierde su funcionalidad, degenera y las concentraciones sanguíneas de P_4 caen abruptamente. La luteólisis se compone de dos fases de regresión, una funcional y otra estructural. La fase de regresión funcional corresponde a la disminución en la síntesis y secreción de P_4 y ocurre antes que la fase de regresión estructural. La fase de regresión estructural se caracteriza por la apoptosis de células luteales con disminución del tamaño del cuerpo lúteo. Las hormonas que controlan el mecanismo de luteólisis son la P_4 , los E_2 , la oxitocina luteal y la PGF uterina. La P_4 previene la luteólisis hasta el día 10-12 del ciclo estral momento en el cual pierde la habilidad de bloquear la formación de receptores de oxitocina en el útero, y por ende los E_2 sintetizados por el folículo promueven el desarrollo de receptores oxitócicos en el útero. La oxitocina hipotalámica y luteal se acopla a su receptor endometrial y activa un complejo enzimático (fosfolipasa A_2 , COX-2 peroxidasa y PGF-sintetasa) que provoca la síntesis de PGF a partir del ácido araquidónico. La PGF difunde desde la vena uterina a la arteria ovárica a través de un mecanismo de contracorriente en cantidades suficientes para inducir la luteólisis (Figura 1.5). Este transporte local es necesario y de suma importancia, ya que los en los pulmones de los ovinos se metaboliza el 99% de la PGF a metabolito inactivo. La PGF produciría la luteólisis a través de tres mecanismos de acción. Por un lado, actuaría sobre las células luteales grandes activando la fosfolipasa C, el sistema de proteína quinasa C y la síntesis de PGF a través de la vía PGF endoperóxido sintetasa, dando como resultado un incremento en la producción de PGF luteal. El segundo mecanismo de acción se relaciona con la reducción de la esteroideogénesis ya que ejerce su acción sobre las células endoteliales del CL que liberan endotelina, la cual actúa sobre las células luteales grandes inhibiendo la síntesis de P_4 . Por último, la acción vasoconstrictora sumatoria de la PGF y la endotelina 1 resulta en la apoptosis de las células luteales lo cual facilita la regresión del cuerpo lúteo, comenzando de esta manera un nuevo ciclo estral.

En síntesis, el ciclo estral está regulado por el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. En el hipotálamo se halla un grupo neuronal que sintetiza GnRH la que actúa sobre células adenohipofisarias estimulando la síntesis y liberación FSH y LH. Ambas hormonas tienen como tejido blanco al ovario, en donde actúan sobre el crecimiento y desarrollo folicular. El folículo dominante sintetiza y secreta principalmente inhibina y E_2 ; esta última hormona ejerce una retroalimentación positiva sobre el hipotálamo y la hipófisis, produciendo una mayor secreción de FSH y LH. De no existir inhibición por la P_4 , ocurre la maduración completa del folículo, se produce la máxima concentración de E_2 y el pico pre-ovulatorio de LH, y la posterior ovulación. En el sitio ovulatorio se forma el cuerpo hemorrágico y luego de un proceso de transformación celular el cuerpo lúteo, el cual sintetiza y secreta P_4 . Esta hormona ejerce un efecto inhibitorio sobre el eje hipotalámico-hipofisario, afectando la secreción de GnRH, FSH y LH. En caso de que no ocurra la fecundación, el cuerpo lúteo sufrirá la regresión hacia el final de la fase luteal (luteólisis) por acción de la PGF endometrial, comenzando de esta manera un nuevo ciclo estral.

Figura 1.5

Representación esquemática del mecanismo de síntesis de PGF₂α uterina



Nota. La P₄ previene la luteólisis hasta el día 10-12 del ciclo estral momento en el cual pierde la habilidad de bloquear la formación de receptores de oxitocina (ROx) en el útero, y por ende los E₂ sintetizados por el folículo promueven el desarrollo de ROx en el útero. La oxitocina se acopla a su receptor endometrial y activa un complejo enzimático que provoca la síntesis de PGF₂α a partir del ácido araquidónico (Soto, AT y Gómez, MV 2020).

Dinámica folicular

El crecimiento folicular ocurre a través de un patrón de ondas de crecimiento y regresión, de manera similar a lo que ocurre en bovinos.

Una onda folicular se define como la emergencia de un grupo de folículos antrales de 2-3mm de diámetro, de los cuales uno o más alcanzan un diámetro de ≥ 5mm. El número de ondas por ciclo estral varía entre 2 y 3 en los ovinos y de 3 a 5 ondas en los caprinos. En el desarrollo de esta onda folicular se distinguen tres etapas: el reclutamiento, la selección y la dominancia. Este desarrollo folicular tiene una duración de 5 a 7 días en ambas especies.

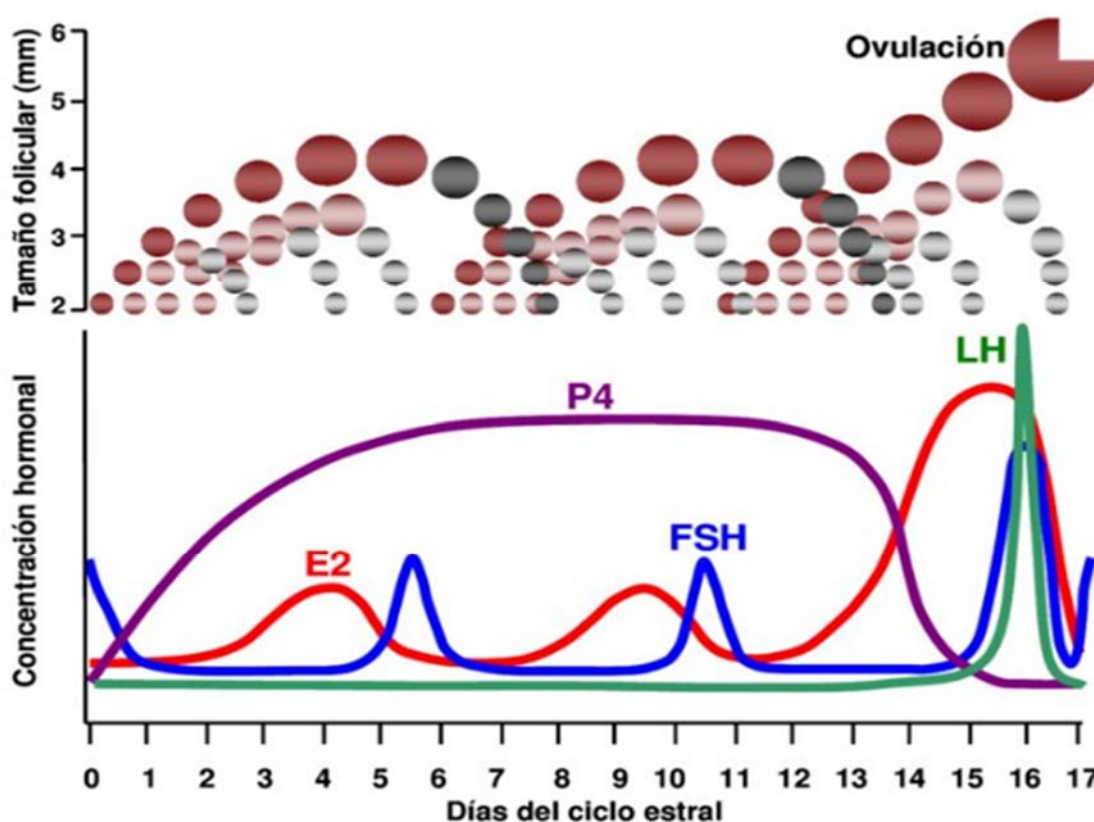
La onda folicular está regulada por la acción de las gonadotropinas, siendo la FSH quien domina la etapa de reclutamiento y la LH la etapa de la dominancia, y ambas durante el proceso de selección. En cada onda de crecimiento folicular, los folículos ≥ 2mm se desarrollan

a partir de un pool donde algunos continúan su crecimiento y otros se atresian. Finalmente 1 a 3 folículos llegan como folículos dominantes. En caso de que la P₄ esté ejerciendo su acción, los folículos dominantes se atresian. En cambio, si pertenecen a la última onda folicular y al no encontrarse la inhibición por la acción de la P₄, los folículos dominantes ovulan (Figura 1.6).

La dinámica folicular ha sido demostrada durante el ciclo interovulatorio, en el anestro estacional, en la gestación y el puerperio, durante el inicio de la estación reproductiva y durante el período de transición que ocurre desde la finalización de la época reproductiva al anestro estacional.

Figura 1.6

Desarrollo folicular y patrones hormonales durante el ciclo estral ovino



Nota. (Adaptado de Simonetti, 2012)

Las principales características del desarrollo folicular son:

- al menos un folículo de $\geq 5\text{mm}$ de diámetro se presenta en cada onda folicular.
- el crecimiento del folículo mayor de cada onda ocurre durante 5-7 d, con una tasa de crecimiento aproximada a 1mm/d,
- el diámetro máximo del folículo mayor de cada onda difiere entre ondas foliculares,
- a medida que transcurre la fase luteal, aumenta la concentración sérica de P₄ lo que provoca que el diámetro máximo del folículo de mayor tamaño sea menor; que el recambio folicular se vea favorecido y que el intervalo entre ondas sea más corto que durante la fase luteal temprana,

- la mayoría de los folículos que ovulan son aquéllos que presentaban el mayor diámetro el día que se produjo la luteólisis,
- en la mayoría de las ovulaciones múltiples, los folículos ovulatorios provienen de la misma onda folicular
- las ovulaciones múltiples ocurren en un rango menor a 12 h.

El conocimiento de la regulación endócrina del ciclo estral así como de la dinámica folicular y del proceso de ovulación es indispensable para la comprensión de los fundamentos de los esquemas de sincronización de celos e inducción de la ovulación.

Bibliografía

- Adams VL, Goodman RL, Salm AK, Coolen LM, Karsch FJ, Lehman MN. 2006. Morphological plasticity in the neural circuitry responsible for seasonal breeding in the ewe. *Endocrinology*. 147: 4843-4851
- Advis J, Kuljis R, Dey G. Distribution of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) content and total LHRH-degrading activity (LHRH-DA) in the hypothalamus of the ewe. *Endocrinology*. 1985; 116(6):2410-8.
- Al-Haidary AA. Physiological responses of Naimey sheep to heat stress challenge under semi-arid environments. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2004; 2:307-9
- Arthur GH. *Veterinary reproduction and obstetrics*. Eighth edition 2001.
- Baird DT. Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biology of reproduction*. 1978; 18(3):359-64
- Barrell GK, Moenter SM, Caraty A, Karsch FJ. 1992. Seasonal changes of gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biology of Reproduction*. 46: 1130-1135.
- Barrell GK, Thrun LA, Brown ME, Viguie C, Karsch FJ. 2000. Importance of photoperiodic signal quality to entrainment of the circannual reproductive rhythm of the ewe. *Biology of Reproduction*. 63: 769-774.
- Bartlewski P, Beard A, Cook S, Chandolia R, Honaramooz A, Rawlings N. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of reproduction and fertility*. 1999; 115(1):111-24.
- Bartlewski P, Beard A, Cook S, Rawlings N. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *Journal of reproduction and fertility*. 1998; 113(2):275-85.
- Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*. 2011; 124(3-4):259-68.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. *Animal reproduction science*. 1999b; 57(1):67-88.

- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Animal reproduction science*. 1999c; 57(1):51-66.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. Ultrasonographic study of ovarian function during early pregnancy and after parturition in the ewe. *Theriogenology*. 2000; 53(3):673-89.
- Bazer FW. Chapter 2: History of Maternal Recognition of Pregnancy. Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals. Columbia, USA: Springer; 2015. p. 5-26.
- Brand A, de Jong WHR. Qualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle population during the oestrus cycle in sheep. *Journal of reproduction and fertility*. 1973; 33(3):431-9.
- Cahill L, Mariana J, Mauleon P. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *Journal of reproduction and fertility*. 1979;55(1):27-36.
- Caldani M, Batailler M, Thierry J, Dubois M. LHRH-immunoreactive structures in the sheep brain. *Histochemistry*. 1988; 89(2):129-39.
- Clarke IJ, Cummins JT, Crowder ME, Nett TM. Pituitary receptors for gonadotropin-releasing hormone in relation to changes in pituitary and plasma gonadotropins in ovariectomized hypothalamo/pituitary-disconnected ewes. II. A marked rise in receptor number during the acute feedback effects of estradiol. *Biology of reproduction*. 1988; 39(2):349-54
- Clarke IJ, Sari IP, Qi Y, Smith JT, Parkington HC, Ubuka T, et al. Potent action of RFamide-related peptide-3 on pituitary gonadotropes indicative of a hypophysiotropic role in the negative regulation of gonadotropin secretion. *Endocrinology*. 2008; 149(11):5811-21.
- 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.
- Dardente H, Birnie M, Lincoln G, Hazlerigg D. RFamide-related peptide and its cognate receptor in the sheep: cDNA cloning, mRNA distribution in the hypothalamus and the effect of photoperiod. *Journal of neuroendocrinology*. 2008; 20(11):1252-9.
- Debeljuk L, Arimura A, Schally A. Effect of Estradiol and Progesterone on the LH Release Induced by LH-Releasing Hormone (LH-RH) in Intact Diestrous Rats and Anestrous Ewes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1972; 139(3):774-7.
- Dees W, Sorensen A, Kemp W, McArthur N. Immunohistochemical localization of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the brain and infundibulum of the sheep. *Cell and tissue research*. 1981; 215(1):181-91.
- Diaz FJ, Anderson LE, Wu YL, Rabot A, Tsai SJ, Wiltbank MC. Regulation of progesterone and prostaglandin F2alpha production in the CL. *Mol Cell Endocrinol*. 2002; 191(1):65-80
- Driancourt MA. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 2001; 55(6):1211-39.
- Evans ACO. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal reproduction science*. 2003; 78(3):289-306
- Evans AC, Duffy P, Hynes N, Boland MP. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 2000; 53(3):699-715

- Evans AC, Flynn JD, Duffy P, Knight PG, Boland MP. Effects of ovarian follicle ablation on FSH, oestradiol and inhibin A concentrations and growth of other follicles in sheep. *Reproduction*. 2002 Jan; 123(1):59-66
- Fukusumi S, Habata Y, Yoshida H, Iijima N, Kawamata Y, Hosoya M, et al. Characteristics and distribution of endogenous RFamide-related peptide-1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2001; 1540(3):221-32
- Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology*. 1995; 43(3):689-703.
- Goodman RL. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: D. KENJ, editor. *Physiology of Reproduction*. New York; USA: Raven Press; 1994.
- Hafez E. II. Fisiología de la reproducción. Reproducción e inseminación artificial de animales. México: Interamericana McGraw-Hill; 1997.
- Hamada T, SHIMIZU T, ICHIKAWA M, MORI Y. Immunohistochemical study on gonadotropin-releasing hormone neurons in the Shiba goat brain. *Journal of Reproduction and Development*. 1992; 38(2):133-42.
- Hansen TR, Bott R, Romero J, Antoniazzi A, Davis JS. Corpus Luteum and Early Pregnancy in Ruminants. In: Meidan R, editor. *The Life Cycle of the Corpus Luteum*. Jerusalem, Israel 2017.
- Hauger RL, Karsch FJ, Foster DL. A New Concept for Control of the Estrous Cycle of the Ewe Based on the Temporal Relationships Between Luteinizing Hormone, Estradiol and Progesterone in Peripheral Serum and Evidence that Progesterone Inhibits Tonic LH Secretion 1 2. *Endocrinology*. 1977; 101(3):807-17.
- Johnson SK, Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PE. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*. 1996; 13(1):69-79.
- Kadokawa H, Shibata M, Tanaka Y, Kojima T, Matsumoto K, Oshima K, et al. Bovine C-terminal octapeptide of RFamide-related peptide-3 suppresses luteinizing hormone (LH) secretion from the pituitary as well as pulsatile LH secretion in bovines. *Domestic animal endocrinology*. 2009; 36(4):219-24
- Karsch FJ, Bowen JM, Caraty A, Evans NP, Moenter SM. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biology of reproduction*. 1997; 56(2):303-9.
- Lehman MN, Robinson JE, Karsch FJ, Silverman AJ. Immunocytochemical localization of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) pathways in the sheep brain during anestrus and the mid-luteal phase of the estrous cycle. *Journal of Comparative Neurology*. 1986; 244(1):19-35.
- Leshin L, Rund L, Crim J, Kiser T. Immunocytochemical localization of luteinizing hormone-releasing hormone and proopiomelanocortin neurons within the preoptic area and hypothalamus of the bovine brain. *Biology of reproduction*. 1988; 39(4):963-75.

- Li X, Su J, Lei Z, Zhao Y, Jin M, Fang R, et al. Gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) and its receptor in the female pig: cDNA cloning, expression in tissues and expression pattern in the reproductive axis during the estrous cycle. *Peptides*. 2012; 36(2):176-85
- Malpaux B 2006 Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals. *Ibid*: pp. 2231-2282.
- Malpaux B, Daveau A, Maurice-Mandon F, Duarte G, Chemineau P. 1998. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in situ microimplant delivery. *Endocrinology*. 139: 1508-1516.
- Malpaux B, Wayne NL, Karsch FJ. 1988. Termination of the breeding season in the Suffolk ewe: involvement of an endogenous rhythm of reproduction. *Biology of Reproduction*. 39: 254-263.
- McCracken J, Carlson J, Glew M, Goding J, Baird D, Green K, et al. Prostaglandin F2 α identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nature*. 1972; 238(83):129-34
- McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event. *Physiological Reviews*. 1999; 79(2):263-323.
- Meidan R, Girsh E, Mamluk R, Levy N, Farberov S. Luteolysis in Ruminants: Past Concepts, New Insights, and Persisting Challenges. In: Rina M, editor. *The Life Cycle of the Corpus Luteum*. Jerusalem, Israel: Springer; 2017. p. 159-82.
- Mellin TN, Busch RD. Corpus luteum function in the ewe: effect of PGF2 α and prostaglandin synthetase inhibitors. *Prostaglandins*. 1976; 12(2):303-17
- Misztal T, Romanowicz K, Barcikowski B Effect of melatonin on daily LH secretion in intact and ovariectomized ewes during the breeding season. *Anim Reprod Sci*. 2002 Feb 15; 69(3-4):187-98. doi: 10.1016/s0378-4320(01)00194-4.
- 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.
- Nett TM, Turzillo AM, Baratta M, Rispoli LA. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. *Domest Anim Endocrinol*. 2002 Jul; 23(1-2):33-42. doi: 10.1016/s0739-7240(02)00143-1
- Noel B, Bister J, Paquay R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *Journal of reproduction and fertility*. 1993; 99(2):695-700.
- Palmieri C, Schiavi E, Salda LD. Congenital and acquired pathology of ovary and tubular genital organs in ewes: A review. *Theriogenology*. 2011; 75(3):393-410
- Pate JL, Landis PK. Immune cells in the corpus luteum: friends or foes? *Reproduction* (Cambridge, England). 2001; 122(5):665-76.
- Polkowska J, Dubois M-P, Domański E. Immunocytochemistry of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) in the sheep hypothalamus during various reproductive stages. *Cell and tissue research*. 1980; 208(2):327-41

- Pompolo S, Pereira A, Kaneko T, Clarke IJ. 2003. Seasonal changes in the inputs to gonadotropin-releasing hormone neurones in the ewe brain: an assessment by conventional fluorescence and confocal microscopy. *Journal of Neuroendocrinology*. 15: 538-545.
- Qi Y, Oldfield BJ, Clarke IJ. Projections of RFamide-related peptide-3 neurones in the ovine hypothalamus, with special reference to regions regulating energy balance and reproduction. *Journal of neuroendocrinology*. 2009; 21(8):690-7.
- Rawlings N, Evans A, Honaramooz A, Bartlewski P. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Animal reproduction science*. 2003; 78(3-4):259-70.
- Reeves J, Arimura A, Schally A. Changes in Pituitary Responsiveness to Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LH-RH) in Anestrous Ewes Pretreated with Estradiol Benzoate¹. *Biology of reproduction*. 1971; 4(1):88-92
- Revel FG, Saboureau M, Pevet P, Simonneaux Vr, Mikkelsen JD. RFamide-related peptide gene is a melatonin-driven photoperiodic gene. *Endocrinology*. 2007; 149(3):902-12.
- Rubianes E. Ondas de desarrollo folicular y respuesta ovárica en la oveja: niveles hormonales y evaluación ultrasonográfica [Doctoral]. Montevideo, Uruguay: Universidad de la República; 2000
- Rubianes E, Menchaca A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science*. 2003; 78(3):271-87.
- Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. Response of the 1–5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F₂ α . *Animal reproduction science*. 2003; 78(1):47-55
- Rubianes E, Beard A, Dierschke DJ, Bartlewski P, Adams GP, Rawlings NC. Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF 2 α and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology*. 1997; 48(7):1093-104.
- Russel A, Doney J, Gunn R. Subjective assessment of body fat in live sheep. *The Journal of Agricultural Science*. 1969; 72(3):451-4.
- Sari IP, Rao A, Smith JT, Tilbrook AJ, Clarke IJ. Effect of RF-amide-related peptide-3 on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone synthesis and secretion in ovine pituitary gonadotropes. *Endocrinology*. 2009; 150(12):5549-56.
- Senger PL. Chapter 5: Regulation of Reproduction-Nerves, Hormones and Target Tissues. In: *Pathways to pregnancy and parturition*. Washington, USA 2006. p. 102-27.
- Senger PL. Chapter 8: Reproductive Cyclicity - The Follicular Phase. In: Inc. CC, editor. *Pathways of Pregnancy* 2006. p. 164-86.
- Senger PL. Chapter 9: Reproductive Cyclicity - The Luteal Phase. *Pathways to pregnancy and parturition*. Second Edition ed. USA: Current Conceptions, Inc; 2006.
- Smeaton TC, Robertson HA. Studies on the growth and atresia of Graffian follicles in the ovary of the sheep. *Journal of reproduction and fertility*. 1971; 25(2):243-52
- Smith JT, Ross Young I, Veldhuis JD, Clarke IJ. Gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) secretion into the ovine hypophyseal portal system. *Endocrinology*. 2012; 153(7):3368-75

- Simonetti, L. Simplificación de los métodos de superovulación en ovejas de la raza Corriedale. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Soto, A.T. Origen y migración de las neuronas GnRH en el bovino (*Bos taurus*) Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, Argentina
- Souza CJ, Campbell BK, Baird DT. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology of reproduction*. 1997; 56(2):483-8.
- Souza CJ, MacDougall C, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRI1B) gene. *Journal of Endocrinology*. 2001; 169(2):R1-R6.
- Stellflug JN, Weems YS, Weems CW. Clinical reproductive physiology of ewes. In: S. YR, editor. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* Philadelphia, USA: WB SaundersCompa; 1997. p. 594-8.
- Tilbrook AJ, Turner AI, Clarke IJ. Stress and Reproduction: Central Mechanisms and Sex Differences in Non-rodent Species *Stress*. 2002; 5(2):83-100.
- Tsutsui K, Saigoh E, Ukena K, Teranishi H, Fujisawa Y, Kikuchi M, et al. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. *Biochemical and biophysical research communications*. 2000; 275(2):661-7
- Uribe-Velásquez LF, Correa-Orozco A, Osorio JH. Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. *Biosalud*. 2009; 8(1):117-31.
- Ubuka T, Bentley GE, Ukena K, Wingfield JC, Tsutsui K. Melatonin induces the expression of gonadotropin-inhibitory hormone in the avian brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102(8):3052-7.
- Ubuka T, Inoue K, Fukuda Y, Mizuno T, Ukena K, Kriegsfeld LJ, et al. Identification, expression, and physiological functions of Siberian hamster gonadotropin-inhibitory hormone. *Endocrinology*. 2012; 153(1):373-85.
- Ubuka T, Son YL, Tobar Y, Tsutsui K. Gonadotropin-inhibitory hormone action in the brain and pituitary. *Frontiers in endocrinology*. 2012; 3:148.
- Yoshida H, Habata Y, Hosoya M, Kawamata Y, Kitada C, Hinuma S. Molecular properties of endogenous RFamide-related peptide-3 and its interaction with receptors. *Biochimica et Biophysica Acta -Molecular Cell Research*. 2003; 1593(2-3):151-7.
- Zuccolilli GO, Hamada T, Ichikawa M, Mori Y. Sexual dimorphism of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons in the goat hypothalamus. *Journal of Reproduction and Development*. 1994; 40(1):27-32.

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 α , 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,

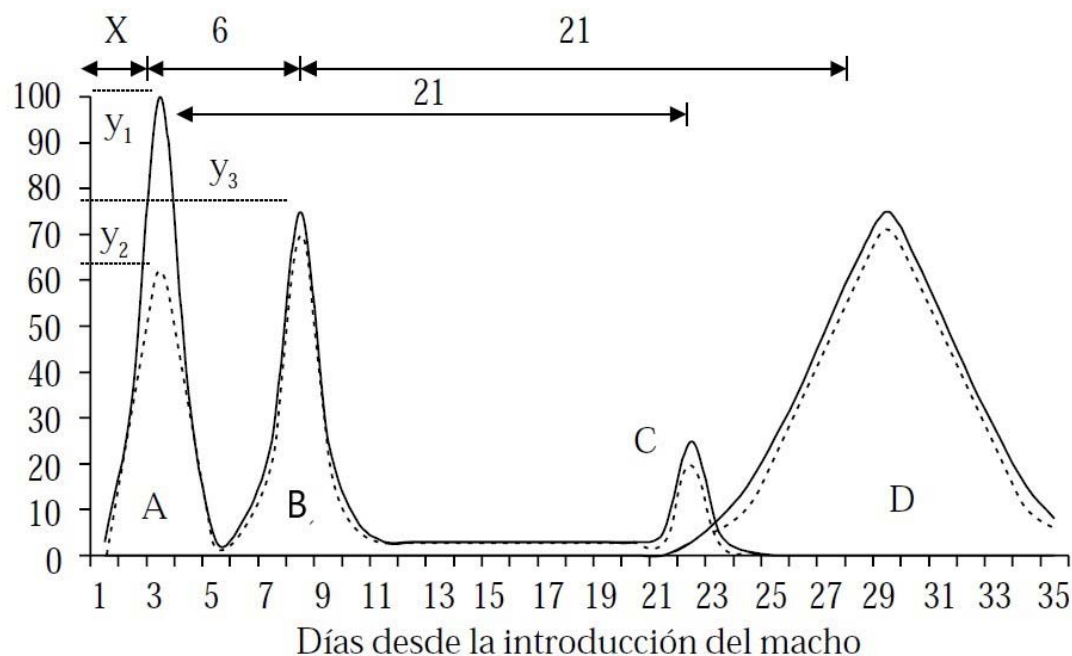
dan cuenta que el olfato sería la principal vía para provocar el efecto ya que se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de ovulaciones y celos inducidos comparativamente con los grupos testigo. Las señales olfatorias transmitidas por los machos son dependientes de andrógenos, y corresponden 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% (y1) 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 (y2). Luego, la mayoría de las cabras (y3) 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. (Adpatado 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 descripto, 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).

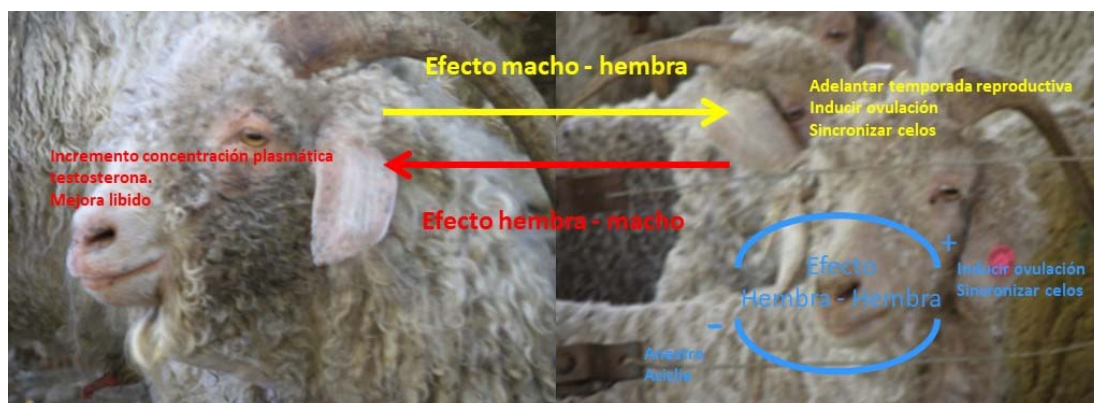
La interacción hembra-hembra produce principalmente dos efectos como respuesta. En primer término, la presencia continua de hembras cíclicas o la introducción de hembras en estro por inducción hormonal sobre hembras en anestro estacional es capaz de inducir la ovulación y la sincronización de las mismas. 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.

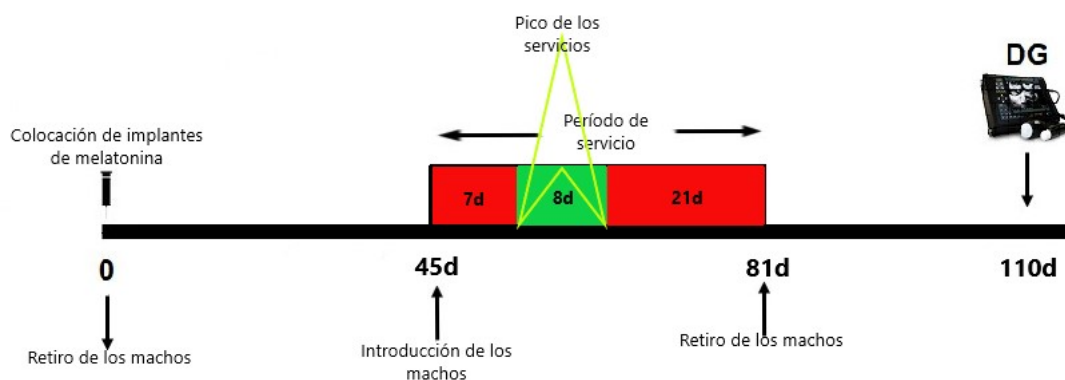
El uso de implantes auriculares de melatonina en las hembras ovinas y caprinas induce la ciclicidad en hembras anéstricas y los protocolos pueden ser utilizados solos o bien combinados con efecto macho. También, pueden ser combinados con otros tratamientos de acción fotoperiódica (luz artificial) u hormonales 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 α

La prostaglandina F2 α 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.

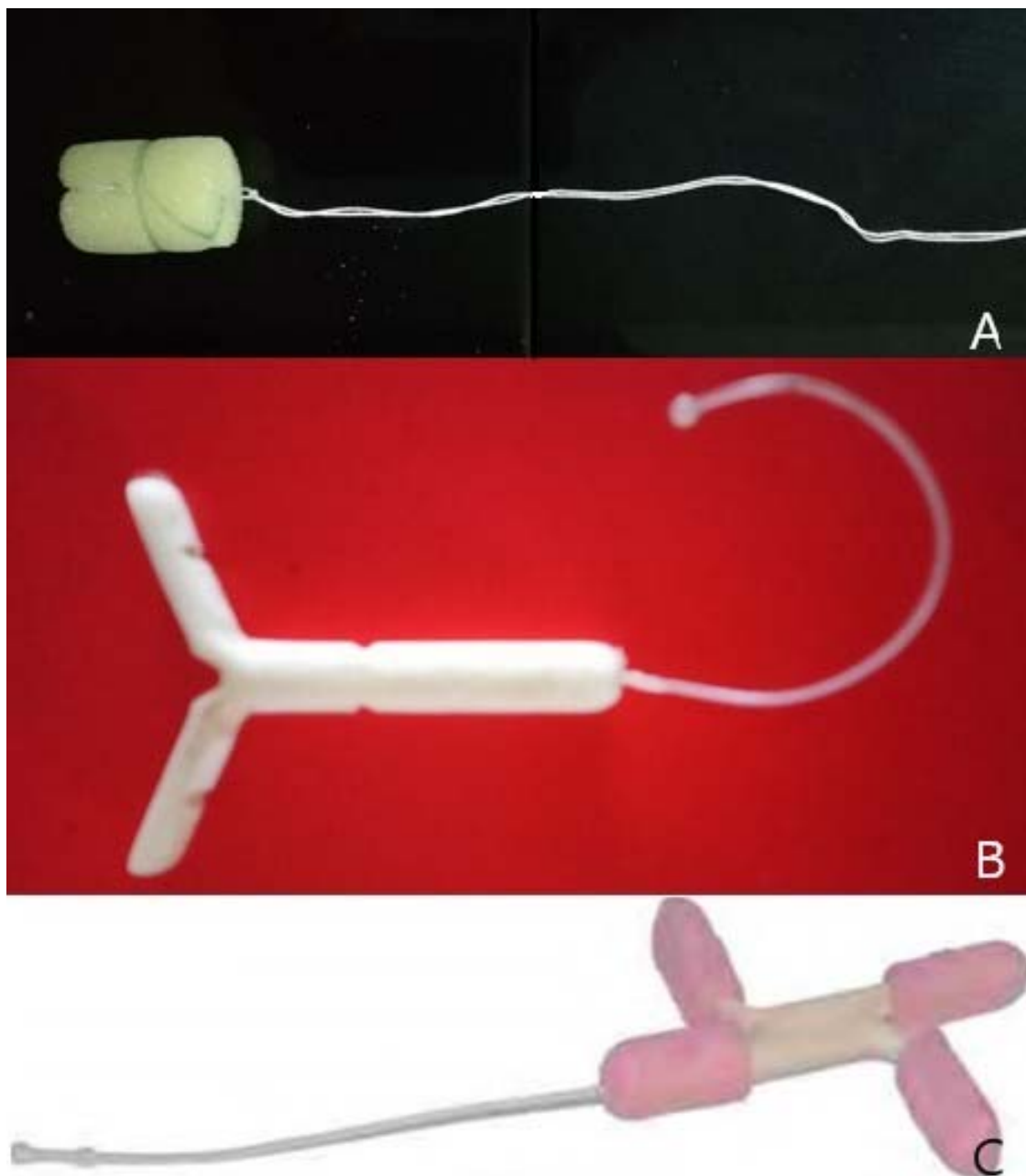
Progesterona y progestágenos

La progesterona (P₄) 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 P₄ 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 P₄ 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 P₄ natural (300mg); C) CRONIPRES impregnados con P₄ 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 F2 α

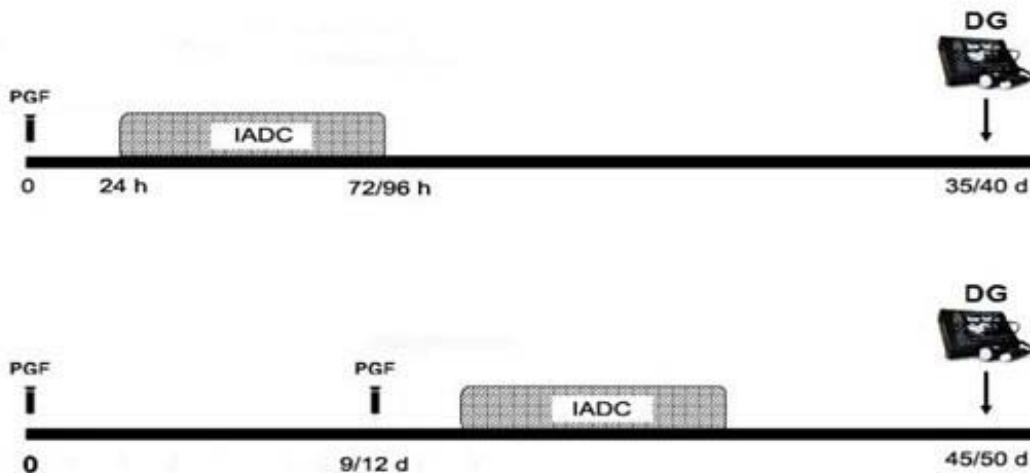
Los protocolos basados en PGF más sencillos implican la utilización de una dosis única o dos dosis separadas a un intervalo 9-14 días dependiendo de la especie animal. La utilización de una dosis única sincroniza el celo al 60-75% de las hembras y una doble aplicación una cifra mayor al 85% durante los 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 125 μ g 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 μ g/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

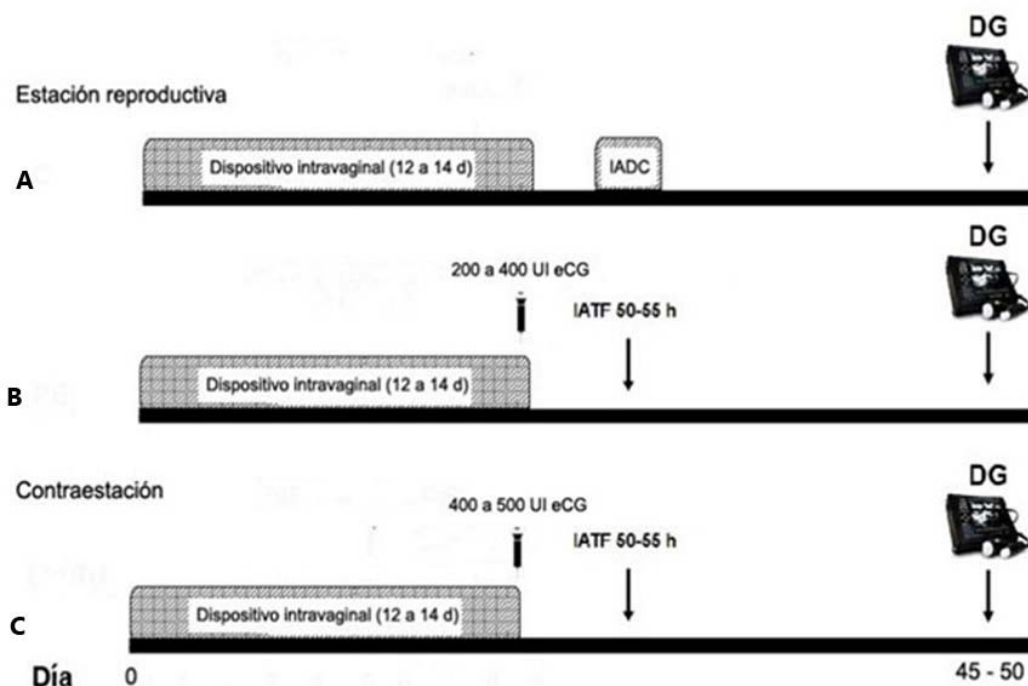
La P₄ o sus derivados sintéticos podían ser administrados por diferentes vías. Sin embargo, nos limitaremos a desarrollar protocolos mediante el uso de dispositivos dado que son los de mayor practicidad y frecuencia de uso. Los protocolos de P₄ o sus derivados sintéticos tienen la ventaja de que pueden 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 P₄ 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 P₄ 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 P₄ séricas aumentan lentamente y al momento de la luteólisis disminuyen abruptamente (Figuras 2.6 y 2.7). Las concentraciones séricas subluteales de P₄, 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 P₄ 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

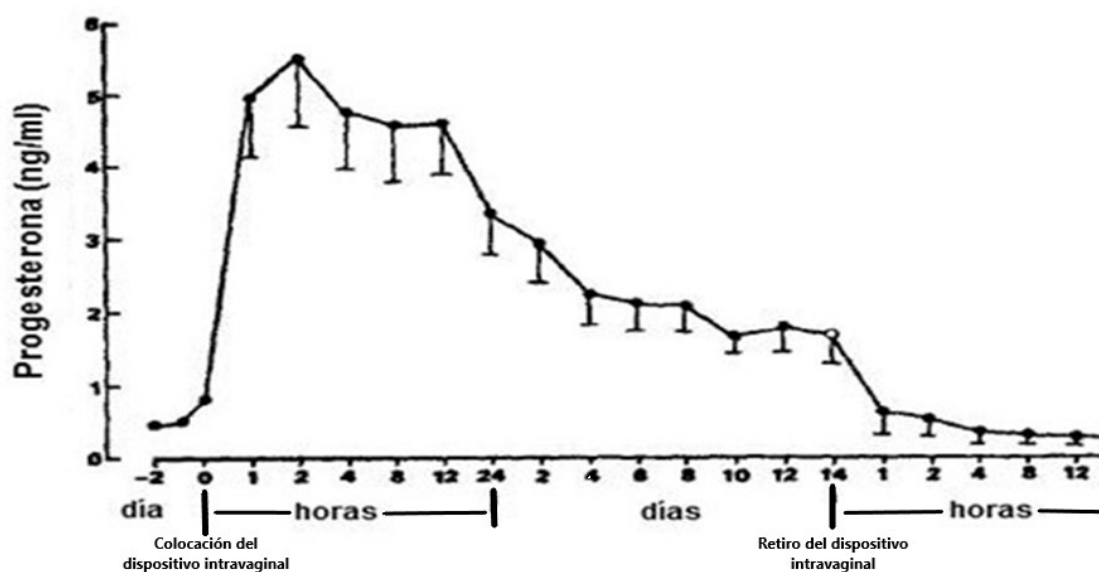
Concentraciones plasmáticas de P₄ en ovejas durante el ciclo estral



Nota. (Adaptado de Hauger, 1977)

Figura 2.7

Concentraciones plasmáticas de P₄ en ovejas con DIV durante 14d Día 0: inserción DIV Día 14: retiro DIV

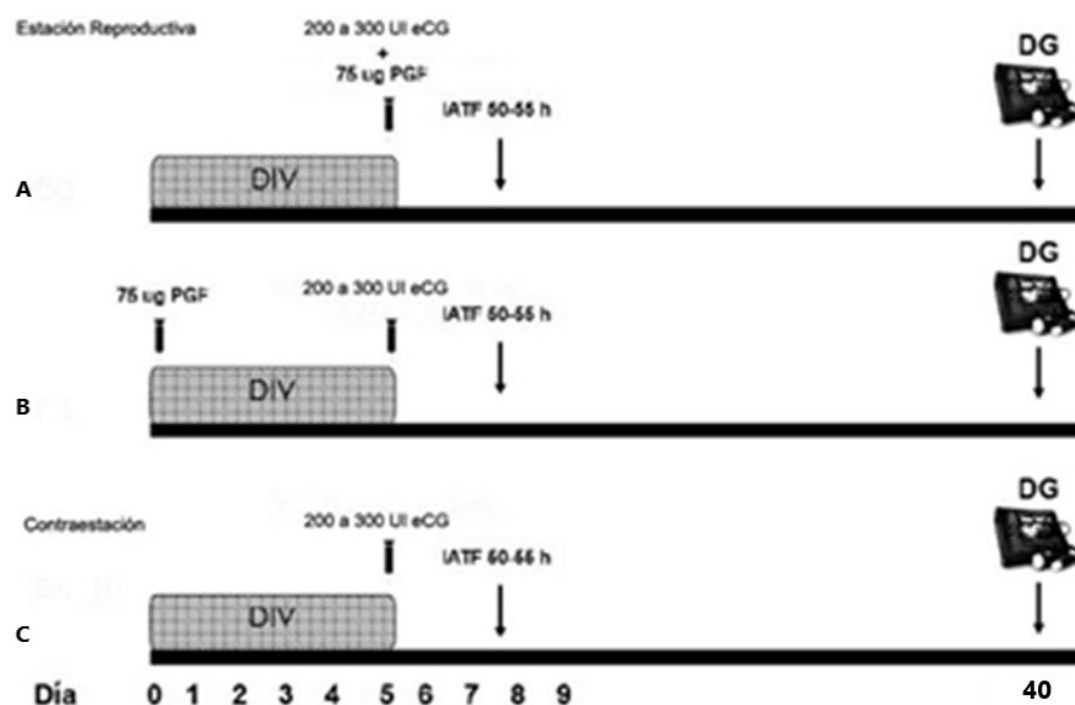


Nota. (Adaptado de Ainsworth y col., 1986).

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 P₄ 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 P₄ 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 P₄ 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.

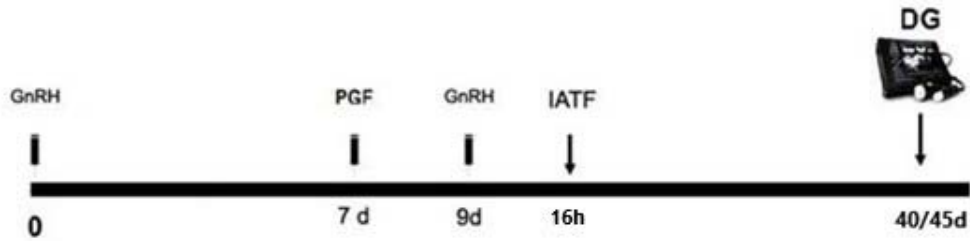
Protocolos asociados al empleo de GnRH o estrógenos

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 P₄, se han ensayado protocolos que involucran la administración de GnRH o estrógenos (E₂).

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)

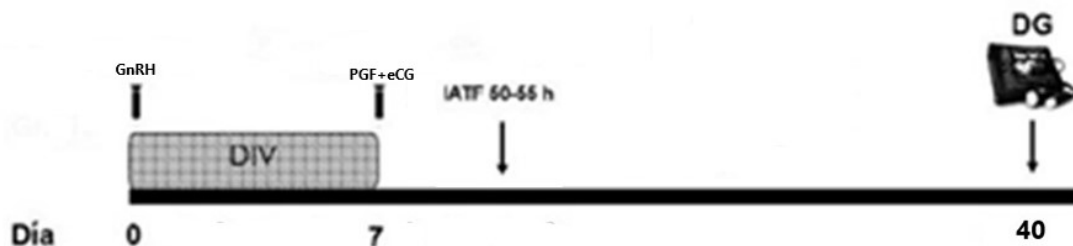


Nota. DG: diagnóstico de gestación (Soto, A.T. y Gómez, M.V)

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 P₄, 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

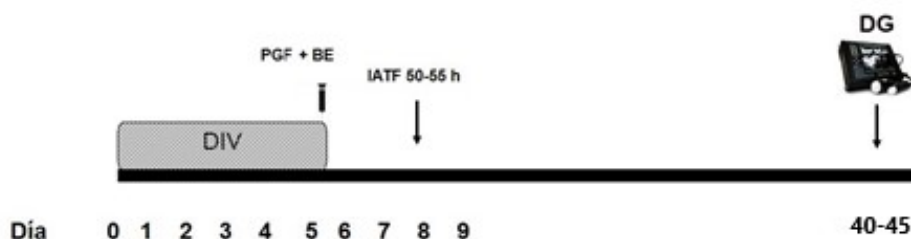


Nota. Representación esquemática de un protocolo de sincronización de celos mediante el uso de dispositivos intravaginales impregnados de P₄ y una dosis de GnRH inicial para sincronizar las ondas foliculares. DG: diagnóstico de gestación (Soto, A.T. y Gómez, M.V)

Otras variantes ensayadas fueron la colocación de un dispositivo intravaginal impregnado con P₄ 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 P₄ 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 P₄ 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 P₄ 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

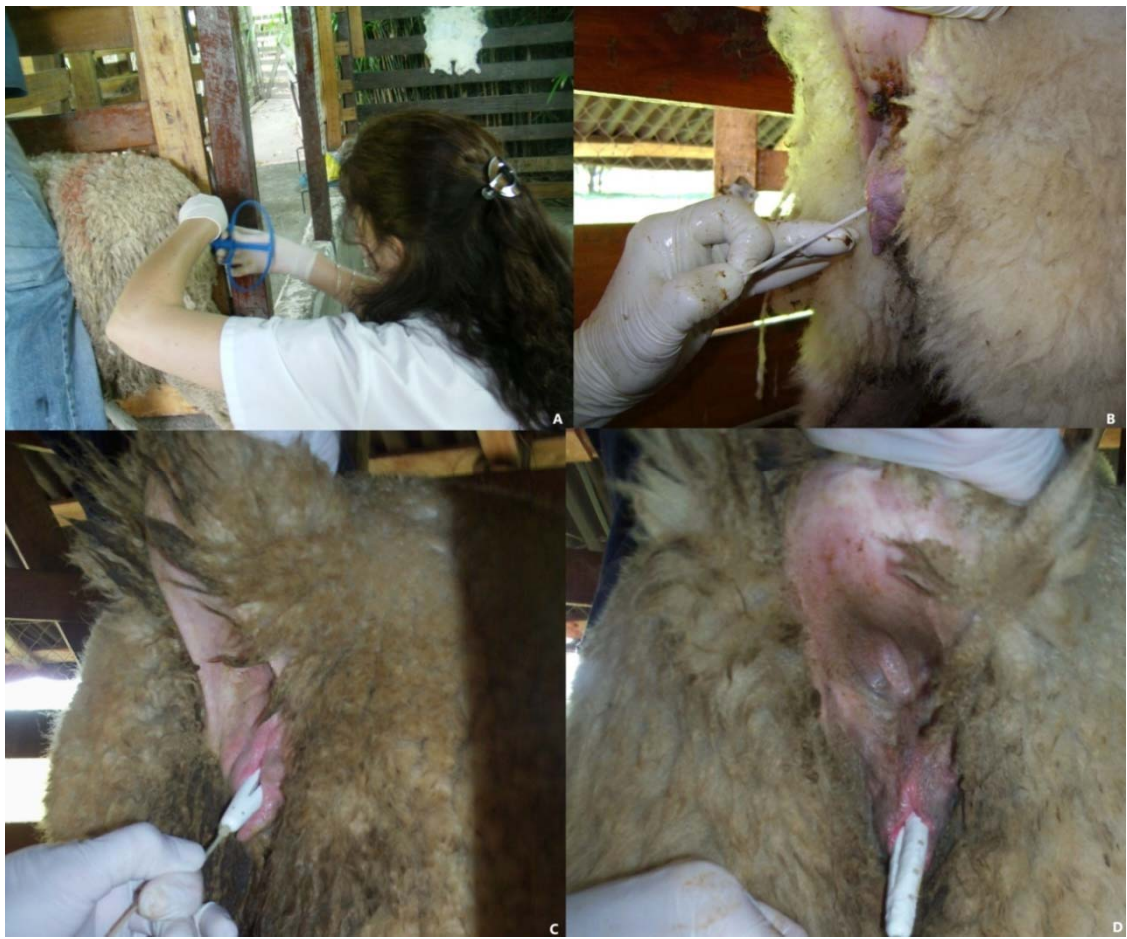
La colocación de DIV siliconados o esponjas presenta pautas básicas de higiene y de técnica necesarias para evitar lesiones, infecciones y resultados negativos luego de la sincronización. A continuación, se mencionan los puntos claves para una colocación y retiro de los dispositivos intravaginales

- ✓ 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.

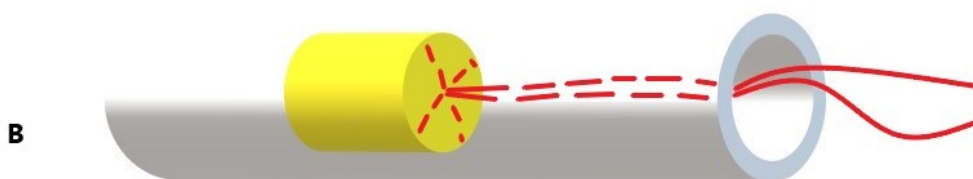
Imagen 2.2



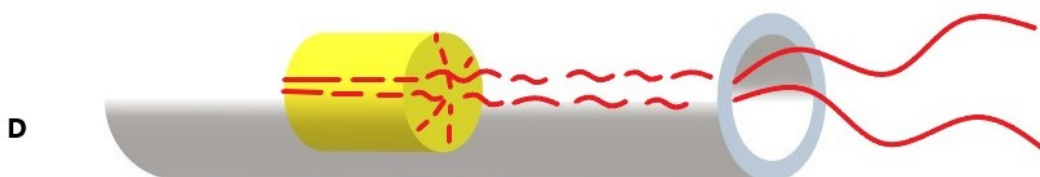
Nota. A) Colocación de un dispositivo intravaginal siliconado. B, C y D) Momentos del retiro del dispositivo intravaginal en unam oveja (Gómez, M.V. 2020)

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, Cayan 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 α 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 α , 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 α 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 PGF₂ α 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 F₂ α . *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 PGF₂ 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 β 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 α -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.

CAPÍTULO 3

Inseminación Artificial

*Carlos Alberto Seillant, María Verano Gómez y Andrés
Telésforo Soto*

Generalidades

La inseminación artificial (IA) es una biotecnología reproductiva en la cual, mediante un instrumental específico, se introduce una dosis de semen en el sistema genital de la hembra de manera artificial, sin contacto directo entre el macho donante y la hembra receptora.

El proceso de IA tiene el objetivo de mejorar la productividad del hato o majada a través de la mejora genética. De esta manera es posible la utilización de material genético superior a partir de machos, presentes o no, en el establecimiento. Además, la implementación de la IA tiene ventajas como la de prevenir el ingreso de enfermedades de transmisión sexual, permitir el uso de machos que no son del establecimiento, disminuir los costos de inversión en genética, incrementar la presión de selección y disminuir el número de reproductores machos en el hato o majada, utilizar machos incapacitados temporalmente, mantenimiento de registros seguros (paternidad), evitar interacciones sociales, como la dominancia entre los machos o de preferencia sexual macho-hembra que pueda presentarse en determinados casos y su empleo en otras biotecnologías reproductivas (ej: transferencia de embriones). Sin embargo, a pesar de que es una técnica con grandes ventajas en su aplicación, presenta algunas desventajas que deben ser tenidas en cuenta al momento de su implementación. El costo de la técnica y la necesidad de personal entrenado son los dos factores más importantes que influyen en la decisión al momento de plantear la utilización de la IA. El costo está relacionado con el protocolo de sincronización de celos utilizado, con el método de conservación del semen y con la técnica de IA a utilizar (vaginal profunda, cervical, intrauterina laparoscópica). También, existe el riesgo de consanguinidad cuando se emplea la IA, principalmente en hatos o majadas pequeños, al utilizarse semen de un mismo animal en un número importante de hembras y en años sucesivos. Otra desventaja, si bien no debiese ocurrir, es que el semen se encuentre infectado y por ende el proceso de IA actuaría como diseminador de la enfermedad. Finalmente, el porcentaje de gestación que se pueda lograr es variable de acuerdo al protocolo de sincronización, vía de inseminación y conservación de semen utilizados y pueden resultar menor a los obtenidos por servicio natural.

Las diferentes técnicas de IA pueden realizarse con detección de celo (IACD) o en un momento determinado luego de finalizado el protocolo de sincronización, denominándose IA a tiempo fijo (IATF). La IATF se realiza a un tiempo fijo de horas luego de finalizado el protocolo de sincronización y el momento de inseminación depende principalmente del protocolo de sincronización utilizado, la vía y técnica de inseminación.

Consideraciones generales para llevar a cabo la IA

La IA es una serie de procesos que no solo implica la aplicación de una técnica sino que comprende una serie de actividades previas en la majada y situaciones que debemos tener en cuenta para cumplir nuestro objetivo.

Previo al inicio de la sincronización de celos y durante la IA se deberá realizar un control de la majada que incluirá:

- ✓ Destetar los corderos al menos un mes antes de la IA.
- ✓ Estado dentario: solamente deberían inseminarse ovejas con buen estado dentario (Imagen 3.1A).
- ✓ Control de la condición corporal: las ovejas deben estar preferentemente en balance energético (+) y una condición corporal de 2,5 a 3 puntos.
- ✓ Elevado porcentaje de ciclicidad durante la época reproductiva.
- ✓ Control de ubre: ubre sana
- ✓ Realizar despezñado y pediluvios. No incluir aquellos animales que presente enfermedades podales (Imagen 3.1B).
- ✓ Control de enfermedades parasitarias externas e internas por lo menos un mes antes del inicio del trabajo.
- ✓ No inseminar hembras que pudiesen tener síntomas de alguna enfermedad (fiebre, diarrea, secreciones vaginales, entre otros) ya que condicionará los resultados de la IA.
- ✓ Limpieza de cara y región urogenital (Imagen 3.1C).
- ✓ Se deberán evitar los arreos excesivos en días pre y post inseminación, lo cual implica tener un potrero cercano y con buena disponibilidad de forraje destinado para el proceso de IA. El mismo debe tener sombra y agua.
- ✓ Evitar cambios en la alimentación.
- ✓ Es recomendable realizar una ultrasonografía previa a la sincronización de celos con el objetivo de eliminar aquellas hembras que pudiesen tener alguna patología en el aparato genital o bien que se encuentren gestantes por robo.

Imagen 3.1



Nota. A) Determinación del desgaste dentario, boqueo B) Despezuñe C) Esquila previa a la IA de la región urogenital de la oveja (Seillant, C.A.)

En caso de que el proceso de IA lo llevemos a cabo con semen fresco o refrigerado con carneros del establecimiento tendremos en cuenta:

- ✓ Los machos destinados a la IA deberán ser **aptos reproductivos** para lo cual 60 días antes del comienzo de la IA deberán ser revisados (Imagen 3.2 A y B).
- ✓ Se deben evitar cambios en la alimentación y si los hubiese deberán tener un período de acostumbramiento.
- ✓ En épocas calurosas se aconseja que los mismos estén esquilados. De no encontrarse esquilados realizar una esquila de la región urogenital y abdomen.
- ✓ Asegurarse que los carneros acepten el uso de la vagina artificial. Los carneros sin experiencia deberán ser amansados y entrenados para la extracción con vagina artificial.
- ✓ Tener un lugar destinado para la extracción de semen y otro para la evaluación y dilución seminal

Es recomendable contar con al menos dos potreros para el manejo de la majada durante la IA, uno para los animales a inseminar y uno o dos para los inseminados. Preferentemente, se deberá tener un piquete o corral cercano de encierre nocturno para los carneros marcadores. Para facilitar el trabajo de IA es necesario contar con corrales y manga para el aparte de las ovejas en celo, un galpón cubierto con piso de material para la extracción de semen y la realización de la inseminación al resguardo de factores climáticos e instalaciones para la sujeción de la oveja a inseminar mediante cepos giratorios, fijos o bien que permitan una buena sujeción a mano con un ayudante.

Imagen 3.2

Nota. A y B) Examen de aptitud reproductiva del carnero: examen clínico particular de los genitales externos (Seillant, C.A.)

También, durante la planificación previa de los diferentes procesos que conlleva la IA debemos tomar conocimiento del número y calificación del personal con el que contaríamos. Debemos evitar que la IA se realice en un momento inoportuno, por ejemplo, evitar que coincida con otras actividades que puedan presentarse en el establecimiento que conllevaría una disminución en el número del personal auxiliar, o bien un día no laborable o festivo. También, es recomendable tener en cuenta las condiciones climáticas para evitar que el momento de IA e inclusive el de sincronización de celos coincidan con situaciones de estrés térmico. Dependiendo de las instalaciones que tenga el establecimiento, de ser posible, otras situaciones climáticas como lluvias o vientos fuertes debieran tenerse en cuenta para la planificación de los procesos de IA. Se recomienda que la planificación se realice retrospectivamente, primero determinando el día de IA y a partir de allí planificar el protocolo de sincronización de celos y la obtención de dosis inseminantes.

En el caso de la IACD es necesario realizar la detección celos para lo cual se podrá utilizar tanto machos enteros con delantal, carneros vasectomizados, capones androgenizados u otras alternativas.

Técnicas de inseminación artificial

Acorde al lugar anatómico donde se realiza el depósito de semen y la vía de abordaje, el proceso de IA recibe una denominación específica. La canalización del cérvix en pequeños ruminantes representa una problemática, sea desde la consideración anatómica como por el instrumental que vayamos a utilizar. Es por ello que la vía cervical recibe diferentes nombres acorde a la profundidad en el que se pudo depositar el semen en el útero. También, acorde a la

vía de inseminación es el tipo de semen conservado que vamos a utilizar preferentemente (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1

Vías de inseminación, lugar de deposición y tipo conservación seminal

Vía de inseminación	Lugar de depósito seminal	Tipo de conservación de semen utilizado de preferencia
Vaginal	Vaginal profunda	Fresco
Cervical (cervix)	Exocervical	Fresco
	Cervical	Fresco, refrigerado
	Cervical profunda	Fresco, refrigerado, congelado
	Transcervical (cuerpo del útero)	Fresco, refrigerado, congelado
Transabdominal (laparoscópía)	Cuerno uterino	refrigerado y congelado

El momento óptimo para realizar la IA está relacionado con la vía y técnica de IA, el protocolo de sincronización de celos utilizado y con el tipo de conservación de semen. Los procesos de IA se pueden llevar a cabo mediante la detección de celos (IACD) o en un determinado momento, posterior a la culminación del protocolo de sincronización (IATF). Sin embargo, el momento de la IATF varía acorde a la vía de inseminación sea esta cervical o bien intrauterina laparoscópica. Por otro parte, en pequeños rumiantes, los procesos de IA se podrán llevar a cabo tanto con semen fresco, refrigerado o congelado. Si bien se puede inseminar con cualquier tipo de semen conservado por cualquier vía, de preferencia se utiliza el semen fresco por vía vaginal, fresco o refrigerado por vía cervical y semen congelado en la IA laparoscópica. Los motivos de esta asociación entre la vía de inseminación y el tipo de conservación radica en que la vía cervical resulta una técnica sencilla, económica, de buenos resultados generales de primoinseminación con semen fresco ($\geq 50\%$ de gestación) pero no así con semen congelado ($\geq 20\% \leq 35\%$ de gestación). La vía laparoscópica es de mayor complejidad, requiere de personal profesional y los resultados con semen congelado son siempre superiores a los logrados por la vía cervical ($\geq 40\% \leq 80\%$ de gestación).

A continuación describiremos las técnicas de IA mayormente utilizadas que son la vía cervical y laparoscópica.

Inseminación por vía cervical

La vía cervical es, preferentemente, utilizada con semen fresco y generalmente el mismo es obtenido de carneros del establecimiento inmediatamente antes de la IA. Por ello, cada eyaculado debe ser valorado antes de llevar a cabo el proceso de dilución e inseminación. No obstante, también se puede utilizar semen refrigerado o congelado.

Técnica de extracción de semen, valoración del eyaculado y dilución

El eyaculado ovino o caprino se obtendrá mediante la técnica con vagina artificial o en caso de ser necesario, ya sea por rechazo de la vagina artificial o por una impotencia coeundi extragenital adquirida, por electroeyaculación.

Para la extracción de semen con vagina artificial debemos contar con un cepo, un súcubo, el macho dador de semen y una vagina artificial. El súcubo es el animal, generalmente una oveja, sobre el cual salta el carnero.

La vagina artificial consta de dos tubos, uno externo rígido de 15 a 25 cm de longitud y uno interno flexible de látex de mayor longitud que permite doblar los extremos y sujetarlos con bandas de goma, determinando un espacio libre entre ellos. A través de una válvula o de uno de los lados se introduce agua a 60 -70°C para que, al momento de la extracción, el interior alcance una temperatura de 40-42°C para lograr la eyaculación.

La presión se regula por medio de la introducción de aire por la válvula. En un extremo de la vagina se coloca una copa de vidrio graduada seca y limpia para la recolección del eyaculado, la cual está cubierta por un protector que protege el eyaculado de los rayos UV, golpes y de las bajas temperaturas evitando la muerte de espermatozoides por shock térmico (Imagen 3.3).

Para la extracción, la oveja se inmoviliza en el cepo (puede ser cepo o brete al ras del piso o elevado), el cual estará sujeto preferentemente sobre un piso de cemento (Imagen 3.4 A). El operario acerca al carnero hacia la región caudal de la hembra. Generalmente, el carnero reacciona oliendo la región vulvar y realizando el reflejo de Flehmen. Para incrementar el grado de excitación sexual, el operario puede realizar dos tipos de maniobras: la falsa monta y la retracción al salto. La retracción al salto ocurre cuando el macho al momento de saltar, para realizar la monta, se lo retira y la falsa monta consiste en dejar montar al carnero y lateralizar el pene por el prepucio impidiendo la penetración. Estas maniobras, preferentemente, no deben realizarse en más de tres ocasiones. Finalmente, el operario se coloca al lado de la oveja, dejando al carnero realizar la monta, desviando el pene por el prepucio hacia la vagina artificial permitiendo la introducción, estocada y eyaculación (Imagen 3.4B).

Si el macho introduce el pene y no eyacula habrá que corregir las condiciones de temperatura o de presión de la vagina artificial. Se deberá constatar que de que la temperatura no sea elevada ya que podríamos quemar la mucosa peneana.

La frecuencia de extracción debiera ser de dos a tres eyaculados por día a intervalos mayores a quince minutos.

Imagen 3.3



Nota. Partes constitutivas de una vagina artificial tipo danesa: camisas externas (A); camisa interna de látex (B); conos intermediarios de recolección de látex (C); diferentes tubos graduados de recolección (D) (Seillant, C.A.)

Imagen 3.4



Nota. A) Súculo sujeto en un brete de salto B) Momento de la extracción de semen con vagina artificial por parte de un operario (Seillant, C.A.)

Luego de la obtención del eyaculado, debe evaluarse al mismo macro y microscópicamente y de ser necesario se realizarán tinciones espermáticas. Todo el material utilizado durante la evaluación deberá estar atemperado y el semen conservado en baño María a una temperatura de 37°C.

El examen macroscópico comprenderá la evaluación de los siguientes parámetros: el volumen, el aspecto, pH, motilidad de masa macroscópica y la presencia de cuerpos extraños. El examen microscópico comprenderá la concentración, la motilidad de masa microscópica, la motilidad individual y el vigor.

La lectura del volumen se realiza directamente en el tubo de recolección graduado, sin tener en cuenta la espuma que pudiese existir. El aspecto del semen está dado por el color y la densidad, requiriéndose eyaculados blancos lechosos a cremosos para el uso en IA (Imagen 3.5 A). El pH del semen es ligeramente ácido (pH=6,7-6,9) y se puede medir con una cinta indicadora colocando una gota de semen sobre la misma. El semen puede estar contaminado por elementos propios del animal (materia fecal, pus, sangre u orina) o externos (tierra, pasto, talco, entre otros), los cuales generalmente producen un cambio de coloración en el semen (Imagen 3.5 B).

Imagen 3.5



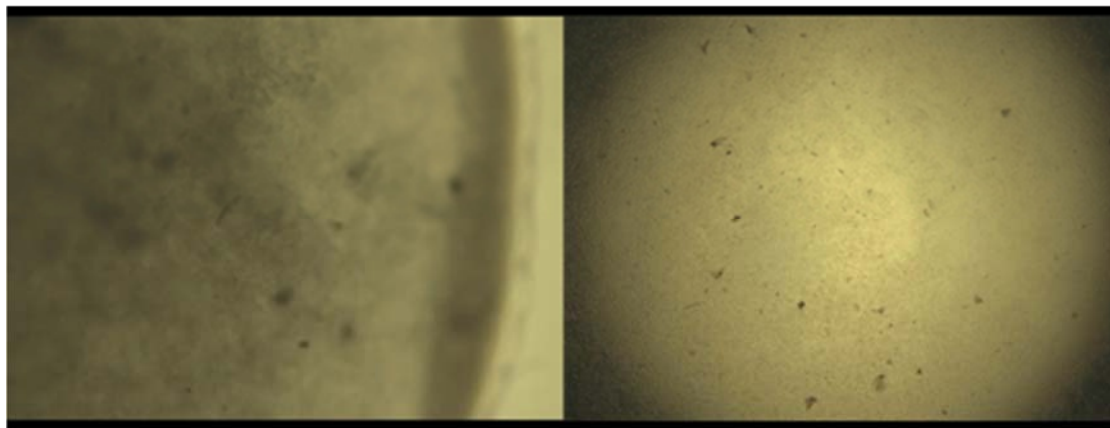
Nota. A) Eyaculado normal blanco cremoso B) Eyaculado hemospérmico (Saillant, C.A.)

El examen microscópico del semen fresco comprende dos tipos de evaluaciones, una con semen puro y otra con semen diluido.

Para el examen del semen puro se colocará una gota de semen puro en un portaobjeto sobre la platina térmica (37-38°C) y se observa a 40x totales (lupa). En la evaluación de la motilidad de masa microscópica se observará la formación e intensidad con que se arman y desarman las ondas (Imagen 3.6). Cuanto más rápido se arman y desarman estas ondas mayor será la motilidad y vigor de los espermatozoides (valoración subjetiva). La amplitud de las ondas nos indica la concentración espermática (valoración subjetiva). Cuanto más finas son menor es la concentración espermática. Sin embargo, si queremos saber el número de espermatozoides con mayor exactitud debemos realizar el conteo en una cámara cuenta

glóbulos o cualquier otro método de conteo. Los espermatozoides muertos se observarán principalmente en el borde de la gota (valoración subjetiva). Sin embargo, preferentemente debe ser valorado a través de una coloración vital (método objetivo). Generalmente, se utiliza una escala de valoración de 1 a 5, siendo este último el valor máximo.

Imagen 3.6



Nota. Motilidad de masa microscópica: se observan ondas espermáticas gruesas (izquierda); ausencia de ondas y abundante presencia de cuerpos extraños (derecha) (Soto, A.T.)

Para realizar la evaluación del semen fresco diluido se debe colocar en un tubo una gota del eyaculado y dos o más gotas de un diluyente isotónico (por ejemplo: citrato de sodio 2,9%) y se colocará una gota de esta dilución, previamente homogenizada, entre cubre y portaobjeto sobre platina térmica y la observación se realizará a 100x y 400x aumentos totales. Se valorará el tipo de movimiento de los espermatozoides, el cual se expresa como el porcentaje de espermatozoides con movimiento progresivo rectilíneo, y el vigor. Se define como vigor a la intensidad de movimiento de los espermatozoides y se evalúa en una escala subjetiva de 0-4.

La determinación de la concentración objetiva puede realizarse a través del recuento con una pipeta de glóbulos rojos y cámara Neubauer. De no contar con una pipeta de glóbulos rojos se procederá a realizarse una dilución conocida en un tubo.

En la siguiente tabla se presentan los valores seminales mínimos aceptables para algunos de los parámetros mencionados anteriormente, para la utilización del eyaculado ovino y caprino tanto fresco como refrigerado a una temperatura de 5°C o 15°C.

Una vez valorado el semen debe ser conservado a 30°C en baño María o en un termo hasta el momento de la inseminación. El semen fresco puede ser utilizado puro o bien diluido con diluyentes a base Tris, citrato y yema de huevo o leche descremada. Para la inseminación con semen fresco por vía cervical se emplean dosis conteniendo 50-200x10⁶ espermatozoides y un volumen de 0,1ml o menor. En caso de que el semen vaya a utilizarse refrigerado a 5°C, el mismo será diluido con leche descremada o medios sintéticos de tal forma que cada dosis contenga 100-300x10⁶ espermatozoides totales.

Tabla 3.1*Valores seminales mínimos aceptables para su uso fresco o refrigerado*

Parámetro	Valor mínimo aceptable
Volumen	0,5 ml
Aspecto (concentración subjetiva)	Cre moso tenue (2,5-3,5x10 ⁹ espermatozoides/ml)
Concentración (objetiva)	2,5 x10 ⁹ espermatozoides/ml
% de espermatozoides vivos	70%
Motilidad progresiva individual	70%
Vigor (0-4)	3 (motilidad progresiva rápida)

Proceso de inseminación artificial por vía cervical

Para llevar a cabo el proceso de IA vaginal o cervical debemos considerar en primer término las instalaciones con las cuales debemos contar. De preferencia, debemos contar con un sitio que tenga varios corrales para facilitar el manejo de las hembras pre y pos inseminación y la sujeción de las mismas lo cual contribuye a una mayor eficiencia laboral y al bienestar animal.

La inmovilización de la hembra durante la IA es de suma importancia para lograr una labor eficiente por parte del veterinario en relación al número de animales inseminados por jornada, una situación mínima de estrés para el animal y evitar lesiones tanto en la hembra como en los operarios. La sujeción de la hembra se podrá realizar tanto en forma manual o mediante un brete. La sujeción manual se realiza de manera tal que la hembra quede con el tren posterior apoyado sobre la última tabla de la manga o la empalizada del corral a una altura de 80-90 cm, sujeta de ambos miembros posteriores por las manos del operario y apoyando los miembros anteriores en el piso y sujeta por el cuello entre las piernas del operario. De esta manera, se logra que el animal esté a unos 45° o más con respecto al piso, lo cual permite un desplazamiento hacia craneal del aparato genital lo que facilita la realización de la vaginoscopía, la visualización del orificio cervical, la cateterización del canal cervical y la posición del inseminador (Imagen 3.7 A, B y C).

Los bretes de sujeción preferentemente deben estar adyacentes a una fosa (Imagen 3.8 A) o bien elevados (Imagen 3.8 B) para facilitar la tarea del inseminador, ya que de esta manera no debe agacharse y su vista es directa a la región urogenital de la hembra.

Es recomendable que el lugar donde se procesará el eyaculado o la pajuela esté al reparo del viento y de los rayos solares. Previo a la IA debe identificarse y registrarse la hembra a inseminar, así como el macho dador de semen en el caso de utilizar el eyaculado de animales propios del establecimiento o bien los datos correspondiente a las pajuelas.

Imagen 3.7



Nota. Sujeción de la oveja sobre empalizada del corral A) Previo a la higiene de la región urogenital (Soto, A.T.) B) Durante la higiene urogenital (Seillant, C.A.). C) Durante el proceso de inseminación artificial (Seillant, C.A.)

Imagen 3.8



Nota. A) Brete de inseminación con fosa. B) Brete de inseminación elevado (Seillant, C.A.)

El instrumental básico para realizar la IA estaría compuesto por:

- un espéculo vaginal tipo de pico de pato (bivalvo) (Imagen 3.9 A y B) o un vaginoscopio (Imagen 3.9 C y D) preferentemente con luz incorporada o con fuente externa.
- Una pipeta o pistola de inseminación, multidosis (Imagen 3.10 A y B) o monodosis (Imagen 3.10 C y D).
- Elementos de limpieza para la región urogenital (torundas húmedas, toallas de papel para secado, entre otros).
- En caso de usar semen congelado será necesario contar con un baño María o un termo de nitrógeno, tijeras, toallas de papel, pinza para el manejo de las pajuelas y alarma entre otros.

Las pipetas o pistolas monodosis pueden ser empleadas tanto con semen fresco como refrigerado y tienen la ventaja de que se puede lograr una mayor penetración en el canal cervical El extremo (tip) se reemplaza en cada inseminación por lo que se incrementa la higiene

y disminuye el riesgo de transmisión de enfermedades (Imagen 3.10 C). Para realizar la IA cervical con semen congelado debemos recurrir a la pistola universal o de Caseaux con su correspondiente vaina protectora las que se reemplazan en cada inseminación (Imagen 3.10 D). Las pistolas multidosis constan de una cánula larga que mediante un embolo, accionado por una varilla dentada, permite descargar dosis de 0,1 ml. Si bien son prácticas, tienen la limitante de que solo se pueden realizar inseminaciones exocervicales (Imagen 3.10 A y B).

Imagen 3.9



Nota. A y B) Espéculo bivalvo sin fuente de luz en posición abierto (A) y cerrado (B). C) vaginoscopio con fuente de luz. D) Operador realizando una vaginoscopia (Gómez, M.V.).

Imagen 3.10



Nota. A) Pistola de inseminación multidosis para semen fresco y refrigerado. Se observa el extremo inseminante que corresponde a una pipeta de vidrio. B) Pistola de inseminación multidosis con su vaina protectora (negra) la cual tiene la función de evitar el shock térmico y de proteger de los rayos UV a las dosis inseminantes, además de proteger a la pipeta de vidrio de golpes que podrían causar su rotura. C) Pistola monodosis de elaboración casera para semen fresco y refrigerado. D) Pistola monodosis universal de Caseaux (Gómez, M.V.; Seillant, C.A.; Soto, A.T.)

Técnica de inseminación artificial

Antes de dar comienzo a la descripción de la técnica de la inseminación cervical realizaremos una reseña del aparato genital de la hembra, lo cual nos permitirá indicar el lugar de depósito de la dosis inseminante acorde a la técnica.

Reseña del aparato genital de la hembra

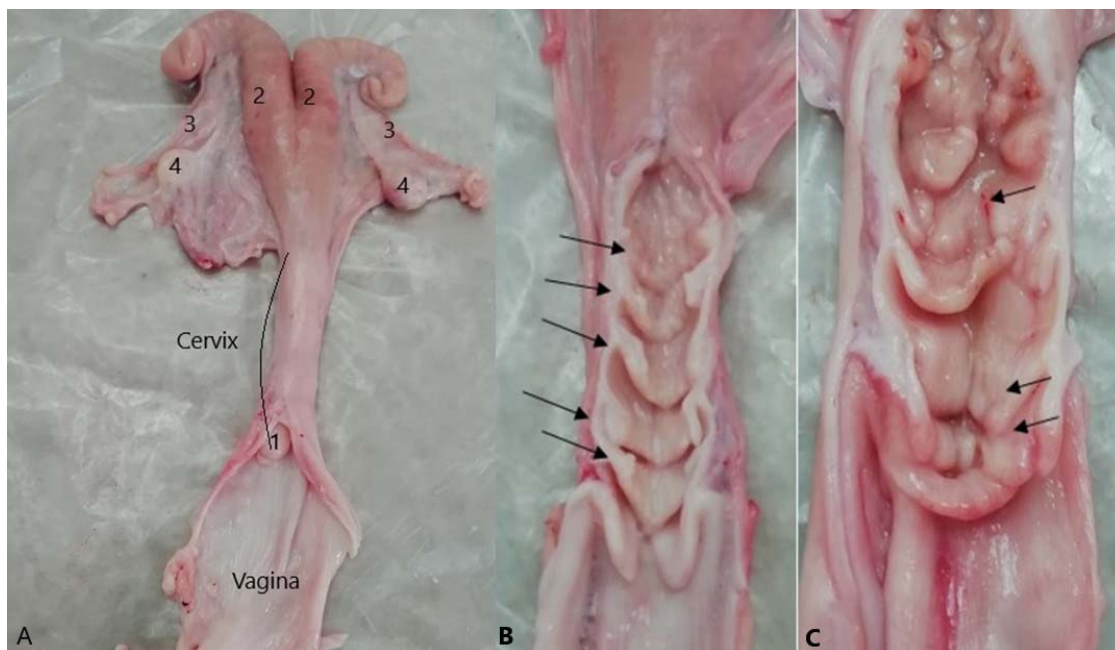
El aparato genital de la hembra ovina y caprina está compuesto por la vulva y su vestíbulo, la vagina, el útero; las trompas de Falopio y los ovarios (Imagen 3.11 A). El útero comprende el cuello o cérvix uterino, un pequeño cuerpo y dos cuernos. La vagina mide aproximadamente 8 cm de longitud, el cérvix varía en su largo entre 5 a 10 cm, el cuerpo no mayor a 2cm y los

cuernos uterinos tienen 10-12 cm de longitud. Tanto el cuello uterino de la oveja como el de la cabra presentan entre 5-7 pliegues cervicales o anillos fibrocartilaginosos que no se encuentran alineados ni son completos, con una forma similar a un cono truncado orientado hacia la vagina, lo cual produce una disminución del espacio cervical y un trayecto sinuoso del mismo (Imagen 3.11 B y C). Así mismo, la os cervical u orificio cervical caudal presenta, generalmente, cuatro tipos de formas básicas debido a la presencia o no de pliegues. Estas formas se clasifican en: pico de pato, flap (o tapa), roseta y espiral.

Lugar de deposición de la dosis inseminante

La inseminación artificial cervical consiste en el depósito del semen en el cuello uterino a la mayor profundidad posible, lográndose, en ocasiones, atravesar por completo el canal cervical (IA intrauterina transcervical). Sin embargo, el grado de penetración cervical no solo es dependiente del diámetro y forma del canal cervical sino que también es dependiente del instrumental a usar. Dependiendo del instrumental y de las características particulares de cada cérvix se podrá lograr una mayor o menor profundidad de siembra.

Imagen 3.11



Nota. A) Partes constitutivas del aparato genital de la hembra: os cervical (1), cuernos uterinos (2), trompas de Falopio (3) y ovarios (4). B) Cuello uterino ovino con anillos completos (flechas) y canal cervical recto de mayor facilidad de atravesarse. C) Cuello uterino ovino con anillos incompletos (flechas) y canal cervical sinuoso (Gómez M.V.)

Cuando la IA se lleva a cabo sin el auxilio de un vaginoscopio o espéculo para la localización del cérvix, la dosis inseminante se depositará en el fondo de la vagina en la cercanía del cérvix denominándose a esta técnica *vaginal profunda* (Imagen 3.12 A). De contarse con un vaginoscopio o un espéculo se podrá observar y localizar el orificio cervical y por ende tratar de canalizar al mismo si el tipo de instrumental lo permite. Cuando la deposición de la dosis seminal se realiza alrededor o en la os cervical, o bien se penetra levemente en el canal se denomina IA *exocervical* (Imagen 3.12 B y C)

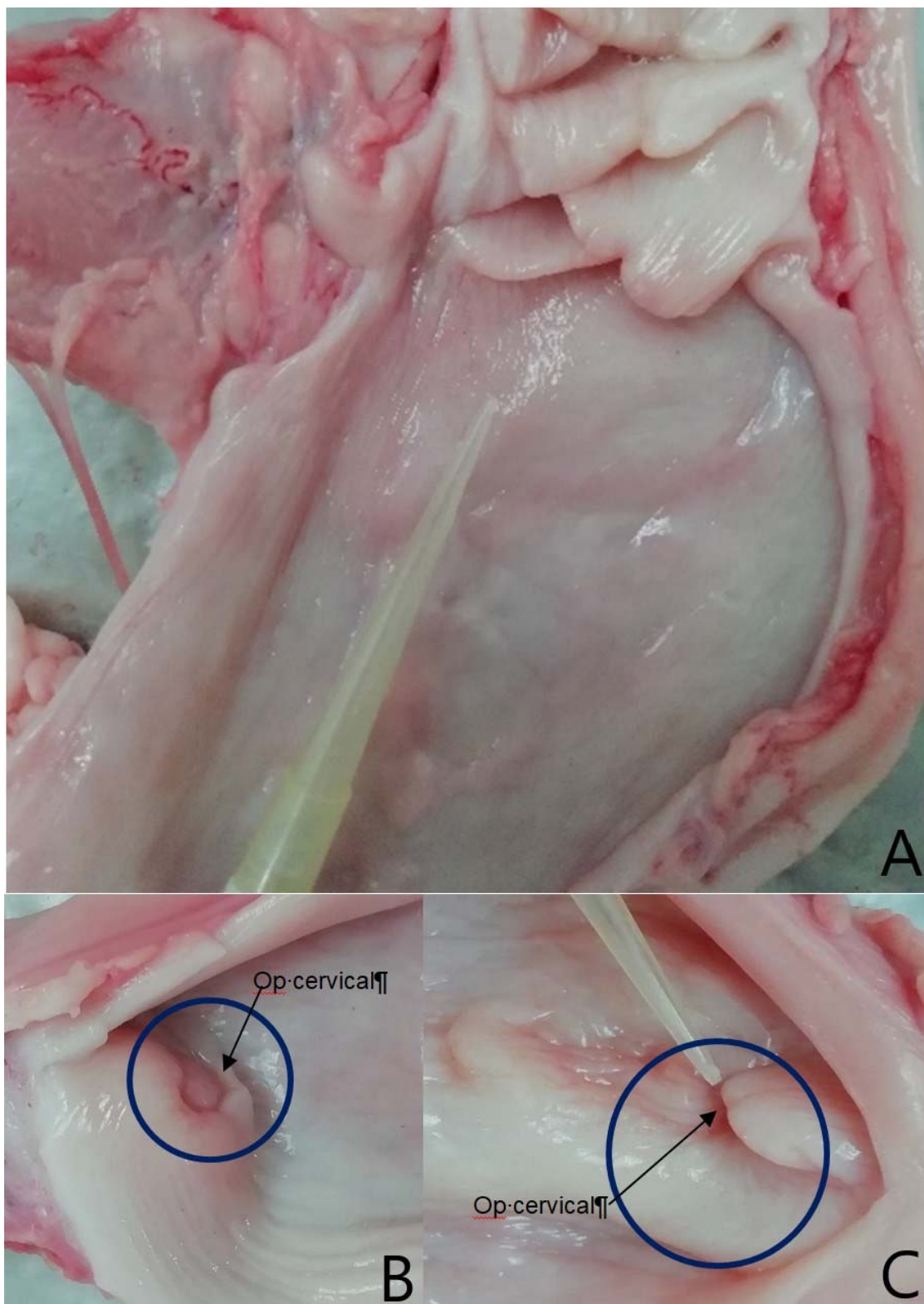
Acorde al grado de penetración que se logre cateterizar del cuello uterino, la IA se denominará *cervical*, cuando se logre atravesar el primer pliegue cervical y no más allá del segundo (Imagen 3.13 A y B), *cervical profunda* cuando el grado de penetración supere el 3 anillo cervical (≥ 4 cm) (Imagen 3.13 C) y cuando se logre traspasar el cérvix y depositar el semen en el cuerpo del útero denominaremos a la técnica como *transcervical intrauterina*.

Una de las técnicas para realizar la IA transcervical intrauterina es el denominado método Guelph. Para realizar este tipo de IA, la hembra puede sujetarse en estación en un brete o en una camilla en decúbito dorsal. Si bien no es un método muy utilizado en la práctica; para llevarlo a cabo se introduce un espéculo y se localiza el cérvix, el cual se sujeta con un par de fórceps de Bozeman y se realiza la tracción del cérvix hacia la vulva. De esta manera, se logra una mayor visualización y apertura del orificio cervical y mantener el cérvix con firmeza lo cual permite maniobrar y ejercer mayor fuerza para canalizar el canal cervical. El método Guelph, en líneas generales, permite realizar la IA intrauterina en el 75% de las veces con un % de gestación variable (32-45%) al utilizarse dosis de semen congelado-descongelado. Así mismo, es considerada una técnica cruenta debido a la tracción y a las posibles lesiones y procesos inflamatorios que se podrían producir en el cérvix. El tiempo de ejecución es de 2 a 6 minutos aproximadamente.

Momento de la IA

El momento de la IA dependerá si la misma se realiza a celo detectado (IACD) o bien a tiempo fijo (IATF) y la posibilidad de utilizar una u otra depende del tipo de protocolo de sincronización de celos que se ha utilizado. Los protocolos de sincronización de celos comúnmente utilizados están basados en la aplicación de PGF o del empleo de dispositivos intravaginales impregnados con P₄ o progestágenos (DIV). La aplicación de una o dos dosis de PGF o el uso de DIV solo produce una dispersión de celos durante las 72h posteriores a la última aplicación o retiro del DIV, por lo cual generalmente se realiza la detección de celos previo a la IA. En cambio, los protocolos que permiten el uso de IATF no solo inducen celos sincronizados sino que también provocan la sincronización de las ondas foliculares y el momento de la ovulación, hechos que permiten que la IA se realice en un tiempo determinado. Uno de los protocolos de sincronización de celos mayormente empleado para IATF es mediante el empleo de dispositivos intravaginales impregnados con P₄ o progestágenos junto con la aplicación de eCG.

Imagen 3.12



Nota. La punta del tip amarillo indica el sitio de deposición de la dosis seminal. A) IA vaginal profunda. B) Orificio cervical (op) en forma de roseta (círculo). C) IA exocervical. Orificio cervical en forma de flap o tapa (círculo) (Gómez, M.V.)

Imagen 3.13

Sitio de deposición en la IA cervical



Nota. A) El tip solamente puede penetrar una corta distancia dentro del cérvix. B) Corte longitudinal del cuello uterino donde se visualiza que el tip ha transpuesto el primer anillo cervical C) Sitio de deposición en la IA cervical profunda (Gómez, M.V.)

La IACD por vía cervical se realiza a las 12h luego de detectado el celo de la hembra. En caso de realizar una doble inseminación, la segunda se realizará a las 12h de la primera. La IATF, en términos generales, se realiza a las 50-55h de retirado el dispositivo intravaginal.

Cuando realizamos la vaginoscopía podemos observar las características del mucus cervical, el cual varía sus características durante el celo. El moco cervical inicialmente se presenta claro y escaso, se hace abundante y opalescente (nuboso), y luego se incrementa su densidad siendo espeso, cremoso y finalmente caseoso. La ovulación generalmente coincide con un mucus cervical espeso o cremoso, obteniéndose los mejores resultados cuando el mucus se presenta claro a opalescente y abundante.

Técnica de inseminación

Una vez sujeta y preparada la hembra para el procedimiento de inseminación procedemos a higienizar la región vulvar mediante una torunda humedecida y luego secamos con papel absorbente (Imagen 3.14 A).

El vaginoscopio o el espéculo deben estar limpios, secos y atemperados. Para introducirlo, primero se procede manualmente a la apertura de los labios vulvares y luego se lo introduce en dirección al techo y fondo de vagina (cráneo-dorsal) con suaves y leves movimientos rotatorios en forma paralela a la columna vertebral. Los espéculos deben ser introducidos con las valvas cerradas coincidiendo su eje mayor con el eje vulvar y deben retirarse abiertos para evitar pellizcar la mucosa vaginal (Imagen 3.9 A y B). Puede ocurrir que el animal orine durante la sujeción o al introducir el vaginoscopio. Si la orina se acumula en la vagina se eliminará por completo y se procederá a lavar con solución salina o en su defecto separaremos la hembra para su posterior inseminación. También, si en el fondo de la vagina hubiese abundante mucus que impidiera ver el cérvix, se lo extrae con una pipeta adosada a una pera de goma o una jeringa de 10ml y procedemos a ubicar el orificio cervical. Mientras se realiza la vaginoscopía, un auxiliar cargará la pistola multidosis con las dosis inseminantes o bien una dosis de 0,1ml con la pipeta monodosis (Imagen 3.14 B). El instrumental deberá estar atemperado a una temperatura similar a la cual están mantenidas las dosis seminales. Durante la carga de las pipetas monodosis, en primer término procederemos a cargar una columna de aire de aproximadamente 0,2ml previo a la carga de la dosis seminal. El aire tiene la función de expulsar toda la cantidad de semen presente en la pipeta. Luego de la carga, el auxiliar entrega la pipeta o pistola al inseminador quien coloca la misma dentro del vaginoscopio.

Una vez reconocido y localizado el orificio cervical (Imagen 3.14 C y D) se introduce la pistola de IA por dentro del vaginoscopio y se intenta penetrar el cérvix. Como se mencionó con anterioridad con la pistola multidosis no se puede canalizar el cérvix o no más allá de 0,5cm; por lo cual la inseminación será de tipo exocervical (Imagen 3.14 E). Con las pistolas monodosis se podrá canalizar el cérvix en una profundidad variable, buscando sortear los anillos cervicales hasta que se encuentre un impedimento para continuar. Al encontrar un tope se retira levemente el instrumental para evitar el reflujo seminal y se descarga la dosis de

semen. Esta última maniobra también la realizaremos con las pistolas multidosis, evitando así el reflujo de la dosis inseminante. Por último, luego de la deposición seminal, se retira el instrumental junto con el vaginoscopio (Imagen 3.14 F). La cateterización del canal cervical en las cabras suele ser más fácil con respecto a los ovinos, ya que los anillos cervicales mayormente se disponen de manera tal que el canal cervical tiende a ser recto, lineal, por lo cual se logra una mayor profundidad de siembra y en el 30-50% de las ocasiones se logra inseminar intrauterinamente. Sin embargo, el proceso de canalización podría estar limitado por el tamaño del cérvix de algunas razas caprinas.

Imagen 3.14



Nota. A) Limpieza de la región vulvar. B) Pistola de inseminación multidosis cargada con semen diluído. C) Vaginoscopía. D) Localización y observación del os cervical E) Momento de la IA. F) Retiro conjunto del vaginoscopio y pistola de inseminar (Fernández Abella, D.H. y Seillant, C.A.)

El vaginoscopio o espéculo, luego de su uso debe ser lavado y secado por completo antes de volver a ser utilizado, para evitar la transmisión de enfermedades entre animales por lo que se recomienda poseer al menos dos vaginoscopios. En caso de que la pipeta o pistola se contaminen durante la IA deben cambiarse por otras limpias y secas. En caso de utilizar las pipetas monodosis se sustituye el tip empleado y en el caso de las pistolas tipo universal para semen congelado se sustituye la vaina protectora.

Inseminación artificial intrauterina laparoscópica

Proceso de inseminación artificial

La vía laparoscópica para la inseminación intrauterina es la vía de preferencia cuando se utiliza semen congelado/descongelado ya que esta técnica quirúrgica evita la barrera del cuello uterino y permite la deposición de la dosis seminal se realice directamente en ambos cuernos uterinos (Imagen 3.15). Así mismo, si se cuenta con el equipo adecuado y personal entrenado es posible inseminar hasta 150 hembras por inseminador. Esta técnica permite obtener porcentajes de preñez superiores a las demás técnicas y con un número menor de espermatozoides por dosis.

Previo a la IA intrauterina laparoscópica, las hembras deben ayunar al menos 12 horas, privándolas de agua y alimento. De ser posible el ayuno sólido debe ser de 24 horas. De esta manera disminuye el contenido ruminal y de la vejiga, lo cual disminuye el riesgo de penetrar los mencionados órganos al utilizar el trócar, permite una mejor visualización del útero y se evita la regurgitación durante el proceso quirúrgico.

Para la IA por vía laparoscópica es recomendable un lugar cerrado o protegido de las inclemencias climáticas. Las hembras deben ser sujetadas de cúbito supino o dorsal por medio de una camilla, la cual posee correas o similar que permite la sujeción de cada miembro y, de ser posible, que esté provista de ruedas para poder realizar la preparación del animal en una zona y la inseminación en otra. La camilla se eleva a 40° o más de manera que la hembra quede inclinada con sus cuartos traseros elevados. Es recomendable poseer al menos dos camillas ya que de esta forma mientras se realiza a inseminación en un animal, se prepara otra hembra en la segunda camilla (Imágenes 3.16 A y B).

Imagen 3.15

Inseminación artificial laparoscópica



Nota. (Gómez M.V.)

Imagen 3.16



Nota. A) Sujeción en la camilla de IA B) Sujeción y posición de la oveja para IA laparoscópica (Gómez MV, 2018)

El instrumental necesario para realizar la técnica de inseminación artificial por laparoscopia consiste en dos (2) trócares, uno de 5mm (para el inyector de inseminación denominado Aspico) y otro de 7-10mm (para el laparoscopio), un inyector de inseminación, un endoscopio, una fuente de luz y una fuente de insuflación de aire estéril o CO₂ (Imagen 3.17). Todo el equipamiento debe encontrarse sumergido en solución estéril.

Imagen 3.17



Nota. 1) Inyector de inseminación 2) Trócares para IA laparoscópica; b: (Gómez, M.V.)

Técnica de inseminación artificial intrauterina laparoscópica

La hembra se coloca de cubito dorsal sobre una camilla, sujetándose los miembros (Imágenes 3.16A) y se inclina a 45° de manera que la cabeza quede hacia abajo (3.16B y 3.20B). De esta manera se logra que las vísceras abdominales se desplacen hacia craneal permitiendo una mejor visualización del útero al momento de la IA. Puede utilizarse una sedación suave para un mejor manejo de la hembra y disminuir el stress animal. Se esquila un área del tamaño aproximado de la palma de una mano por delante de la ubre y se la rasura (Imagen 3.18 y 3.20C). Posteriormente se limpia la piel del área rasurada con jabón antiséptico. Luego se realiza la anestesia local por vía subcutánea con clorhidrato de lidocaína, a unos 5 cm anteriores a la ubre y 4 cm laterales a la línea media, evitando los vasos sanguíneos. En el área anestesiada se procederá a realizar el abordaje de la cavidad abdominal mediante trocarización a ambos lados de la línea media (Imagen 3.18 y 3.20C). Previo a las trocarizaciones puede realizarse una incisión en la piel de 1cm para facilitar la perforación del trócar y ejercer una menor fuerza. La trocarización se realiza colocando el trocar casi en paralelo a la piel y luego, perpendicularmente, se atraviesa la pared muscular del abdomen y el omento mayor. La primer trocarización se realiza con el trocar de 10mm por donde se insuflará la cavidad abdominal. La distensión abdominal causada por el aire permitirá una mejor una visualización de los órganos genitales (Imagen 3.20D).

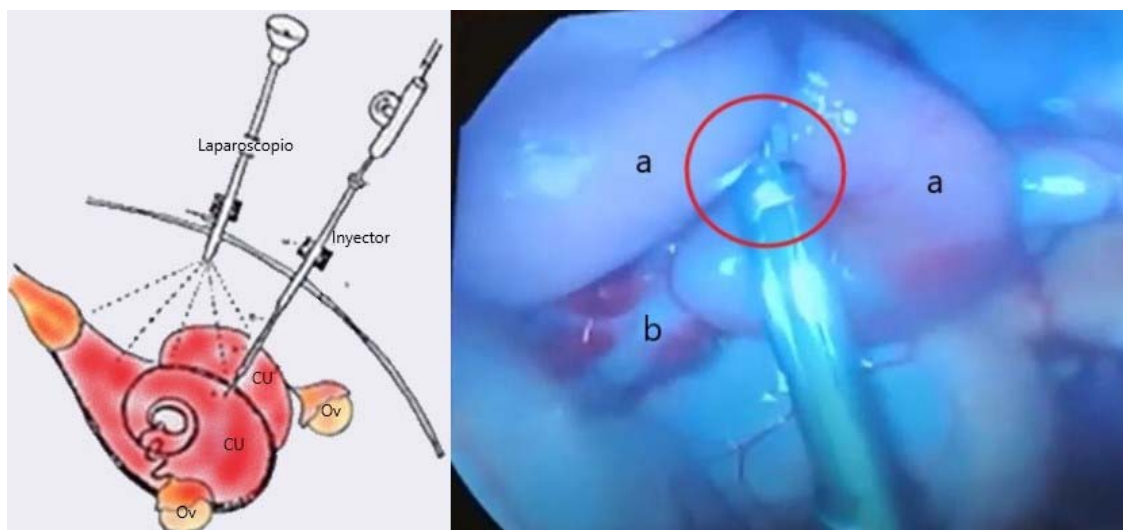
Imagen 3.18



Nota. Área quirúrgica abdominal rasurada donde se realizan la trocarizaciones (círculo rojo) (Gómez, M.V.)

Se introduce el laparoscopio por la cánula, con el objetivo de visualizar los cuernos uterinos (Imagen 3.20E). El útero se localiza en craneal a la vejiga, pudiendo estar debajo debido a la posición del animal. Paso seguido, se realiza la segunda trocarización abdominal (trocar de 5mm) en el lado opuesto a la primera. Un auxiliar debe preparar el inyector de inseminación momentos antes de la segunda trocarización, luego de la cual, se retira el trócar y se introduce el inyector de inseminación, el que se puede utilizar para reubicar el útero en el campo visual de ser necesario (Imagen 3.20F). Si el operador es diestro es recomendable que utilice el laparoscopio con su mano izquierda y con la mano derecha el inyector, y a la inversa si es zurdo. Una vez localizado el sitio de inseminación, entre el tercio anterior y medio de la curvatura mayor del útero, se exterioriza la aguja del inyector y se perfora la pared uterina en forma perpendicular a la pared, hasta llegar a la luz de dicho órgano (Imagen 3.19 A y B; 3.20F). Se realiza la descarga de la mitad de la dosis correspondiente y se repite la operación en el otro cuerno uterino.

Imagen 3.19



Nota. A) Representación esquemática del sitio de inseminación artificial vía laparoscópica (Adaptado de Fernández Abella) B) Imagen laparoscópica del sitio de inseminación (círculo rojo) en el cuerno uterino. (a) Cuernos uterinos (b) Ovario. (Gómez, M.V.).

Se retira el instrumental, teniendo en cuenta de que antes de quitar la cánula de 10mm se libera el aire de la cavidad abdominal y se realiza la limpieza con antiséptico del abdomen y la aplicación de un antiparasitario externo que evite la formación de larvas de moscas (Imagen 3.20H). De ser necesario puede realizarse un punto de sutura en piel y aplicarse antibiótico por vía intramuscular. La hembra debe permanecer en un lugar tranquilo por un tiempo aproximado de una hora luego de la laparoscopia.

Al finalizar la IA se deben registrar las observaciones o complicaciones presentadas durante la realización de la IA y se deberá procurar que las hembras queden alojadas en un lugar tranquilo y al reparo durante al menos dos horas post-IA.

Procedimiento para descongelar pajuelas de semen

Las pajuelas de semen se encuentran conservadas en un termo de nitrógeno líquido a una temperatura de -196°C . Para retirar las mismas debemos elevar el canastillo hasta la boca del termo y se retira individualmente con una pinza larga preenfriada. Se recomienda el uso de guantes gruesos y antiparras para realizar esta maniobra por posibles salpicaduras de nitrógeno líquido. Una vez retirada la pajuela se la coloca en baño María a una temperatura de 37°C durante 30 segundos. Se la retira del baño María y se la seca con papel absorbente y se corta la pajuela por el extremo donde se encuentra sellada, generalmente un tapón de alcoholpolivinílico, en forma perpendicular. Se coloca la pajuela dentro de la pistola de inseminación y se cubre el conjunto con la vaina correspondiente y se ajusta posteriormente con la arandela. Por último, se empuja suavemente el émbolo hasta que aparezca una pequeña gota por el extremo inseminante de la pistola.

Se recomienda, previo al proceso de inseminación, que se evalúe microscópicamente las dosis seminales. Las pajuelas descongeladas deben reunir ciertos requisitos mínimos (Tabla 3.2).

Tabla 3.2

Valores mínimos aceptables al descongelamiento de la pajuela de 0,25ml

Parámetro	Valor mínimo aceptable
Dosis inseminante	20 (10-50) $\times 10^6$ espermatozoides/pajuela
% espermatozoides vivos	40-60%
Motilidad individual	$\geq 50\%$
Vigor	≥ 3

Imagen 3.20

Secuencia del procedimiento de inseminación laparoscópica



Nota. A) Preparación del instrumental B) Preparación del animal C) Trocarización D) Insuflando de la cavidad abdominal E) Introducción del laparoscopio F) Preparación del material a inseminar G) Inseminación de la oveja H) Desinfección de la zona quirúrgica (Seillant, C.A.)

Resultados del proceso de inseminación

Los resultados que se obtienen mediante el proceso de IA son variables (Tabla 3.3). Como se ha desarrollado anteriormente, estos resultados son dependientes del protocolo de sincronización de celos utilizado, si la IA se realizó a celo detectado o a tiempo fijo, la vía y técnica de inseminación, el tipo de conservación del semen, factores inherentes a la especie y a la raza o craza, sin dejar de considerar factores humanos y aquellos que influyen sobre éste, así como factores ambientales y propios del establecimiento (manejo, instalaciones, entre otros).

Debido a la multiplicidad de los factores que influyen sobre la resultante del proceso de IA, el resultado nunca será mayor al menor de sus factores. A modo de ejemplificar tomaremos 4 factores: el protocolo sincronización (A), el semen (B), el inseminador (C) y la condición de las hembras (D). Le asignaremos un valor y la multiplicación de estos factores nos dará una potencial resultante del proceso de IA

$$A \times B \times C \times D = \text{resultante del proceso de IA}$$

A cada factor le asignamos un valor, por ejemplo:

$$90\% \times 90\% \times 90\% \times 80\% = 58,3\%$$

Observamos que partiendo de valores muy buenos podríamos esperar alrededor de 60% de gestación.

Ahora bien, supongamos que el semen congelado fue mal conservado y las restantes condiciones se mantienen constantes:

$$A \times B \times C \times D = \text{resultante del proceso de IA}$$

$$90\% \times 10\% \times 90\% \times 80\% = 6,48\%$$

El resultado a esperar sería de 6,5% de gestación.

Otra situación sería que el inseminador no tuviese la suficiente experiencia y le asignamos un valor del 65% de eficiencia mientras que los demás factores se mantienen como en el primer ejemplo, el resultado sería:

$$90\% \times 90\% \times 65\% \times 80\% = 42,1\%$$

El resultado a esperar sería de 42% de gestación.

También, debemos prestar atención de qué manera fueron expresados los resultados de la inseminación, ya que en ocasiones los resultados no fueron expresados en % de preñez si no en % de parición. Además, también debemos considerar cuándo y con qué método se realizó el diagnóstico de gestación ya que en la medida que se realice con posterioridad a los 30 días de la inseminación cabe la posibilidad de que los resultados sean menores por la factibilidad de abortos.

Tabla 3.3

Porcentaje de preñez en relación a la vía de IA y la conservación de semen

Técnica de IA	Vía de IA	Conservación semen	% de preñez
Vaginal profunda	Vaginal	Fresco/refrigerado	40-50%
		Congelado-descongelado	10-15%
Cervical	Cervical	Fresco/refrigerado	40-65%
		Congelado-descongelado	10-30%
Intrauterina transcervical	Cervical (Método de Guelph)	Fresco/refrigerado	60-80%
		Congelado-descongelado	40-70%
Intrauterina laparoscópica	Laparoscopia	Fresco/refrigerado	70-90%
		Congelado-descongelado	50-80%

Bibliografía

- Alvarez M, Anel-Lopez L, Boixo JC, Chamorro C, Neila-Montero M, Montes-Garrido R, de Paz P, & Anel, L. (2019). Current challenges in sheep artificial insemination: A particular insight. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(S4), 32-40. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/rda.13523>.
- Anel L, Kaabi M, Abroug B, Alvarez M, Anel E, Boixo JC, de la Fuente LF, de Paz P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology*. 2005; 63(4):1235-47. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.07.001
- Bottaro M, Fossatti Leániz F, Gil J, Martincorena M A, Olivera J, & Regusci M. (2008). ¿Cuál es el momento óptimo de IATF con semen fresco en ovinos sincronizados con prostaglandinas? XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría.
- Casali R, Pinczak A, Cuadro F, Guillen-Muñoz JM, Mezzalira A, Menchaca A. Semen deposition by cervical, transcervical and intrauterine route for fixed-time artificial insemination (FTAI) in the ewe. *Theriogenology*. 2017; 103:30-35. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.07.021
- de Figueredo Freitas VJ, Rubianes E. Capítulo 7: Preparación de las hembras. Detección y control del estro y la ovulación. In: *Reproducción Ovina y Caprina*. 2004. Ed. Aisen E. Inter-médica Editorial. Buenos Aires, Argentina.
- Donovan A, Hanrahan J P, Kummen E, Duffy P, & Boland M P. (2004). Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Animal Reproduction Science*, 84(3-4), 359-368.

- <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.12.014>
- Eppleston J, Maxwell WM. Sources of variation in the reproductive performance of ewes inseminated with frozen-thawed ram semen by laparoscopy. *Theriogenology*. 1995; 43(4):777-88. doi: 10.1016/0093-691x(95)00020-9
- Evans G, Maxell WMC. Inseminación artificial de ovejas y cabras. 1990. Editorial Acribia. España.
- Fair S, Hanrahan JP, O'Meara CM, Duffy P, Rizos D, Wade M, Donovan A, Boland MP, Lonergan P, Evans AC. Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. *Theriogenology*. 2005 15; 63(7):1995-2005. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.09.005
- Fernandez J, Bruno-Galarraga MM, Soto AT, de la Sota RL, Cueto MI, Lacau-Mengido IM, Gibbons AE. Effect of GnRH or hCG administration on Day 4 post insemination on reproductive performance in Merino sheep of North Patagonia. *Theriogenology*. 2019; 126:63-67. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.12.008.
- Fernandez-Abella D, Preve MO, Villegas N. Insemination time and dilution rate of cooled and chilled ram semen affects fertility. *Theriogenology*. 2003; 60(1):21-6. doi: 10.1016/s0093-691x(02)01041-5
- Franco, J. A. Q., Heredia, M., & Rivera, O. L. R. Detección del estro en un rebaño de ovejas pelibue y con utilización de hembras androgenizadas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 1988; 26(1), 1-7.
- Fierro S, Olivera J, Gil J. 2007. Inseminación artificial a tiempo fijo con semen fresco y refrigerado en ovinos con el protocolo synchrovine. XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría.
- Gourley DD, Riese RL. Laparoscopic artificial insemination in sheep. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 1990 6(3):615-33. doi: 10.1016/s0749-0720(15)30836-7
- Gómez MV. Evaluación de protocolos de sincronización de celos con progesterona y benzoato de estradiol para inseminación artificial a tiempo fijo en ovinos. Tesis doctoral – Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata. 2020. <https://doi.org/10.35537/10915/111878>
- Gourley DD, Riese RL. Laparoscopic Artificial Insemination in Sheep. 1990. *Vet. Clin. North Amer.: Food Animal Practice*; 6 (3): 615-633.
- Hiwasa M, Kohno H, Togari T, Okabe K, Fukui Y Fertility after different artificial insemination methods using a synthetic semen extender in sheep. *J Reprod Dev*. 2009 Feb; 55(1):50-4. doi: 10.1262/jrd.20062.
- Kershaw CM, Khalid M, McGowan MR, Ingram K, Leethongdee S, Wax G, Scaramuzzi RJ. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*. 2005; 64(5):1225-35. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.02.017
- Kumar D, Naqvi SM. Effect of time and depth of insemination on fertility of Bharat Merino sheep inseminated trans-cervical with frozen-thawed semen. *J Anim Sci Technol*. 2014; 56:8. doi:

10.1186/2055-0391-56-8.

- Macías A, Ferrer LM, Ramos JJ, Lidón I, Rebollar R, Lacasta D, Tejedor MT. Technical Note: A new device for cervical insemination of sheep - design and field test. *J Anim Sci.* 2017; 95(12):5263-5269. doi: 10.2527/jas2017.1951
- Martínez Rojero RD, Reyna Santamaría L. Uso de testosterona en hembras caprinas adultas para la inducción de comportamiento de macho para la detección de estros. *Avances en Investigación Agropecuaria.* 2016; 20(1): 15-22
- Masoudi R, Zare Shahneh A, Towhidi A, Kohram H, Akbarisharif A, Sharafi M. Fertility response of artificial insemination methods in sheep with fresh and frozen-thawed semen. *Cryobiology.* 2017; 74:77-80. doi: 10.1016/j.cryobiol.2016.11.012.
- McCappin N, Murray RD. Some factors affecting pregnancy rate in ewes following laparoscopic artificial insemination. *Vet Rec.* 2011 29; 168(4):99. doi: 10.1136/vr.c5979
- Palacín I, Yániz JL, Fantova E, Blasco ME, Quintín-Casorrán FJ, Sevilla-Mur E, Santolaria P. Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled semen in meat sheep. *Anim Reprod Sci.* 2012 Jun; 132(3-4):139-44. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.05.005
- Paulenz H, Adnøy T, Fossen OH, Söderquist L, Berg KA. Effect of deposition site and sperm number on the fertility of sheep inseminated with liquid semen. *Vet Rec.* 2002 Mar 9; 150(10):299-302. doi: 10.1136/vr.150.10.299
- Purdy PH, Mocé E, Stobart R, Murdoch WJ, Moss GE, Larson B, Ramsey S, Graham JK, Blackburn HD. The fertility of ram sperm held for 24h at 5 degrees C prior to cryopreservation. *Anim Reprod Sci.* 2010; 118(2-4):231-5. doi: 10.1016/j.anireprosci.2009.06.014
- Robinson JJ, McKelvey WA, King ME, Mitchell SE, Mylne MJ, McEvoy TG, Dingwall WS, Williams LM Traversing the ovine cervix - a challenge for cryopreserved semen and creative science. *Animal.* 2011; 5(11):1791-804. doi: 10.1017/S1751731111000978
- Rodríguez Gavancho F, Muscari J, Sacsara R. Características morfológicas del cuello uterino de la oveja Corriedale. *Spermova,* 2015; 5(1): 71-74
- Sathe SR. Laparoscopic Artificial Insemination Technique in Small Ruminants-A Procedure Review. *Front Vet Sci.* 2018 23; 5:266. doi: 10.3389/fvets.2018.00266.
- Seillant, C.A; de la Sota, R.L.; Soto, A.T. Eficiencia de la inseminación artificial por vía laparoscópica en ovejas de núcleo genético bajo condiciones comerciales en la Mesopotamia Argentina durante el período 2004/06. 2007. V Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.
- Sisson S. Capítulo 31: Sistema urogenital de los rumiantes. In: *Anatomía de los animales domésticos.* Tomo I.1985. Reimpresión. Quinta Edición. Ed. Getty R. Salvat Editores, S.A. Barcelona, España.
- Windsor DP, Széll AZ, Buschbeck C, Edward AY, Milton JT, Buckrell BC. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen-thawed semen. *Theriogenology.* 1994; 42(1):147-57. doi: 10.1016/0093-691x(94)90671-5

CAPÍTULO 4

DetECCIÓN DE CELOS

Carlos Alberto Seillant

Introducción

La sintomatología del celo de una hembra ovina o caprina es inespecífica, si bien la hembra caprina presenta determinadas características. Una hembra ovina presenta edema y eritema vulvar, lo cual generalmente es poco visible debido a la cubierta lanosa de las regiones adyacentes, y además tiene una actitud activa en su conducta sexual, más notoria en la cabra, buscando al macho y permaneciendo cerca de él. En la hembra caprina, además de tener la sintomatología que se presenta en la hembra ovina, se encuentra descrito que se incrementa notablemente la frecuencia de movimientos de la cola y en una baja proporción de hembras ($\leq 5\%$) presentan una secreción seromucosa por la hendidura vulvar o se montan entre ellas. Por lo descrito, se considera en la práctica que las hembras de ambas especies *no tienen sintomatología estral* por lo cual debemos recurrir a un macho para la identificación del celo, el cual se denomina *macho retajo*.

El macho retajo, también llamado retarjo o recela, es aquel animal utilizado para identificar el celo para lo cual se realiza una intervención que le permita mantener su capacidad de monta y libido aunque tiene la incapacidad de fecundar. Para la realización de un retajo se puede recurrir a diversas técnicas quirúrgicas, a tratamientos hormonales o al empleo de arneses que impidan la cópula. Además, los retajos deberán tener puesto un arnés marcador o bien estar pintados en caudal a la región xifoidea para que la hembra en celo pueda ser detectada y visualizada por el operario a cargo (Imagen 4.1).

Imagen 4.1

Nota. Retajo marcando una hembra y hembra marcada (coloración roja en el anca) (Gil, J.)

La elección de machos para utilizar como retajos se basa principalmente en la eliminación de estos animales del plantel reproductor debido a la presencia de características fenotípicas indeseables. Todo animal que fuese seleccionado para retajo debe tener libido, potencia coeundi y ser apto sanitariamente. El hallazgo de lesiones en el aparato locomotor o columna vertebral, así como aplomos deficitarios dificultarían o impedirían la realización de la monta por lo cual no podrían marcar a la hembra en celo. Si bien no es necesario que tengan potencia generandi, no podrán utilizarse machos que posean patologías que originen potencia generandi que interfieran con la libido y la potencia coeundi como pudiera ser una orquitis aguda. Así mismo, ya que luego de la sincronización habrá un alto número de hembras en celo, los machos retajos deberán presentar una buena condición corporal (3,5-4). La detección de celos la podremos realizar tanto a campo como un corral, siendo esta última la más conveniente ya que facilita la tarea de separación de las hembras marcadas. Debemos tener en cuenta de que no haya una excesiva cantidad de hembras dentro del corral ya que podrían ser marcadas casualmente. Lo más conveniente es que los machos no permanezcan en el corral todo el tiempo si no introducirlos al menos cada 12h por el término de una hora. En caso que la detección se realice a campo, los potreros deberán recorrerse al menos dos veces al día para identificar y apartar las hembras marcadas. El porcentaje de retajos aconsejable para una correcta detección de celos varía entre un 4 y un 8% dependiendo si la detección es a corral o a campo.

Previo a la realización de cualquier tipo de retajo debemos plantearnos la conveniencia de la manutención de estos animales durante todo el año, relacionando el costo/beneficio económico

de esta opción, en definitiva el costo económico que conlleva la realización de inseminación a celo detectado frente al proceso de inseminación a tiempo fijo.

Preparación de animales para la marcación de celos

Preparación de machos enteros

Los machos enteros, tanto ovinos como caprinos, pueden ser utilizados para detectar celo siempre y cuando se los provea previamente de un delantal o chaleco que impida la cópula (Imagen 4.2). Para ello puede utilizarse un saco, tela fuerte o lona sujeto debajo de la cavidad abdominal de manera que al momento de la monta impida la penetración y en caso que eyaculara sea dentro del delantal. Existe el riesgo por un lado de que si el delantal está mal colocado se produzca la cópula y, por otro lado, pueden ocurrir procesos inflamatorios tales como-postitis, balanitis y balanopostitis, lo que redundaría en una disminución de la libido y del comportamiento sexual por parte del macho. Se recomienda un uso alternado de un día de trabajo y un día de descanso o recuperación, momento en el cual se le retira el delantal o chaleco hasta el día siguiente de trabajo. Los animales seleccionados para este fin deben tener libido comprobada, aptos sanitariamente y sin alteraciones locomotoras que le impidan o dificulten el salto.

Machos vasectomizados

La técnica usualmente utilizada para realizar un retajo es la vasectomía en la cual, a través de una intervención quirúrgica, se elimina una pequeña porción de ambos conductos deferentes. También puede realizarse la epididimectomía caudal, la cual corresponde al acto quirúrgico donde se extirpa la cola del epidídimo. Con cualquiera de las intervenciones mencionadas el macho mantiene su libido, pero es incapaz de fecundar a la hembra. La desviación peneana así como el corte del ligamento dorsal del pene no son intervenciones comunes de realizar ya que son cirugías de mayor complejidad, de un mayor tiempo de recuperación pos operatorio, de factible formación de adherencias entre la mucosa peneana y prepucial, y no se obtienen mejores resultados comparativos.

Para realizar la vasectomía se seda al carnero y se lo coloca en la camilla (Imagen 4.3 A). Una vez sujeto se rasura y desinfecta el campo de abordaje del canal inguinal, cordón espermático y dorsal del escroto (Imagen 4.3 A). Luego se desplazan los testículos al fondo del escroto. Se realiza una anestesia local en la región del cordón espermático y luego se realiza una incisión longitudinal de aprox. 5 cm en la piel del cuello del escroto (Imagen 4.3 B y C); se toma el cordón espermático (arteria, vena y nervio testicular, músculo cremáster y conducto deferente) y se pasa una sonda acanalada por debajo y por inspección y palpación se ubica el

conducto deferente de aspecto blanquecino nacarado (Imagen 4.3 D y E). Se lo pinza y disecciona una porción no menor a 1cm y no mayor a 5 cm del conducto deferente (Imagen 4.3 F). Luego se hace lo propio con el otro conducto deferente. Para finalizar, se realiza uno o dos puntos de sutura, se desinfecta y se aplica un antibiótico de amplio espectro.

Imagen 4.2



Nota. Carnero con delantal (Seillant, CA).

Imagen 4.4



Nota. Secuencia de una vasectomía. Sujeción del carnero en la camilla y rasurado y limpieza de la región de abordaje (A). Incisión longitudinal en la piel del cuello del escroto (B y C), exposición del cordón espermático y ubicación del conducto del conducto deferente (Imagen 3 D y E).Disección del conducto deferente (Imagen 3 F) (Gil,J).

Animales androgenizados

La utilización de machos castrados, capones, como marcadores de celo es una herramienta posible de ser utilizada. Los animales deben ser clínicamente y sanitariamente aptos y para su uso efectivo deben ser tratados hormonalmente con propionato de testosterona. Básicamente el tratamiento hormonal consiste en la aplicación de tres dosis de propionato de testosterona cada siete días, coincidiendo la última dosis con el inicio de la detección de celos.

También existe la posibilidad de androgenizar hembras para la detección de celos. La androgenización de hembras posee las ventajas de usarse hembras de descarte, no implica un acto quirúrgico tal como la castración o la vasectomía, la rapidez con que las hembras reaccionan a la androgenización, la disminución del riesgo de transmisiones de enfermedades y el bajo costo económico que implica androgenizar a las hembras. En cabras se han obtenido resultados superiores a los obtenidos con machos enteros con delantal (~84% vs ~75%) y con ovejas androgenizadas se obtuvieron resultados superiores a la de los carneros con desviación de pene (~85% vs ~62%).

Uso de pinturas y arneses en la detección de celos

Cualquiera sea la opción utilizada para detectar celos es necesario un elemento que marque a la hembra en celo para lo cual podemos colocar un arnés marcador el cual posee una tiza o pintura o bien pintura sobre el abdomen del retajo la cual coloreará la grupa de la hembra al ser montada (Imagen 4.4). El arnés debe utilizarse indefectiblemente en el caso que se utilicen machos enteros con delantal.

En el caso de los machos vasectomizados puede aplicarse directamente un ungüento pigmentado en base a grasa y ferrite o pintura sobre el abdomen por delante del prepucio y caudal a la región xifoidea como sustituto al arnés con marcador (Imágenes 4.5, 4.7). La pintura o el ungüento deben reponerse diariamente garantizándose la correcta marcación de las hembras en celo (Imagen 4.6).

Imagen 4.4



Nota. Macho caprino Saanen con arnés marcador. La flecha indica el lugar del marcador (Soto, A.T.)

Imagen 4.5



Nota. Lugar correcto de colocación de la pintura sobre la piel del abdomen del animal (Gil,J.)

Imagen 4.6



Nota. A) Hembra marcada dispuesta para ser inseminada B) Hembra marcada en celo con presencia de flujo estral C) Momento de separación de las ovejas detectadas en el celo. Se observan hembras marcadas y no marcadas. D) Ovejas marcadas separadas previo al proceso de inseminación artificial (Gil,J, y Seillant, C.A.)

Imagen 4.7



Nota. A) Lugar incorrecto de colocación de la pintura sobre la piel de la región peneana del abdomen del animal. B) Los símbolos indican los dos lugares incorrectos de colocación de la pintura marcadora (Adaptado de Gil, J.)

Bibliografía

- Alfonso, A Técnica quirúrgica en animales y temas de terapéutica quirúrgica. 3 Parte, 132-262. 5ta Edición 1986. Ed. Interamericana, México.
- Alfonso, A Técnica quirúrgica en animales y temas de terapéutica quirúrgica. 4 Parte, 319-335. 5ta Edición 1986. Ed. Interamericana, México.
- Bottaro M, Fossatti Leániz F, Gil J, Martincorena M A, Olivera J, & Regusci M. (2008). ¿Cuál es el momento óptimo de IATF con semen fresco en ovinos sincronizados con prostaglandinas? XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría.
- de Figueredo Freitas VJ, Rubianes E. Capítulo 7: Preparación de las hembras. Detección y control del estro y la ovulación. In: Reproducción Ovina y Caprina. 2004. Ed. Aisen E. Inter-médica Editorial. Buenos Aires, Argentina.
- Evans G, Maxell WMC. Inseminación artificial de ovejas y cabras. 1990. Editorial Acribia. España.
- Franco, J. A. Q., Heredia, M., & Rivera, O. L. R. Detección del estro en un rebaño de ovejas

- pelibuey con utilización de hembras androgenizadas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 1988; 26(1), 1-7.
- Gil, J. Manual práctico de inseminación artificial en ovinos. Departamento de Salud en sistemas pecuarios. Teriogenología –ovinos. Facultad de Veterinaria – Paysandú, Uruguay.
- Martínez Rojero RD, Reyna Santamaría L. Uso de testosterona en hembras caprinas adultas para la inducción de comportamiento de macho para la detección de estros. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 2016; 20(1): 15-22
- Seillant, C.A; de la Sota, R.L.; Soto, A.T. Eficiencia de la inseminación artificial por vía laparoscópica en ovejas de núcleo genético bajo condiciones comerciales en la Mesopotamia Argentina durante el período 2004/06. 2007. V Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.
- Sisson S. Capítulo 31: Sistema urogenital de los rumiantes. In: *Anatomía de los animales domésticos*. Tomo I. 1985. Reimpresión. Quinta Edición. Ed. Getty R. Salvat Editores, S.A. Barcelona, España.

Los autores

Soto, Andrés Telésforo

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV – UNLP). Doctor en Ciencias Veterinarias, (FCV – UNLP). Profesor Adjunto Ordinario, Docente Investigador, Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal (INIRA) - FCV – UNLP. Profesor Titular interino, Cátedra de Zootecnia General, FCV – UNLP. Director de proyectos de investigación y extensión relacionados con la reproducción y producción en pequeños rumiantes y cérvidos.

Gómez, María Verano

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV – UNLP). Especialista en docencia universitaria y entornos virtuales de aprendizaje (UNLP). Doctora en Ciencias Veterinarias (FCV – UNLP). Profesora Adjunta Ordinaria, Cátedra de Producción de ovinos y caprinos, FCV – UNLP. Docente-Investigador, Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal (INIRA) - FCV – UNLP. Directora de proyectos de investigación y extensión relacionados con la reproducción y producción en pequeños rumiantes y cérvidos.

Seillant, Carlos Alberto

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV – UNLP). Docente de la Cátedra de Producción de pequeños rumiantes y cerdos, Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAUS). Docente Tecnicatura Superior en Gestión de la Producción Agropecuaria - Instituto Superior de Curuzú Cuatiá, Corrientes. Actividad privada.

Soto, Andrés Telésforo

Reproducción en ovinos y caprinos : sincronización de celos e inseminación artificial /
Andrés Telésforo Soto ; María Verano Gómez ; Carlos Alberto Seillant. - 1a ed - La Plata :
Universidad Nacional de La Plata ; EDULP, 2024.
Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-950-34-2396-7

1. Reproducción. 2. Ganado Ovino. 3. Ganado Caprino. I. Gómez, María Verano II. Seillant,
Carlos Alberto III. Título
CDD 636.08982

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina
+54 221 644 7150
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2024
ISBN 978-950-34-2396-7
© 2024 - Edulp

n
naturales


Edulp
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA