

Universidad CEU Cardenal Herrera

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



Actualización de los sistemas de inducción de celos y ovulaciones en ovino

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Paula Martínez Ros

Dirigida por:

Dra. Susana Astiz Blanco

Dra. Empar García Roselló

Dr. Antonio González de Bulnes López

VALENCIA

2017

Los doctores Susana Astiz Blanco y Antonio González de Bulnes López, investigadores del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y la doctora Empar García Roselló, profesora del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad CEU Cardenal Herrera

CERTIFICAN

Que la presente memoria titulada “Actualización de los sistemas de detección de celos y ovulaciones en ovino”, ha sido realizada por Dña. Paula Martínez Ros, licenciada en Veterinaria por la Universidad CEU Cardenal Herrera, bajo su dirección y constituye la Memoria de Tesis para optar al título de Doctor por la Universidad CEU Cardenal Herrera.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firman el presente certificado en Moncada, a 8 de marzo de 2017.

Susana Astiz Blanco

Empar García Roselló

Antonio González de Bulnes López

“No sirve la ciencia
si no le acompaña el poder”

De *Las mil y una noches* (Anónimo)

A mis ovejas,
que tanto me enseñaron.

A mi padre,
que supo transmitirme
la pasión que siento
por esta noble especie.

A Javi,
la suerte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Quiero manifestar mi más sincero agradecimiento a cuantas personas me han ayudado a culminar la elaboración de la presente tesis, sin cuya participación ello no hubiera sido posible. Son tantas, que es posible que me olvide de alguien, si es así, pido disculpas de antemano.

A mis directores, Dra. Susana Astiz Blanco, Dra. Empar García Roselló y Dr. Antonio González de Bulnes López, por enseñarme, orientarme, ayudarme y confiar en mí. Gracias por vuestro tiempo, dedicación y sobre todo, por la inagotable paciencia que me habéis dispensado a lo largo de estos años, incluso en los momentos más difíciles, gracias por esperarme. Y de una forma muy especial, Susana, gracias por tu implicación, que ha ido más allá de lo profesional. Gracias por tu constancia y saber hacer, por tu apoyo y tu ánimo constante y, sobre todo, por tu gran valía profesional y personal.

A mis padres, porque todo cuanto soy os lo debo. No podemos escoger quién nos trae a este mundo, pero si agradecer la inmensa suerte de tener unos padres tan maravillosos como vosotros. Gracias por todo el esfuerzo, el apoyo y el cariño que habéis volcado en mí y en mi educación. Mamá, gracias por haber sido para mí un ejemplo de esfuerzo, lucha y constancia. Y a ti papá, gracias por toda la sabiduría que me has transmitido y por compartir conmigo mis ilusiones, porque sin tu ayuda no lo hubiese logrado. Acostumbrarme a no tenerte cada día a mi lado es lo más difícil que he hecho en mi vida, gracias por entender que era necesario hacerlo para poder seguir mi camino. De no haberlo hecho esta tesis hoy no sería una realidad. Gracias por todo lo que hemos compartido juntos.

Al resto de mi familia, Rosi, Pepe, Carmen, Sergio, Ruti, Gema, Roger, Tavi, Marc Bernad, Júlia, Vio, Sonia, Marc Boix y mi tete Óscar. Simplemente, gracias por ser parte de mi vida, especialmente a Ruti, porque no podría entender todo lo vivido sin ella a mi lado.

A Paco, a Pepe y a mi bisa, por haber sido ejemplo y fuente de inspiración para mí. Porque sin estar a mi lado nunca estuvisteis ausentes. Espero que, desde donde estéis, podáis sentirnos orgullosos de mí. Nunca dejéis de cuidarme.

A Mario y Tere, gracias por entender la pasión que siento por mi trabajo y que debido a eso, no pueda compartir con vosotros todo el tiempo que me gustaría.

A Noni y Jaime, por compartir conmigo la ilusión por mis proyectos. Gracias por alegraros por mis éxitos y compartirlos conmigo, pero sobre todo, gracias por estar ahí en los malos momentos, que en estos últimos tres años no han sido pocos.

A Darío y Paula, por entender que cuando hay que terminar una tesis, se deben aparcar los esquís, y además, saber hacerlo con una sonrisa. Gracias chicos por convertir unos días de duro trabajo en unas mini vacaciones inolvidables, os quiero mucho. Frank, a tí gracias por tu paciencia y tu hospitalidad.

Un agradecimiento muy especial a los becarios de la Granja Docente y de Investigación Veterinaria de la Universidad CEU Cardenal Herrera Marc, Eva y, muy especialmente, a Alejandro, el niño de mis ojos. También a mis queridos alumnos Borja, Pepe, Luis, Carla, Helena, Quique,... gracias por vuestra implicación durante aquellas largas noches de toma de muestras y vuestra ayuda cuando os he necesitado. Sois un gran equipo con una extraordinaria calidad humana y profesional. Mis más sinceros agradecimientos por vuestro apoyo físico y moral.

Al profesor Carlos Buxadé, por ayudarme a entender que, por mucho que duela, en la vida es necesario cerrar algunas puertas, de lo contrario, no se pueden abrir otras. Gracias por tus ánimos y tu motivación en la realización de esta tesis. Gracias amigo por tus consejos, que tanto me ayudan siempre en el ámbito profesional y en el personal.

Al profesor Adolfo Rodríguez Montesinos, por tirar de mí cada vez que me he venido abajo y ayudarme a ver la luz al final del túnel, porque resulta que sí había luz al final del túnel. Gracias por haber mantenido la constancia y la paciencia cada vez que yo la perdía.

A los compañeros de la Facultad de Veterinaria y de la Universidad que me han prestado su apoyo y su ayuda cuando los he necesitado. Emilio, Meri, Jordi, y tantos otros de los que no me olvido, gracias por vuestros ánimos y empuje. Mónica, gracias de todo corazón por tus consejos y tu ayuda. Y muy especialmente a Estrella, gracias por tu apoyo moral, por ayudarme a arrancar con las gráficas, pero sobre todo, gracias por estar ahí siempre que te he necesitado.

A los compañeros de la Facultad de Veterinaria y de la Universidad que me han prestado su apoyo y su ayuda, gracias por vuestros ánimos y empuje cuando los he necesitado. Emilio, Meri, Jordi, y tantos otros, gracias por los ánimos. aunque no os nombre a todos, no me olvido de vosotros. Gracias por estar ahí siempre que os he necesitado.

A Carla y Laura, gracias por acogerme en vuestra casa siempre que lo he necesitado, durante mi estancia en el INIA y en mis posteriores visitas. Y a la pequeña Olivia por hacer más felices mis estancias en Madrid.

A Teresa Segarra, gracias por acompañarme durante todo este tiempo, con todo lo que ello ha supuesto.

A Gemi, por todo lo que me has enseñado de ovejas, por poder sentirte tan cerca cada día estando tan lejos y aun en la distancia darme fuerzas para seguir adelante en cada uno de mis pasos, y porque siempre consigues arrancarme una sonrisa en los peores momentos, en los que nadie más en el mundo es capaz de hacerlo. Gracias por no haberme fallado nunca.

Por último, pero no por ello menos importante, a Javi. No encuentro palabras para expresar el regalo que eres cada día para mí, así que, si me lo permites, las tomaré prestadas del gran Barry White: "You are my first, my last, my everything". Gracias por haberte cruzado en mi camino.

... a todos cuantos me apoyaron y alentaron, GRACIAS.

ÍNDICE

ÍNDICE

1	Revisión bibliográfica	43
1.1	<i>La importancia del ganado ovino.....</i>	43
1.2	<i>El ganado ovino en el mundo.....</i>	44
1.3	<i>El ganado ovino en la Unión Europea</i>	46
1.4	<i>El ganado ovino en España</i>	48
1.5	<i>Descripción de las razas de interés para el presente trabajo.....</i>	51
1.6	<i>Fisiología de la reproducción. Ciclo estral y control neuroendocrino</i>	53
1.6.1	Fases del ciclo estral.....	56
1.6.2	Foliculogénesis	57
1.6.3	Dinámica folicular en la oveja	60
1.6.4	Ovulación, crecimiento y desarrollo del cuerpo lúteo.....	61
1.6.5	Ciclo sexual y estacionalidad en la oveja.....	63
1.7	<i>Manejo y control de la reproducción.....</i>	66
1.7.1	Progesterona, sus análogos (progestágenos) y eCG.....	68
1.7.2	Prostaglandina F2 α y sus análogos	71
1.7.3	Protocolos hormonales más utilizados en programas de monta natural	72
2	Justificación y objetivos.....	77
3	Material y Métodos.....	83
3.1	<i>Animales: base racial.....</i>	83
3.2	<i>Entorno experimental: instalaciones y manejo.....</i>	83
3.3	<i>Diseño experimental.....</i>	85
	Fase Experimental 1. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos e influencia de la época reproductiva y de la raza ovina.....	85
	Fase Experimental 2. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas, en fotoperiodo decreciente	90
	Fase Experimental 3. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre el	

porcentaje de gestación en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos largo (14 días) en fotoperiodo decreciente.....	93
Fase Experimental 4. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos corto (7 días) e influencia de la época reproductiva	95
3.4 <i>Análisis estadístico</i>	97
4 Resultados	101
4.1 <i>Fase experimental 1. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos e influencia de la época reproductiva y de la raza ovina</i>	101
4.1.1 Experimento 1.1 Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de gestación durante el fotoperiodo decreciente	102
4.1.2 Experimento 1.2 Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de gestación durante el fotoperiodo creciente	105
4.1.3 Influencia del fotoperiodo sobre las tasas de gestación y prolificidad	108
4.1.4 Influencia de la raza sobre el porcentaje de gestación y prolificidad.....	110
4.2 <i>Fase experimental 2. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas, en fotoperiodo decreciente</i>	111
4.2.1 Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de presentación de celo y momento de aparición del celo.....	112
4.2.2 Influencia del tipo de tratamiento sobre la dinámica de crecimiento folicular	115
4.2.3 Influencia del tipo de tratamiento sobre la liberación de estradiol.....	119
4.2.4 Influencia del tipo de tratamiento sobre el momento de aparición del pico de LH y sobre la concentración máxima de LH.....	121
4.2.5 Influencia del tipo de tratamiento sobre la tasa de ovulación y funcionalidad de cuerpos lúteos.....	123
4.3 <i>Fase experimental 3. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre el porcentaje de gestación en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos largo (14 días) en fotoperiodo creciente</i>	124
4.4 <i>Fase experimental 4. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre la</i>	

<i>funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos corto (7 días) e influencia de la época reproductiva</i>	126
4.4.1 Experimento 4.1 Fotoperiodo creciente.....	126
<i>Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de presentación de celo, momento de aparición del celo u agrupación de los celos</i>	126
<i>Influencia del tipo de tratamiento sobre el</i>	129
<i>Influencia del tipo de tratamiento sobre</i>	130
<i>Influencia del tipo de tratamiento sobre la</i>	131
4.4.2 Experimento 4.2 Fotoperiodo decreciente.....	132
5 Discusión	139
5.1 <i>Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos e influencia de la época reproductiva y de la raza ovina</i>	139
5.2 <i>Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas, en fotoperiodo decreciente</i>	146
5.3 <i>Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre el porcentaje de gestación en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos largo (14 días) en fotoperiodo creciente</i>	155
5.4 <i>Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos corto (7 días) e influencia de la época reproductiva</i>	160
6 Conclusiones	167
7 Bibliografía	171

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución continental del censo ovino (FAO STAT, 2015).....	44
Figura 2. Distribución, en Europa de las explotaciones y censo de distintos rumiantes entre zonas clasificadas o no como desfavorecidas (RICA, 2003).....	46
Figura 3. Distribución del censo de ovino por países en la UE-28 en el 2015 (EUROSTAT, 2016)	47
Figura 4. Distribución del censo de ovino en España por Comunidades Autónomas (SITRAN, 2016) ..	49
Figura 5. Evolución del censo de ovino en España entre los años 2006 y 2015 (MAGRAMA, 2016).....	50
Figura 6. Evolución del número de explotaciones de ovino en España entre el año 2007 y el año 2016 (SITRAN, 2016)	50
Figura 7. Esquema de activación/inhibición de la ciclicidad en la oveja mediante la melatonina. Fuente: Pathways to pregnancy and parturition. Senger, P. L. 2005	64
Figura 8. Protocolos de sincronización de celo en base a dispositivos intravaginales de progestágenos de duración “clásica” (grupo Control) o “corta” (grupos PG-Corto y Corto-PG), utilizados en la Fase Experimental 1.....	86
Figura 9. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	88
Figura 10. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	89
Figura 11. Protocolos de sincronización de celo en base a dispositivos intravaginales de progestágenos Grupo FGA o progesterona Grupo CIDR, utilizados en la Fase Experimental 3. Protocolo de sincronización largo, de 14 días.....	95
Figura 12. Protocolos de sincronización de celo en base a dispositivos intravaginales de progestágenos Grupo FGA o progesterona Grupo CIDR, utilizados en la Fase Experimental 4. Protocolo corto de sincronización de 7 días.....	96
Figura 13. Porcentaje de ovejas gestantes y no gestantes según grupo experimental durante el fotoperiodo decreciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	103
Figura 14. Porcentaje de ovejas que paren 1, 2, 3, 4 ó 5 corderos por parto dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo decreciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	104
Figura 15. Prolificidad media y error estándar en los distintos grupos de tratamiento administrados en fotoperiodo decreciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	104
Figura 16. Porcentaje de ovejas gestantes y no gestantes dependiendo del tipo de tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	105
Figura 17. Porcentaje de ovejas que paren 1, 2, 3, 4 ó 5 corderos por parto dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	106
Figura 18. Prolificidad media y error estándar en los distintos grupos de tratamiento administrados en fotoperiodo creciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	107

Figura 19. Porcentaje de ovejas gestantes y no gestantes dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo Largo: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo de tratamientos Cortos: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio o a la retirada + eCG a la retirada)	107
Figura 20. Porcentaje de ovejas que parieron 1, 2, 3, 4 ó 5 corderos por parto dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo Largo: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo de tratamientos Cortos: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio o a la retirada + eCG a la retirada).....	108
Figura 21. Efecto del fotoperiodo (creciente vs. decreciente) sobre el porcentaje de gestación en ovejas sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos.....	109
Figura 22. Efecto del fotoperiodo (creciente vs. decreciente) sobre la prolificidad media en ovejas sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos.....	109
Figura 23. Porcentaje de hembras gestantes y no gestantes según raza (lacaune, segureña o F1 del cruce de éstas con romanov) sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos.....	110
Figura 24. Porcentaje de ovejas con 1, 2, 3, 4 o 5 corderos por parto según razas (lacaune, segureña o F1 del cruce de éstas con romanov) sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos	111
Figura 25. Porcentaje de ovejas de cada grupo que mostraron celo en las horas posteriores a la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	114
Figura 26. Porcentaje de ovejas de cada grupo que salen en celo en las horas posteriores a la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	115
Figura 27. Número medio de folículos \geq a 4mm, divididos en medianos (4-5mm; barra roja) y grandes (\geq 6mm; barra azul), durante la fase folicular de ovejas pertenecientes a tres grupos distintos experimentales (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada)	116
Figura 28. Diámetro medio del mayor folículo en tamaño (F1; línea azul), del segundo mayor (F2; línea roja) y del resto de folículos (resto; línea verde) durante la fase folicular de ovejas pertenecientes a tres grupos distintos de tratamiento (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	117
Figura 29. Número medio de folículos mayores o iguales a 4mm, divididos en medianos (4-5mm; barra roja) y grandes (\geq 6mm; barra azul), durante la fase folicular de ovejas pertenecientes a tres grupos distintos de tratamiento (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	119
Figura 30. Niveles de estradiol medios (pg/ml) en cada grupo de tratamiento en las horas posteriores a la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada). a, b indican diferencias significativas entre grupos en cada momento de muestreo, con $P < 0,001$	120
Figura 31. Porcentaje absoluto (superior) y acumulado (inferior) de ovejas que presentaron descarga prevulatoria de LH (ng/ml) en cada grupo experimental en las horas posteriores a la aparición del celo (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7	

días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)..... 122

Figura 32. Número de CL y niveles medios de progesterona (ng/ml) en los distintos grupos de tratamiento 11 días después de la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento “largo” de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)..... 123

Figura 33. Tiempo medio (en horas) transcurrido entre la retirada de los dispositivos intravaginales y el momento en que salieron en celo las ovejas pertenecientes a los distintos grupos de tratamiento (grupo FGA, grupo CIDR), con los máximos y mínimos observados en cada grupo. Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)..... 127

Figura 34. Porcentaje de ovejas de cada grupo que presentaron celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)..... 128

Figura 35. Porcentaje de ovejas de cada grupo que presentaron celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)..... 129

Figura 36. Porcentaje absoluto (superior) y acumulativo (inferior) de ovejas que presentaron descarga proovulatoria de LH (ng/ml) en cada grupo de tratamiento en las horas posteriores a la aparición del celo (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada) 130

Figura 37. Niveles de estradiol medios (pg/ml) en cada grupo de tratamiento en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada); a y b indican diferencias significativas entre grupos en cada momento de muestreo, con P<0,0001 131

Figura 38. Número de CL y niveles medios de progesterona (ng/ml) en los distintos grupos de tratamiento 11 días después de la retirada de los dispositivos intravaginales. (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada); a y b indican diferencias significativas entre los dos grupos (P<0,0001)..... 132

Figura 39. Tiempo medio transcurrido entre la retirada de los dispositivos intravaginales y el momento de presentación de celo en ovejas pertenecientes a los distintos grupos experimentales (grupo FGA, grupo CIDR), con los máximos y mínimos observados en cada grupo (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)..... 133

Figura 40. Porcentaje de ovejas de cada grupo que mostró celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)..... 134

Figura 41. Porcentaje de ovejas de cada grupo que mostró celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada); a y b indican diferencias significativas entre los dos grupos con P=0,002; c y d indican diferencias significativas entre los dos grupos con P=0,019..... 135

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	87
Tabla 2. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF _{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF _{2α} y eCG a la retirada).....	89
Tabla 3. Número y porcentaje de animales por raza que se incluyeron en el estudio de distintos tratamientos de sincronización del celo basados en el uso de dispositivos intravaginales de progestágenos en fotoperiodo decreciente.....	101
Tabla 4. Número y porcentaje de animales por raza que se incluyeron en el estudio de distintos tratamientos de sincronización del celo basados en el uso de dispositivos intravaginales de progestágenos en fotoperiodo creciente.....	102
Tabla 5. Porcentaje de presentación de celo según grupo experimental.....	112
Tabla 6. Tiempo medio transcurrido (h) entre la retirada de las esponjas intravaginales y el momento en que salieron en celo las ovejas pertenecientes a los distintos grupos experimentales.....	113
Tabla 7. Media y desviación típica del momento de aparición del pico de LH, en horas, y concentración máxima de LH, en ng/ml, en las ovejas pertenecientes a los distintos grupos experimentales.....	121
Tabla 8. Número de animales de raza Lacaune de aptitud lechera que se incluyeron en cada grupo de tratamiento, valores medios de la edad, condición corporal y número de lactaciones.....	125
Tabla 9. Porcentaje de ovejas gestantes y prolificidad media en cada grupo experimental dependiendo del tipo de tratamiento administrado	125
Tabla 10. Duración del anestro en distintas razas ovinas pertenecientes a países de la Cuenca del Mediterráneo	141

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

°C	grados centígrados
°N	grados latitud norte
AUC	área bajo la curva
BMP-15	proteína morfogenética ósea 15
CC	condición corporal
CC.AA.	Comunidades Autónomas
CIDR	dispositivo interno de liberación controlada
CL	cuerpo lúteo
cord	cordero
d	días
E2	estradiol
eCG	gonadotropina coriónica equina
EGF	factor de crecimiento epidermal
ELISA	ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
F1	híbrido de primera generación
F ₁	tamaño del folículo más grande
F ₂	tamaño del segundo folículo más grande
F _{resto}	tamaño medio del resto de los folículos
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FAOSTAT	base de datos estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FEAGAS	Federación Española de Asociaciones de Ganado Selecto
FGA	acetato de flugestona
FGF	factor de crecimiento fibroblástico
FSH	hormona folículo estimulante
GnRH	hormona liberadora de gonadotropinas
GRA	folículos grandes
GRA CREC	folículos grandes en crecimiento
hCG	gonadotropina coriónica humana
IATF	inseminación artificial a tiempo fijo

IGF	factor de crecimiento insulínico
IGF-I	factor de crecimiento insulínico tipo I
INIA	Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria
LH	hormona luteinizante
MED	folículos medianos
MED CREC	folículos medianos en crecimiento
MGA	acetato de melengestrol
Mhz	megaherzios
MPA	acetato de medroxiprogesterona
msnm	metros sobre el nivel del mar
P4	progesterona
PAC	política agraria comunitaria
PDGF	factor de crecimiento derivado de las plaquetas
PGE ₂	prostaglandina E ₂
PGF _{2α}	prostaglandina F _{2α}
PGI ₂	prostaciclina
SITRAN	sistema integral de trazabilidad animal
TGF-β	factor de crecimiento transformante β
UE	Unión Europea
Vs.	<i>versus</i>

RESUMEN

RESUMEN

La administración de progestágenos es el método más utilizado como tratamiento para la sincronización de celos y ovulaciones en ganado ovino. En esencia, su aplicación deprime la secreción de LH y, con ello, impide el crecimiento terminal y la ovulación de folículos preovulatorios; una vez retirado el tratamiento, se produce la aparición del celo, el pico de LH y la ovulación de forma controlada y sincronizada. Sin embargo, y a pesar de su amplio uso, los tratamientos progestativos presentan varios inconvenientes. Por una parte, han sido identificados como agentes depresores de la fertilidad; por otro, su uso se encuentra cada vez más limitado debido, tanto a regulaciones sobre residuos hormonales de diferentes países, como a criterios de bienestar animal.

Es por ello por lo que en el presente trabajo de tesis doctoral se plantea como objetivo la identificación y desarrollo de protocolos de sincronización de celos y ovulaciones que tengan en consideración la mejora del bienestar animal y la disminución de residuos hormonales, investigando los efectos obtenidos al reducir el tiempo de exposición a los progestágenos en los protocolos hormonales y la utilización de otro tipo de dispositivo intravaginal basado en progesterona natural (CIDR).

En una primera fase experimental se evaluó el efecto de la reducción en el tiempo de tratamiento con progestágenos (acetato de fluorogestona o FGA), concretamente, de 14 a 7 días, y la posible influencia del fotoperiodo, la raza y la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ al inicio o final del tratamiento en el caso de los tratamientos cortos. Para ello se determinó el porcentaje de gestación y la prolificidad en tres grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + $\text{PGF}_{2\alpha}$ al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + $\text{PGF}_{2\alpha}$ y eCG a la retirada). Durante el fotoperiodo decreciente, el porcentaje de gestaciones fue semejante en los tres grupos (grupo control o tratamiento largo 76,7%, grupo Corto-PG 90,0% y grupo PG-Corto 80%). En lo referente a la prolificidad tampoco hubo diferencias significativas entre los tres grupos (grupo control $2,45 \pm 1,06$, grupo PG-Corto $2,76 \pm 1,05$ y grupo Corto-PG $2,30 \pm 1,07$). En el fotoperiodo creciente, los resultados tampoco difirieron significativamente entre grupos, en fertilidad (grupo control 80%, grupo PG-Corto 79,2% y grupo Corto-PG, 59,1%), aunque la reducción de fertilidad en el tratamiento Corto-PG en el fotoperiodo creciente, respecto del decreciente sí fue significativa. La prolificidad tampoco varió significativamente en este fotoperiodo (grupo control $2,42 \pm 1,10$, grupo PG-Corto $2,53 \pm 1,12$ y grupo Corto-PG $2,15 \pm 1,14$). Por lo tanto, la aplicación de tratamientos con dispositivos intravaginales impregnados con progestágenos puede ser reducida de los 14 días utilizados en los tratamientos clásicos a 7 días, siempre que se acompañen de la administración de prostaglandina, ya que se obtienen similares tasas de gestación y prolificidad.

En una segunda fase experimental se compararon los mismos métodos de sincronización de celos que en la fase experimental anterior, pero profundizando en los aspectos más fisiológicos referentes a la funcionalidad ovárica, hipofisaria y respuesta al tratamiento de sincronización tras la implementación de los distintos protocolos hormonales en la época favorable reproductiva (fotoperiodo decreciente).

En cuanto al porcentaje de animales que salieron en celo en las primeras 72h tras la retirada del dispositivo vaginal observamos un 100% (9/9), vs. 63,6% (7/11) vs. 90,0% (10/11) para los grupos control o largo, PG-Corto y Corto-PG, respectivamente, sin diferencias significativas, pero con tendencia en el caso del grupo con peor resultado (PG-Corto; $P=0,069$). El tiempo medio de salida en celo medido en horas fue similar entre los grupos (35,1h vs. 43,4h y 48h tras la retirada de los dispositivos vaginales), mientras que el rango de tiempos en el que las ovejas salían en celo (indicador de agrupación) era menor en el tratamiento Corto-PG (48h) respecto del tratamiento PG-Corto (62h).

En cuanto a la dinámica folicular, se observó principalmente, que el grupo de tratamiento Corto-PG daba lugar a un mayor reclutamiento y desarrollo folicular que resultaba en más folículos medianos al final de la fase folicular, en comparación con el otro grupo de tratamiento corto (PG-Corto). En lo que respecta a la fase luteal y el porcentaje de ovulación no se observaron diferencias estadísticas en cuanto al número medio de cuerpos lúteos /oveja, aunque la distribución del número de cuerpos lúteos sí que varió significativamente entre grupos, con más animales con 3 CL entre los grupos cortos (57,1% en Corto-PG y 43,5% en PG-Corto) respecto del grupo control o largo (11,1%); a cambio, se observaron menos animales con 4 CL en los grupos de protocolos cortos (0 versus 22,2%). Finalmente, también se observó una menor concentración de P4 en el grupo PG-Corto ($1,02\pm 1,06$ ng/ml) respecto de los niveles observados en el grupo Corto-PG ($2,11\pm 2,82$ ng/ml), o grupo control o tratamiento largo ($2,01\pm 1,82$ ng/ml).

Por lo tanto, el estudio en profundidad de la funcionalidad ovárica e hipofisaria en fotoperiodo decreciente demostró patrones endocrinos y de crecimiento y funcionalidad folicular similares en los tratamientos clásicos basados en 14 días de tratamiento progestativo y los basados en 7 días con aplicación de prostaglandina a la retirada del progestágeno (protocolo Corto-PG) y, en ambos casos, mejores que en los tratamientos basados en 7 días con aplicación de prostaglandina a la inserción del progestágeno (protocolo PG-Corto). Por el contrario, en fotoperiodo creciente, el protocolo Corto-PG se relacionó con una menor tasa de salida en celo; este hallazgo pone de manifiesto la necesidad de futuros estudios pero podría relacionarse con la presencia de cuerpos lúteos con baja respuesta a prostaglandinas en anestro.

En la tercera fase experimental se estudió la utilización de dos dispositivos con diferentes progestativos (progestágenos en esponjas intravaginales con FGA y con progesterona en dispositivos CIDR) aplicados en un protocolo clásico de 14 días, con eCG a la retirada de los mismos durante la estación reproductiva (fotoperiodo decreciente). El porcentaje de gestación no difirió entre grupos (61,7% vs. 51,6% para el grupo FGA y CIDR, respectivamente; $P>0,05$), ratificando la adecuación del nuevo dispositivo probado en base a progesterona natural. Además, se comprobó un menor porcentaje de pérdidas del dispositivo (4,4% vs. 1,9% para el grupo FGA y CIDR, respectivamente; $P>0,05$) y un prácticamente nulo porcentaje de dispositivos CIDR que producían secreciones malolientes (1%), respecto de las clásicas esponjas intravaginales, con más de un 70% de ellas donde sí se producen.

En la última fase experimental se valoraron las posibles diferencias en la respuesta con dos dispositivos con diferentes progestativos (progestágenos en esponjas intravaginales de FGA y progesterona en dispositivos CIDR) aplicados en el protocolo Corto-PG. En época de fotoperiodo creciente se demostró una eficacia semejante del CIDR respecto a las esponjas, en cuanto a porcentaje de presentación de celos (100% en ambos casos), y al ritmo de presentación de celo y funcionalidad ovárica e hipofisaria (liberación de LH y pico de LH). Durante el fotoperiodo decreciente tampoco observamos diferencias en el porcentaje de ovejas que salieron en celo, ni en el tiempo medio en mostrarlo. Sin embargo, se observó un agrupamiento mayor en la presentación del celo en el grupo tratado con el dispositivo CIDR, pero una menor liberación de estradiol al principio de la fase folicular y un menor nivel de progesterona durante la fase luteal ($5,94\pm 1,42$ ng/ml frente a $4,34\pm 1,96$ ng/ml, respectivamente), sin estar éstos por debajo de los niveles fisiológicos esperados en las correspondientes fases del ciclo.

En definitiva, el análisis conjunto de los experimentos anteriores nos lleva a corroborar la idoneidad de la utilización de protocolos de sincronización de celo cortos de 7 días, siempre que se combinen con la administración de prostaglandina. Además, en el caso de los dispositivos CIDR, habiendo corroborado una similitud en la capacidad de sincronización y fertilidad, se suman las ventajas de la mejora en el bienestar animal, la reducción de pérdidas de los dispositivos por parte de los animales sincronizados y la posibilidad de su reutilización tras su esterilización, por lo que este protocolo podría convertirse en una herramienta alternativa cuya incorporación en el manejo reproductivo de los rebaños ovinos favorecería los resultados de fertilidad de una forma natural, sin costo excesivo y siendo de fácil aplicación por parte de productores no tecnificados.

SUMMARY

SUMMARY

Progestogen administration is the most frequently used method as estrus and ovulation synchronization treatment in sheep. In essence, its application depresses the secretion of LH and, thereby, prevents the terminal growth of preovulatory follicles and their ovulation; once the intravaginal dispensers are withdrawn, the onset of estrus, LH peak and ovulation occur. However, despite its wide use, progestagen treatments have several disadvantages. On the one hand, they have been identified as fertility reducers; On the other hand, its use is being increasingly limited due to both hormone administration reduction and to animal welfare regulations in Animal Production.

Therefore, the present work had as objective the identification and development of protocols of estrus and ovulation synchronization in sheep that take into consideration the improvement of the animal welfare and the reduction of hormonal residues, focusing on the specific effects observed by reducing the exposure time to progestogen treatments and other intravaginal releases based on natural progesterone (CIDR).

In a first experimental phase, the effects of the reduction in the time of treatment with progestagen (fluorogeston acetate or FGA) intravaginal dispensers, namely, during 14 (long treatment) *versus* 7 days (short treatment), and the possible influence of photoperiod, breed and application of PGF_{2α} at the beginning or at the end of treatment in the case of the short treatments were explored. The percentage of gestation and prolificacy were evaluated in three treatment groups (Control group: progestagen treatment during 14 days + eCG at withdrawal of the dispensers, Group PG-Short: treatment during 7 days + PGF_{2α} at dispenser application + eCG at the dispensers withdrawal and the Group Short-PG with treatment during 7 days + PGF_{2α} and eCG at the dispensers withdrawal. During the decreasing photoperiod, the percentage of gestations was similar in the three groups (control group or long treatment: 76.7%, group Short-PG: 90.0% and PG-Short: 80%). Similarly to gestation percentage, there were no significant differences between the three groups in the prolificacy (control group 2.45 ± 1.06, PG-Short 2.76 ± 1.05 and Short-PG group 2.30 ± 1.07 lambs/ewe).

During the growing photoperiod, the results did not differ significantly between groups either in fertility or prolificacy (control group 80%, group PG-Short 79.2% and group Short-PG, 59.1%), although fertility reduction in the short-PG treatment during the growing photoperiod, with respect to the fertility in this group during the decreasing photoperiod was significant.

Prolificacy neither changed significantly during this photoperiod (control group 2.42 ± 1.10, PG-Short group 2.53 ± 1.12 and Short-PG group 2.15 ± 1.14 lambs/ewe).

Therefore, the application of treatments with progestagen-impregnated intravaginal release may be reduced from the conventional 14 days to a length of 7 days, only if they are accompanied by the administration of prostaglandin, since similar rates of gestation and prolificacy are achieved.

In a second experimental phase, the same estrus synchronization protocols as in the previous experimental phase were applied during the decreasing photoperiod, with the aim at deepening in the more physiological aspects of the ovarian and pituitary function.

The percentage of ewes that showed heat during the first 72 hours after the removal of the release were similar among groups [100% (9/9) vs. 63.6% (7/11) vs. 90.0% (10/11) for the long groups, PG-Short and PG-Short, respectively]. The mean time to show estrus was also similar among the three groups (35.1h vs. 43.4h and 48h after the withdrawal of the vaginal release for the three groups, respectively), while the time range in which the sheep showed heat was shorter after the short-PG treatment (48h) than after the PG-short treatment (62h).

Regarding the follicular dynamic, we observed that the Short-PG treatment group showed a greater recruitment and follicular development rate that resulted in more medium follicles at the end of the follicular phase, compared to the other short treatment group (PG-Short). Regarding the luteal phase and the ovulation percentage, no statistical differences were observed in the mean number of corpus lutea (CL)/sheep, although the distribution of the number of CLs did vary significantly among groups, with more animals with 3 CL in the short groups (57.1% in Short-PG and 43.5% in Short-PG) when compared to the animals of the long group (11.1%); In contrast, fewer animals had 4 CLs in the short groups (0% *versus* 22.2%). Finally, a lower concentration of progesterone (P4) in the PG-Short group (1.02 ± 1.06 ng / ml) was observed with respect to the levels observed in the Short-PG group (2.11 ± 2.82 ng/ml) or in the control group (2.01 ± 1.82 ng/ml).

Therefore, the study of the ovarian and pituitary function during the decreasing photoperiod demonstrated a similar endocrine and follicular growth patterns and functionality after the conventional 14 days progestagen treatment to those observed after the 7 days treatment with application of prostaglandin at the dispenser removal (Short-PG). Moreover, results were better in the long group and the Short-PG group than after the short treatment with the prostaglandin at the beginning of the protocol (PG-Short). In contrast, during the increasing photoperiod, the Short-PG protocol was associated with a lower rate of estrus detection; this fact could be related to the presence of CLs with low response to prostaglandins during anestrus but future studies on this issue are needed.

In the third experimental phase the differences in fertility after a classic protocol of 14 days, using two different intravaginal devices (FGA-progestogens in

the intravaginal sponges and progesterone in CIDR releases) with eCG at the withdrawal of the releases during the reproductive season were explored. The percentage of gestation did not differ between groups (61,7% vs. 51,6% for the FGA and CIDR group, respectively, $P>0.05$), confirming the suitability of the new natural progesterone device tested. In addition, a lower percentage of lost devices were observed (4,4% vs. 1,9% for the FGA and CIDR group, respectively, $P>0.05$) and a very reduced percentage of CIDR releases that caused malodor (1%), compared to the classic intravaginal FGA-sponges, with more than 70% of them impregnated with malodorous secretions.

In the last experimental phase, the differences in the reproductive outcomes after the Short-PG protocol using two different intravaginal devices (progestogens in the intravaginal sponges and progesterone in CIDR releases) were explored. During the increasing photoperiod, a similar efficacy was shown for the CIDR group in relation to sponges, in terms of percentage of estrus (100% in both cases), in terms of mean time to estrus onset, and regarding the ovarian functionality (estradiol concentration during the follicular phase) and the pituitary function (LH release and peak of LH).

During the decreasing photoperiod, we also did not observe differences in the percentage of estrus, or in the mean time for showing heat. However, a more intense grouping effect was observed in the group treated with CIDR devices, but a lower release of estradiol at the beginning of the follicular phase and a lower secretion of progesterone during the luteal phase (5.94 ± 1.42 ng/ml vs. 4.34 ± 1.96 ng/ml, respectively). However, these decreased values were not below the physiological levels expected at each corresponding cycle stage.

Finally, the joint analysis of these experiments leads us to corroborate the appropriateness of the use of the short synchronization protocols of 7 days based on progestogen/progesterone intravaginal release, as long as they include the administration of prostaglandin. In addition, in the case of CIDR release, once demonstrated their similar synchronization and fertility capacity, the advantages of improved animal welfare, the reduction of losses of the release and the possibility of their reuse after sterilization should be added. Therefore, such a protocol could become an option in sheep herds, improving maintaining fertility outcomes in a more natural way, without excessive cost and being easy to be applied by non-specialized producers.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1 Revisión bibliográfica

1.1 La importancia del ganado ovino

La mayoría de los tratadistas coinciden en señalar que la domesticación de la especie ovina (*Ovis aries*) tuvo lugar en Asia Menor y Asia Central en el periodo Neolítico, extendiéndose posteriormente a Europa y África del Norte. A la Península Ibérica la oveja llegaría, probablemente, hacia el quinto milenio a.C. por las costas mediterráneas, europea y africana, accediendo posteriormente ovinos de lana larga y gruesa, procedentes de Europa Central, aportados por la invasión de los celtas alrededor del siglo VII a.C. (Buxadé, 1996; Daza Andrada, 2002).

Los ovinos domésticos han sido explotados desde la antigüedad para la producción de lana y pieles para el vestido y de leche y carne para el alimento. El interés zootécnico de la especie se basa en su eficacia para aprovechar zonas áridas y semiáridas de bajas disponibilidades forrajeras, zonas de monte de topografía accidentada y subproductos y residuos de cultivos agrícolas. La capacidad de pastoreo y un reducido formato corporal son caracteres que permiten a los ovinos satisfacer sus necesidades nutritivas más fácilmente que otras especies de mayor tamaño en superficies de escasos recursos alimenticios y/o de difícil acceso (Buxadé, 1996; Daza Andrada, 2002).

La explotación ovina se justifica, además, por motivos medioambientales, comerciales y sociológicos (Daza Andrada, 2002). El pastoreo racional de las zonas de monte es un instrumento eficaz para prevenir incendios, y el aporte de las deyecciones al suelo lo enriquece en materia orgánica potenciando el desarrollo vegetal y evitando fenómenos de erosión. No cabe duda, por lo tanto, que el ganado ovino, explotado bajo fórmulas extensivas o semiextensivas de producción, contribuye al mantenimiento de los ecosistemas (Daza Andrada, 2002; Mollard, 2002). Por otro lado, es una especie con razas perfectamente adaptadas a la producción animal intensiva que permiten una gran rentabilidad de dichos sistemas, ofreciendo estabilidad en oferta de mano de obra en zonas rurales (Hernandez *et al.*, 2011; Elvira *et al.*, 2013).

Los productos que genera son de extraordinaria calidad alcanzando en el mercado precios elevados (corderos lechales, quesos artesanales e industriales, prendas para vestir de las industrias textil y peletera), por lo tanto, es de relevancia en todo el mundo: en los países en vías de desarrollo es un elemento fundamental en las economías de subsistencia y, en los desarrollados, frena la despoblación humana del campo ayudando al mantenimiento del medio rural y la devastación del campo por incendios (Daza Andrada, 2002).

En el siguiente apartado vamos a repasar, brevemente, la situación del sector ovino en el contexto mundial, en la Unión Europea y en España, como

introducción a la revisión bibliográfica dedicada a la reproducción en ovino que integra este trabajo.

1.2 El ganado ovino en el mundo

Según los últimos datos oficiales de la FAO (FAOSTAT, 2015), el censo ovino mundial está en torno a los 1.200 millones de cabezas, desigualmente repartidas según continente (Figura 1). De éstas, alrededor del 70% se destinan a la producción cárnica, mientras que el 30% son ovejas lecheras. Se estima por tanto que la producción cárnica es la principal en esta especie, dedicándose a este fin, casi las tres cuartas partes de las reproductoras ovinas existentes.

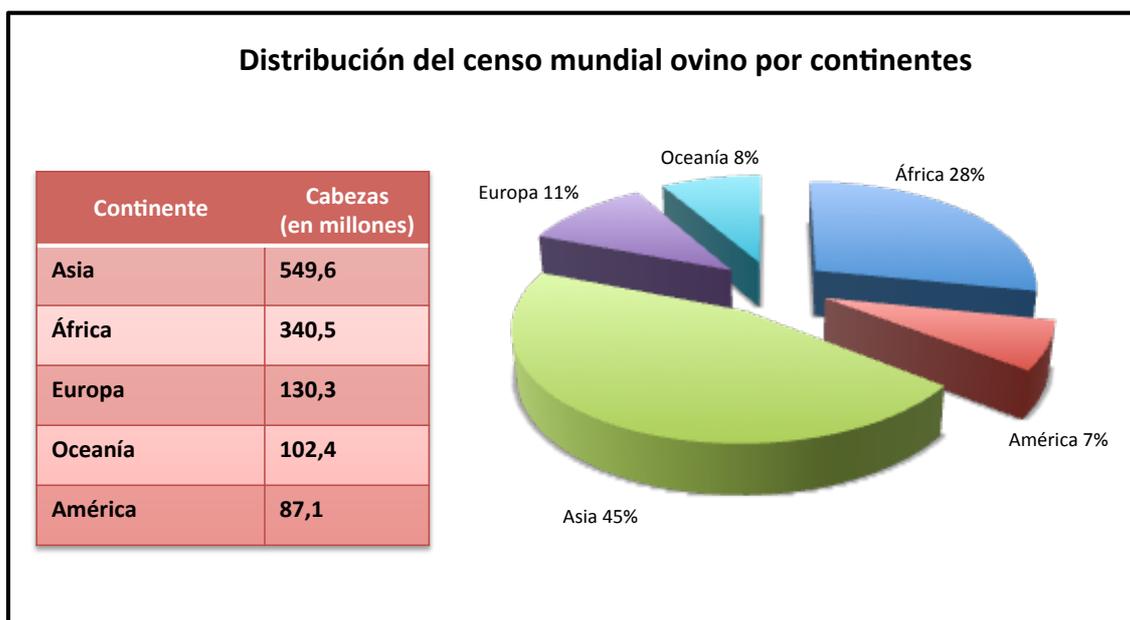


Figura 1. Distribución continental del censo ovino (FAOSTAT, 2015)

Las máximas fracciones censales corresponden a Asia, que cuenta con el mayor censo a nivel mundial (45%), tanto para la producción cárnica, como lechera. El principal país productor es China, con 134 millones de ovejas destinadas a la producción cárnica y 43,8 millones de ovejas lecheras (FAOSTAT, 2015).

El segundo continente productor de ganado ovino es África, donde se encuentra el 28% del censo total. La mayor parte de la producción ovina en el continente africano se sitúa en Nigeria y Sudán, que cuentan con 40,5 y 39,8 millones de ovejas, respectivamente (FAOSTAT, 2015).

Europa es el tercer continente en censo de ovejas (11%). La mayor parte del censo se destina a la producción cárnica (69,1%). Reino Unido es el mayor productor con 23,8 millones de cabezas, seguido de España con 16,5 millones de cabezas y Rumanía, con 10 millones de cabezas (FAOSTAT, 2015).

Oceanía presenta un 8% del censo mundial total, explotando sólo ovino de carne, repartiéndose casi la totalidad de los efectivos por igual entre Australia (70%) y Nueva Zelanda (29%); mientras que la mínima presencia censal se produce en América, siendo Brasil (17,6 millones de cabezas) y Argentina (14,7 millones de cabezas) los mayores productores de carne ovina (FAOSTAT, 2015).

Los pequeños rumiantes participan en gran medida en la denominada “economía de subsistencia”, que es fundamental en los países en vías de desarrollo, ya que cuentan con un 65% del censo mundial ovino. En estos países su importancia no es sólo la que deriva de sus datos censales, sino también de su relevancia social, ya que los pequeños rumiantes (ovino y caprino) tienen escasos requerimientos y una gran capacidad para transformar subproductos y residuos agrícolas y domésticos en carne, lana, pieles y leche (Gutierrez-A, 1985; Buxadé, 1996).

También en Europa se considera que el ganado ovino tiene un papel relevante en la fijación de mano de obra y población humana en regiones desfavorecidas, dado que sus características fisiológicas y de manejo permiten su explotación en medios más desfavorables para otros rumiantes más selectos como los bovinos. Los ovinos son capaces de pastar y mejorar las formaciones vegetales de la estepa de matorral mediterráneo; cuentan con un periodo de lactancia reducida (3-4 meses) lo que aminora las necesidades hídricas, permitiendo una mejor adaptación a climas áridos. Tienen asimismo la capacidad de realizar diariamente desplazamientos largos sin disminuir su productividad (Meuret, 2006; Poux *et al.*, 2009). De hecho, tal y como se puede apreciar en la figura 2, más del 90% del censo de ovino en Europa se sitúa en zonas desfavorecidas.

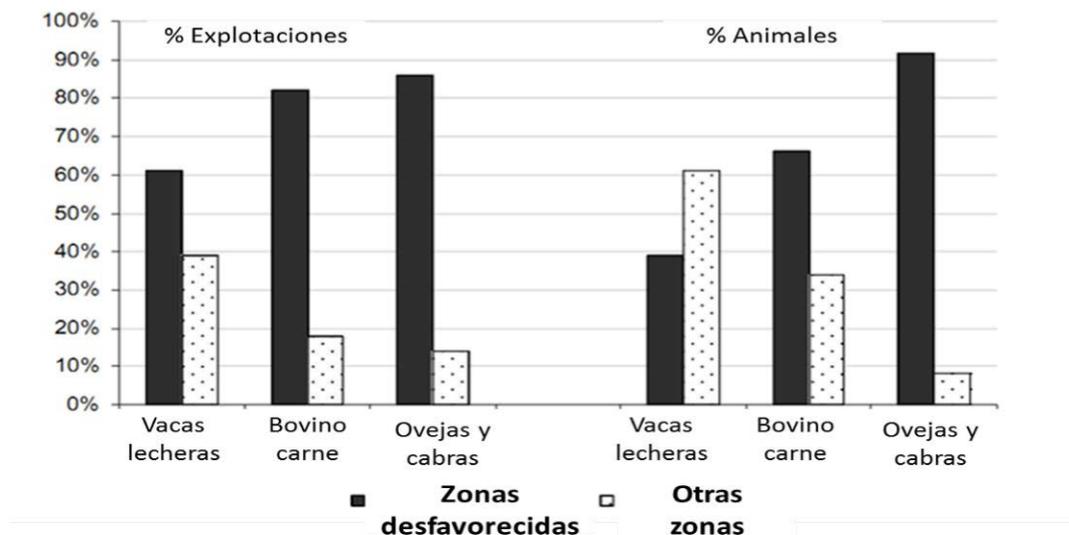


Figura 2. Distribución, en Europa de las explotaciones y censo de distintos rumiantes entre zonas clasificadas o no como desfavorecidas (RICA, 2003)

1.3 El ganado ovino en la Unión Europea¹

Según los últimos datos disponibles, el censo ovino total de la Unión Europea asciende a 86,6 millones de cabezas, de las cuales el 28% corresponden al Reino Unido y el 19% a España, contando también con censos apreciables Rumanía (12%), Grecia (10%), Francia (8%), Italia (8%) e Irlanda (4%), de modo que estos siete países integran el 89% del censo global.

¹ Datos previos al Brexit

² COMMISSION REGULATION (EC) No 1911/2005 of 23 November 2005

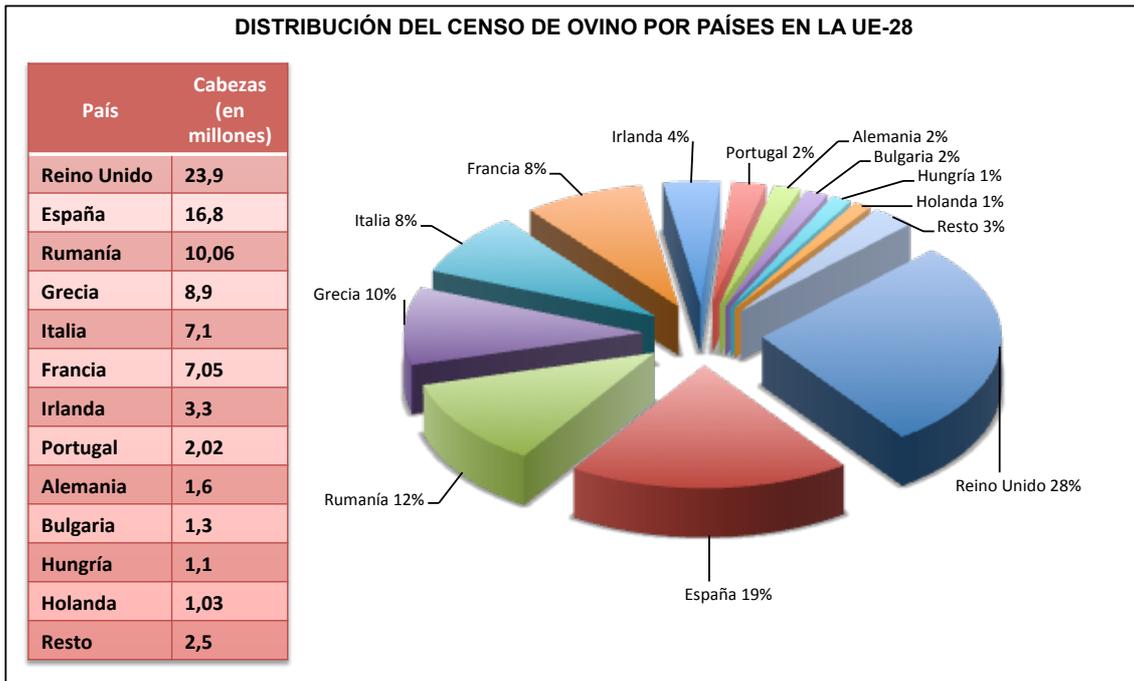


Figura 3. Distribución del censo de ovino por países en la UE-28 en el 2015 (EUROSTAT, 2016)

El respeto al medio ambiente es uno de los pilares del desarrollo sostenible, y una de las prioridades de la UE en la búsqueda de una agricultura multifuncional al servicio de sus ciudadanos, siendo además un elemento clave para la lucha contra el cambio climático. La aplicación de principios de gestión sostenible de los recursos naturales y los residuos generados por la actividad primaria, en particular, la ganadería, es la respuesta a esta creciente demanda ambiental (Martin *et al.*, 2004).

Esta situación se concreta con la creciente exigencia por parte de los consumidores de que los productores de alimentos de origen animal respeten un código ético, y lleven a cabo prácticas de manejo no contaminantes, lo que se conoce como productos “clean, green and ethical” (Martin & Kadokawa, 2006).

El desarrollo de una política medioambiental comunitaria en el ámbito ganadero nace como consecuencia del crecimiento de la población y de la necesidad de garantizar la seguridad alimentaria a la sociedad, que provocaron importantes cambios en los sistemas de producción agraria (Macri *et al.*, 2006).

En el sector ganadero, las explotaciones extensivas evolucionaron a sistemas de producción intensivos, en donde se incrementó la carga ganadera. Esta transformación de la ganadería también ha ido acompañada de un cambio de su mapa de distribución, apareciendo en ciertas zonas una alta concentración ganadera, que constituye una causa de determinados problemas medioambientales (MAGRAMA, 2015).

A nivel comunitario, la normativa medioambiental actual ya incluye la ganadería dentro de su regulación, especialmente las explotaciones intensivas de algunas especies y, dentro de estas, las granjas de mayor tamaño. Así mismo, en distintos Convenios Internacionales, como los Protocolos de Kyoto y de Gotemburgo, se contempla al sector ganadero en general como una actividad potencialmente contaminante y por tanto sujeta a regulación (MAGRAMA, 2015).

Estas normativas representan para el sector ganadero el cumplimiento de una serie de compromisos que tienen un marcado carácter técnico y para su aplicación necesitan un desarrollo tecnológico específico a nivel de las diferentes zonas agro-climáticas, teniendo en cuenta, además, los condicionantes específicos de nuestros sistemas productivos. Por otra parte el carácter difuso de las emisiones ganaderas dificulta su medición en las granjas, que también se ve limitado por condicionantes de tipo sanitario (MAGRAMA, 2015).

1.4 El ganado ovino en España

La llegada de la oveja doméstica procedente de Asia a nuestra península tuvo probablemente lugar desde África. Las primeras referencias a ovinos con una antigüedad de 3.700 años las encontramos en los grabados murales del Valle de las Batuecas de Salamanca, y ya en la época de los fenicios y romanos la lana procedente de las ovejas de nuestra península era muy apreciada (Cambero Muñoz, 1999). Según diversos datos históricos recopilados por Daza-Andrada (2002), el censo ovino español ocupó desde la Alta Edad Media un lugar destacado en el contexto europeo, siendo el máximo productor y exportador de lana fina desde finales del siglo XIII hasta la segunda mitad del siglo XIX.

Posteriormente, el censo se fue reduciendo drásticamente debido a factores políticos, sociológicos, técnicos y comerciales entre los que cabe destacar, por un lado, la reducción de la superficie de pastos y cultivos forrajeros derivada de la política proteccionista de la postguerra hacia los cultivos cerealistas; por otro, la revolución industrial que provocó la emigración de jóvenes pastores a las áreas industriales y finalmente, la caída del precio de la lana o el aumento progresivo del coste de la mano de obra (Daza Andrada, 2002). Sin embargo, la entrada en la Unión Europea, deficitaria en carne de ovino, provocó un incremento censal ante las buenas previsiones comerciales que también ocasionó un incremento del censo de ovejas productoras de leche (Sánchez-Rodríguez, 2011).

La cabaña ganadera ovina española es una de las más importantes de la Unión Europea. Ocupa el segundo lugar en producción de carne y lana y es el tercer país productor de leche de oveja, inmediatamente por detrás de Grecia y Rumanía. Las cinco comunidades autónomas con más censo de esta especie engloban el 78,4% del mismo y son: Extremadura (20,9%), Castilla y León (18,4%), Castilla La Mancha (15,3%), Andalucía (13,2%) y Aragón (10,6%) (Figura 4).

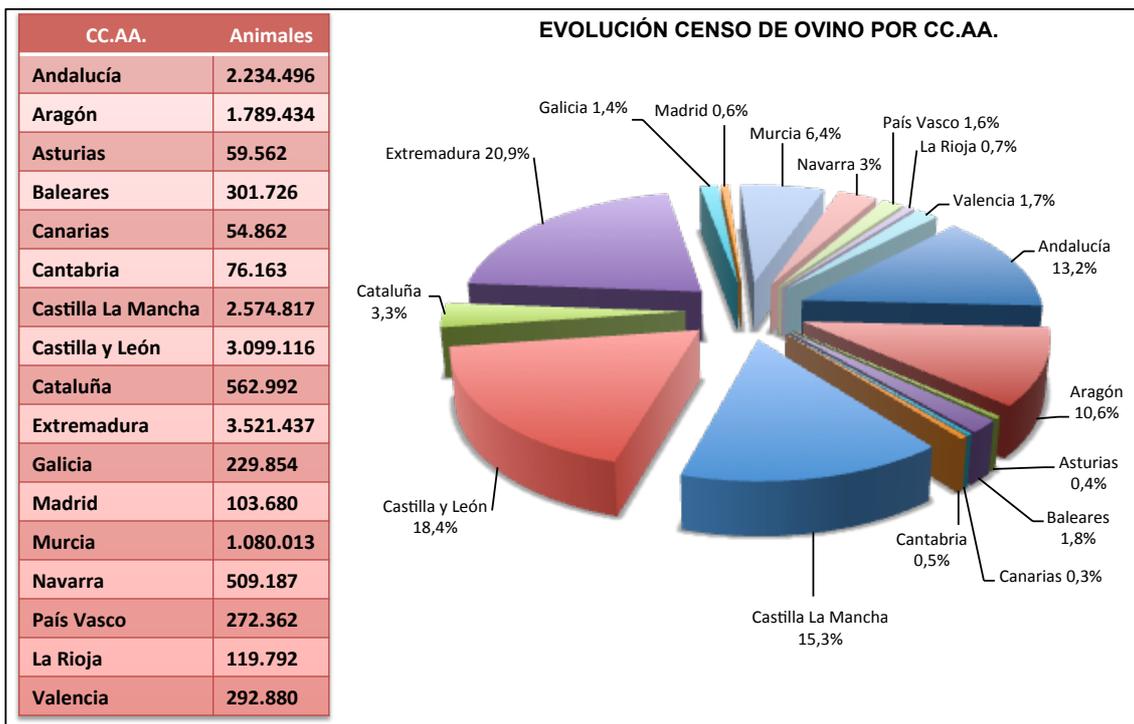


Figura 4. Distribución del censo de ovino en España por Comunidades Autónomas (SITRAN, 2016)

A pesar de que España se mantiene como el segundo país de la UE en cuanto a censo de ovino, éste ha experimentado en la última década un descenso de más de 7 millones de cabezas, siendo 16.882.373 el total de animales censados a 1 de enero de 2016, de los cuales, 12.550.441 son hembras reproductoras, según datos del MAGRAMA (Figura 5).

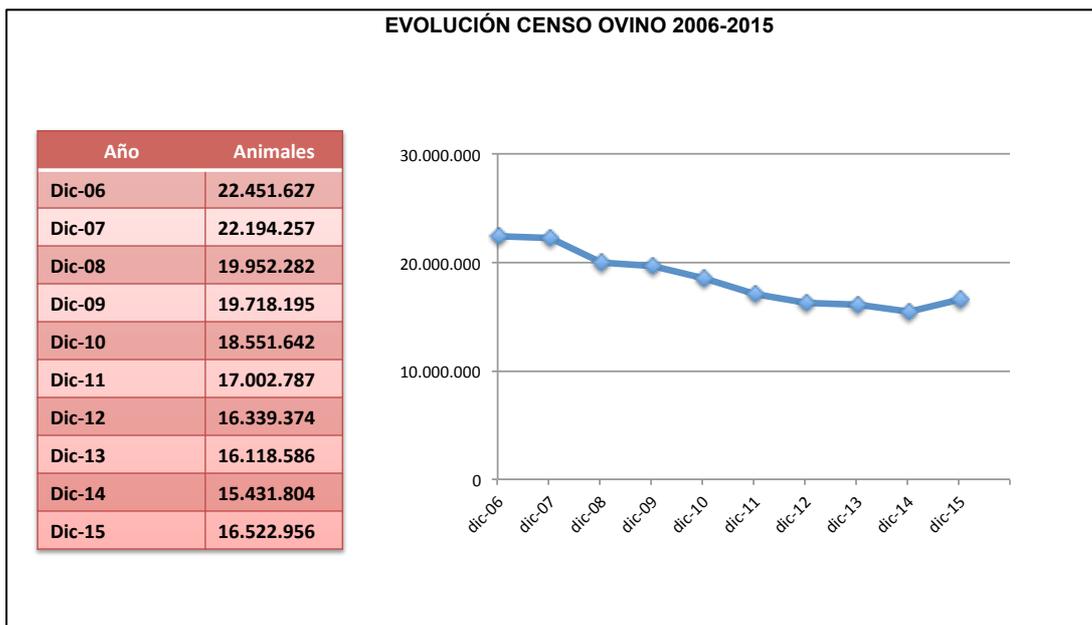


Figura 5. Evolución del censo de ovino en España entre los años 2006 y 2015 (MAGRAMA, 2016)

En cuanto al número y estructura de explotaciones, en los años precedentes se ha venido produciendo un notable descenso, pasando de 122.694 explotaciones registradas en el año 2007 a 107.754 registradas en el año 2012. No obstante, los últimos datos apuntan a una recuperación, de forma que en enero del año 2016 ya se han podido contabilizar 116.296 explotaciones de ovino (Figura 6).

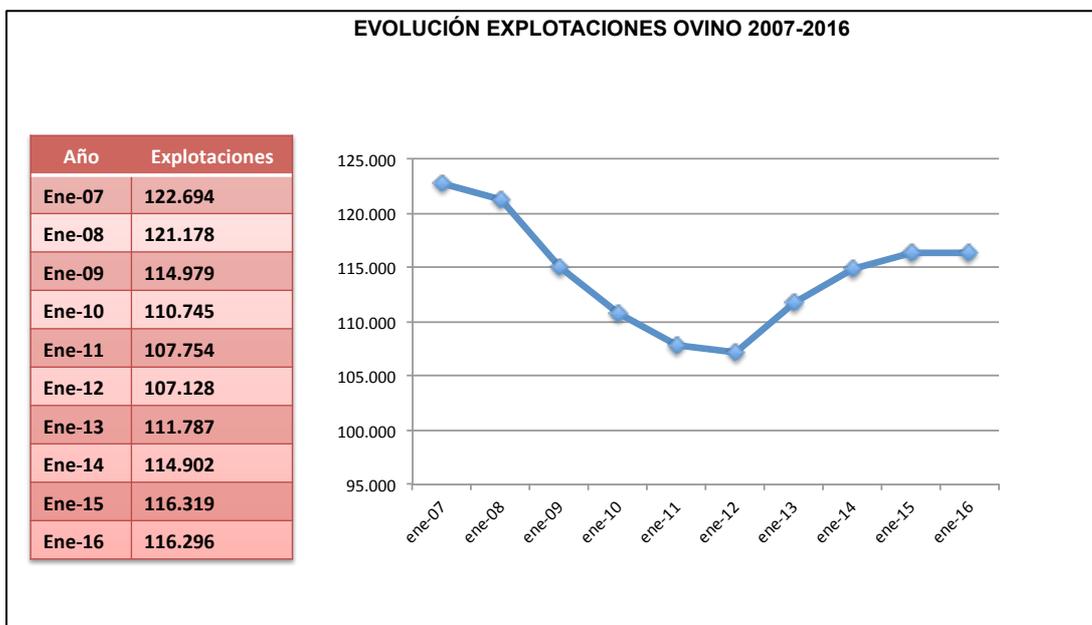


Figura 6. Evolución del número de explotaciones de ovino en España entre el año 2007 y el año 2016 (SITRAN, 2016)

El sector de los pequeños rumiantes en el Estado Español representa el 8,6% de la producción final ganadera. Este sector tiene un importante papel en la vertebración del territorio, aprovechamiento de los recursos naturales, así como un papel esencial en asegurar la cohesión del tejido rural y el uso sostenible de hábitats en las zonas donde se asienta.

En consecuencia, el sector ovino en España experimenta un descenso acusado en general, que se hace más patente en el caso del ovino de carne. Esta continua crisis se ha agravado aún más si cabe, en los últimos años, por las drásticas subidas de precios de las materias primas utilizadas para la alimentación del ganado, el reducido nivel de precios de los productos que sufre el productor, el escaso consumo de carne de ovino por habitante en continuo declive, la falta de relevo generacional en este sector y los problemas sanitarios, en general, como la lengua azul o el scrapie, que afectan de manera directa e indirecta a la producción, incluso a la demanda de productos animales, por parte de la población (Romero-González *et al.*, 2008; Lahoz *et al.*, 2010).

A esto, hay que sumarle la baja productividad numérica, entendiendo como tal el número de corderos producidos por oveja y año y los cambios respecto a la Política Agraria Comunitaria (PAC), que trata de incentivar los sistemas de producción extensivos, por ser, tradicionalmente, la forma más habitual de explotación de este tipo de ganado y por su notable incidencia socioeconómica y medioambiental (García Álvarez-Coque, 2004). Si bien esto último es cierto, no lo es menos que estos sistemas de producción animal presentan escasa rentabilidad, lo que hace peligrar la viabilidad de las explotaciones de este tipo y su sostenibilidad (Santamaría *et al.*, 1998).

1.5 Descripción de las razas de interés para el presente trabajo

La **raza lacaune** es una raza de origen francés. Con un censo de 1,29 millones de ovejas (lo que supone un 20% de la cabaña ovina francesa), ocupa la primera posición entre las razas ovinas de Francia. Está dividida en dos ramas principales con distintas aptitudes: producción de leche y producción de carne, con un 65% y un 35% de hembras, respectivamente. Sin embargo, las hembras del sector lácteo han sido utilizadas durante mucho tiempo para la reposición de hembras del sector cárnico (Perret *et al.*, 1995).

En 1975, a partir de la experiencia en mejora genética para la producción de leche de la Cooperativa de Inseminación Artificial OVI-TEST, y a petición de los socios especializados en la producción de carne, comenzó un programa de selección y multiplicación, gestionado por la UPRA-LACAUNE (Unité Nationale de sélection et de promotion de la race Lacaune), con el principal objetivo de aumentar la prolificidad, dejando la producción de leche como un carácter adicional (Barillet *et al.*, 2001).

El establecimiento de un esquema de selección para mejorar la prolificidad de las ovejas hizo aparecer un determinismo genético de carácter “prolificidad” basado en la segregación de una mutación con un fuerte efecto dentro de la población lacaune. La creación de familias experimentales a partir de ovejas supuestamente portadoras de esta mutación, confirmó la existencia de un gen mayor con efectos sobre la tasa de ovulación y la prolificidad, el BMP-15 (Bone Morphogenetic Protein 15), relacionado con la superfamilia del TGF- β (Transforming Growth Factor β) (Bodin *et al.*, 2007).

Es a partir de los años ochenta y noventa, mediante este esquema de selección y multiplicación, cuando esta raza empieza a difundirse y a llegar a muchos países, entre ellos España, donde su difusión ha sido progresiva debido a su buena adaptabilidad a los medios secos y calurosos peninsulares y a los sistemas productivos españoles. Igualmente, posee una reconocida calidad en la producción cárnica con la obtención de corderos con un alto índice de transformación en cebadero y muy buena calidad de la canal (Jounou *et al.*, 2004).

Esta raza agrupa a animales de color predominantemente blanco, con individuos que pueden presentar coloraciones en negro, de perfil plano, tamaño grande y con el vellón que se extiende por toda la superficie corporal, dejando al descubierto las extremidades, la parte inferior del tronco y la cabeza. Los pesos medios de las hembras oscilan entre 70 y 80 kg y los de los machos entre 95 y 110 kg (Fuentes *et al.*, 2000).

La **raza segureña** es originaria de las zonas serranas de la Vega del Segura, en las provincias de Albacete, Jaén, Granada y Almería. Se extiende por todo el sureste de España (Valencia, Alicante, Murcia, Sur de Almería y Málaga). Su elevado censo la constituye como una de las razas ovinas nacionales más importantes (FEAGAS, 2010).

Son ovinos de marcado dimorfismo sexual, perfil subconvexo, acornes en ambos sexos, tamaño medio y proporciones ligeramente alargadas, con un vellón semicerrado de lana entrefina y color blanco uniforme, de reducida extensión (Fuentes *et al.*, 2000).

Esta raza es de aptitud cárnica, pero se encuentra estrechamente emparentada con la manchega, de aptitud láctea, lo cual le confiere muy buenas cualidades lecheras para criar dos corderos. Destaca por su elevada rusticidad, que le permite vivir en un medio inaccesible a otros animales. Está adaptada a un clima continental riguroso y extremo, y una pluviometría próxima a los 350 l/m² anuales, pero mal distribuida a lo largo del año, que hace que el periodo vegetativo de los pastos quede reducido a unos pocos meses (FEAGAS, 2010).

La **raza romanov** es originaria de Rusia, de la cuenca alta del río Volga, al noroeste de Moscú, y a diferencia de la mayoría de las razas europeas y americanas que son producto de cruzamientos y selección, ésta es una raza genéticamente pura, lo cual hace que transfiera un vigor híbrido mucho mayor que cualquier otra (Fuentes *et al.*, 2000).

Es una raza con prolificidad, vitalidad y habilidad materna muy sobresalientes. De hecho se considera la raza más prolífica que existe. Además, los ovinos romanov demuestran una rusticidad, vigorosidad sexual y productividad excepcional (Fuentes *et al.*, 2000).

Son animales pequeños y de color gris o negro sucio. La cola es corta y este carácter se transmite a su F1 en los cruzamientos. Es acorne tanto en machos como en hembras y tiene las orejas levantadas y puntiagudas (Fuentes *et al.*, 2000).

La F1 proveniente de los respectivos cruces entre machos romanov y ovejas de razas lacaune y segureña tiene como características principales un marcado incremento de la prolificidad y de las características maternas sin perder la rusticidad y la adaptación al medio en el que se desenvuelven (Flox & Daza, 2000).

1.6 Fisiología de la reproducción. Ciclo estral y control neuroendocrino

El ciclo estral está asociado a una secuencia de sucesos endocrinos interrelacionados y que están principalmente regulados por el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La hipófisis produce hormona foliculoestimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), prolactina y oxitocina. Los folículos ováricos antrales secretan estrógeno e inhibina y el CL secreta progesterona y oxitocina, mientras que el endometrio uterino se encarga de la producción de prostanglandina $F_{2\alpha}$ (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

El desarrollo y maduración de los folículos ováricos, así como la esteroidogénesis, ovulación y formación del CL, están controladas principalmente por las gonadotropinas hipofisarias, que a su vez, dependen de la secreción de GnRH. La regulación de la secreción y biodisponibilidad de estas hormonas depende de una compleja interacción entre varios factores internos y externos (Bartlewski *et al.*, 2011). Entre los principales factores internos se encuentran aminoácidos producidos localmente, esteroides ováricos, hormonas tales como la inhibina, activina y folistatina, agentes neurotransmisores y neuromoduladores. Los factores externos principales son las señales fotoperiódicas, las feromonas masculinas, así como la nutrición y el estrés, también conocidos por afectar la función del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Menassol *et al.*, 2012). La regulación se puede lograr directamente, a través de los efectos de la secreción de GnRH desde el hipotálamo hipofisario, o indirectamente, por alteración de la capacidad

de respuesta de la hipófisis a la GnRH o de la sensibilidad del ovario a las gonadotropinas (Bartlewski *et al.*, 2011).

La GnRH u hormona liberadora de gonadotropinas, es un decapeptido sintetizado por neuronas especializadas del hipotálamo. Esta hormona es sintetizada y almacenada en gránulos que son transportados por axones que se dirigen hacia la zona externa de la eminencia media (Seeburg *et al.*, 1987; Fink, 1988). Posteriormente es liberada en pulsos sincronizados hacia el sistema portal hipofisario y su secreción está regulada por las concentraciones de esteroides gonadales tales como progesterona y estradiol (Clarke & Pompolo, 2005). Estos pulsos estimulan la biosíntesis y secreción de FSH y LH por parte de las células gonadotropas de la adenohipófisis (Fink, 1988).

Las gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH) son hormonas de naturaleza glicoproteica, resultantes de la asociación de dos subunidades (α y β) sintetizadas por las células gonadotropas del lóbulo anterior de la hipófisis (Childs, 2006).

La FSH es la encargada de estimular el desarrollo folicular ovárico, actuando a nivel de las células de la granulosa del folículo y estimulando la activación de las aromatasas, las cuales terminan el proceso de síntesis desde androstenediona hasta estradiol (Hsueh *et al.*, 1984).

En el caso de la LH, existen dos patrones funcionales distintos de secreción en la oveja, controlando cada uno de ellos diferentes aspectos de la función ovárica (Geschwind & Dewey, 1968; Arthur & Pearson, 1989).

La secreción de LH pulsátil o tónica ocurre durante todo el ciclo en respuesta a la liberación de GnRH y es importante para la esteroidogénesis ovárica, estimulando la síntesis de androstenediona por parte de las células de la teca interna durante el desarrollo folicular. La descarga preovulatoria de LH, que se produce inmediatamente después del celo, es la responsable de inducir la ovulación y la formación y mantenimiento del CL (Niswender *et al.*, 1981; Hansel & Convey, 1983a; Arthur & Pearson, 1989; Rawlings & Cook, 1993; Goodman, 1994).

La aparición del pico preovulatorio de LH va acompañada de una descarga de FSH, produciéndose una segunda descarga entre las 20 y las 36 horas siguientes. Durante el ciclo estral también se produce una elevación de las concentraciones de FSH cada 4-5 días, asociada a la aparición de ondas foliculares (Souza *et al.*, 1997; Bartlewski *et al.*, 2000; Evans *et al.*, 2000; Ginther *et al.*, 2000).

Las hormonas esteroideas ováricas son los productos de secreción folicular mejor conocidos. Hay tres tipos de esteroides producidos en los folículos ováricos, todos ellos derivados del colesterol: las progestinas, los andrógenos y los estrógenos.

La pregnenolona es la progestina más importante del folículo, al ser la precursora del resto de hormonas esteroides. Sin embargo, la más conocida es la progesterona (P4), intermediaria en la síntesis de otros esteroides y producida a nivel ovárico por la teca interna del folículo en el periodo periovulatorio y por el CL en el post-ovulatorio. Su función principal es preparar el útero para la implantación del embrión y el mantenimiento de la gestación (Hansel & Convey, 1983a; Gore-Langton & Armstrong, 1994; Reynolds & Redmer, 1999).

El folículo es una fuente significativa de andrógenos ováricos, de manera que la androstenediona y la testosterona son precursores inmediatos de los esteroides estrogénicos, estrona y estradiol, respectivamente.

Los estrógenos (estradiol y estrona), son los esteroides más importantes a nivel fisiológico, y cuya síntesis se realiza en las células de la granulosa, a través de la aromatización de la androstenediona. El estradiol induce la fase de receptividad sexual o celo durante el ciclo sexual de las hembras de los mamíferos (Gore-Langton & Armstrong, 1994). Asimismo, controla la secreción de la FSH por medio de un mecanismo de retroalimentación (Padmanabhan, 2002).

La activina, la inhibina y la folistatina son péptidos producidos, principalmente, en las células de la granulosa del folículo ovárico. Regulan el crecimiento folicular controlando la liberación de FSH. La activina y la inhibina son dímeros que constan de una subunidad α y dos β . La inhibina tiene como función suprimir la producción y la secreción de FSH, mientras que la activina tiene el efecto contrario (Ying, 1988).

La folistatina, es un monómero que se une a la subunidad β de la activina y de la inhibina, modulando su acción sobre la secreción y liberación de FSH (Robertson, 1992; Phillips & de Kretser, 1998).

Entre los principales factores de crecimiento implicados en la actividad ovárica destacan los siguientes: el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformador β (TGF- β), los factores de crecimiento hematopoyético (citoquinas) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF). Estos factores, están directamente involucrados en la regulación de la proliferación y diferenciación celular (Monget & Monniaux, 1995; Webb *et al.*, 1999).

Las prostaglandinas son hormonas derivadas del ácido araquidónico. La más importante para el mantenimiento de la ciclicidad sexual es la prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$). Su principal fuente de producción es el endometrio uterino (Thatcher *et al.*, 1995).

En las etapas finales del ciclo estral, se produce una síntesis de receptores endometriales, mientras que la oxitocina, proveniente del CL, estimula la

producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Flint *et al.*, 1986; Thatcher *et al.*, 1995). Posteriormente, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ sintetizada por las glándulas endometriales uterinas es transportada por un mecanismo de contracorriente, mediante anastomosis, desde la vena uterina hasta la arteria ovárica para ejercer su acción luteolítica por disminución del flujo sanguíneo local, con la consiguiente disminución de la producción de P4 (Knickerbocker *et al.*, 1988; Stellflug *et al.*, 1997; Juengel & Niswender, 1999).

1.6.1 Fases del ciclo estral

El ciclo estral comúnmente se divide en dos fases atendiendo a los procesos que tienen lugar en el ovario: la fase luteal y la fase folicular. La fase folicular tiene una duración de 2-3 días y se caracteriza por la exhibición del comportamiento sexual y la receptividad al macho (periodo de 24-40 horas denominado celo), el pico preovulatorio de la LH y la ovulación. La transición de la fase folicular a la luteal se marca por la ovulación e incluye el desarrollo del CL que produce P4. Esta fase también incluye la luteolisis, propiciada por la prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$). Sin embargo, la transición de la fase luteal a la folicular es más compleja. Si la oveja queda gestante, el CL persistirá durante toda la gestación (Gordon, 1996).

Fase folicular

La fase folicular incluye proestro y estro. El **proestro** sería el periodo inmediatamente anterior al comportamiento estral y se caracteriza por la disminución de las concentraciones séricas de P4, a consecuencia de la regresión del CL (Senger, 2003) y un aumento significativo de estradiol (E2), producido por los folículos en desarrollo, además de un marcado incremento en la actividad secretora de todo el sistema reproductivo. El útero se alarga, el endometrio comienza a edematizarse y las glándulas uterinas incrementan su número. La mucosa vaginal se vuelve hiperémica, el número de capas celulares en el epitelio vaginal aumenta y la capa superficial se cornifica (Abecia & Forcada, 2011).

El **estro** se correspondería con el periodo inmediatamente posterior, con el periodo de aceptación del macho, de receptividad sexual, de aproximadamente 36-40 horas. Las glándulas secretoras vaginales, cervicales y uterinas secretan mayor cantidad de mucus, el endometrio y la vagina se congestionan y el cérvix se relaja. En la oveja, la ovulación ocurre normalmente de forma inmediata y espontánea, antes del final de esta fase, alrededor de las 24 y 48 horas del inicio del celo, siendo más tardía en razas prolíficas (Goodman, 1994), pudiendo llegar a oscilar entre las 18 y las 72 horas, con una media de 36 horas, en función de la edad, la raza y la estación (Goodman, 1994).

En la fase folicular tiene lugar el crecimiento final y la maduración de los folículos ovulatorios. Como ya se ha indicado, los folículos preovulatorios secretan altas cantidades de E2 (Arthur & Pearson, 1989), hormona que estimula el centro hipotalámico generador de pulsos de la GnRH. El aumento de la liberación de

GnRH inducirá, a su vez, un incremento en la frecuencia de liberación de pulsos de LH, hasta alcanzar un pico de liberación, conocido como descarga preovulatoria de LH, que actúa como desencadenante de la ovulación. Este pico preovulatorio provoca cambios en las paredes del folículo, determinando su ruptura y la consiguiente liberación del oocito, 18-24 horas más tarde (Chemineau *et al.*, 2010; Bartlewski *et al.*, 2011). La ovulación marca la transición de la fase folicular a la luteal (Gordon, 1996).

Fase luteal

La fase luteal incluye metaestro y diestro. La fase de **metaestro** se produce inmediatamente después del estro y es el periodo durante el cual las células de la granulosa y la teca del folículo roto proliferan y se transforman en células luteínicas que llenan el antro del folículo (luteogénesis), en un proceso que dará origen a un cuerpo hemorrágico y, finalmente, al CL (Keyes & Wiltbank, 1988). El estímulo de la LH es necesario para el crecimiento inicial del CL y la diferenciación celular. En esta fase se produce una marcada reducción de la actividad secretora de la mucosa vaginal, cervical y uterina (Bartlewski *et al.*, 1999; Niswender *et al.*, 2000).

El **diestro** es el periodo del ciclo estral donde el CL madura completamente y constituye un tejido glandular totalmente funcional, secretando altas cantidades de P4. Entre 3 y 4 días después de la ovulación, el CL tiene un diámetro de 6 a 8 mm, alcanzando su máximo diámetro de 11 a 14 mm, 6 días después. Es en este momento cuando la secreción de P4 por parte del CL alcanza niveles máximos y permanece en valores altos durante toda la gestación, en caso de que ésta se produzca. La progesterona, junto con los estrógenos basales, mantendrá un feedback negativo sobre los pulsos liberadores de GnRH y sobre la liberación de gonadotropinas (McNeilly, 1984). En caso de no producirse la gestación, entre los días 12 y 15 después de la ovulación, las glándulas endometriales uterinas secretan un agente luteolítico, la prostaglandina F_{2α}, que es transportada a través de la vena uterina y los vasos linfáticos hasta la arteria ovárica, determinando la pérdida de actividad biológica y la atrofia luteal de forma abrupta, produciéndose una nueva fase folicular (Knickerbocker *et al.*, 1988; Gordon, 1996; Bartlewski *et al.*, 1999; Einer-Jensen & Hunter, 2005).

1.6.2 Foliculogénesis

La foliculogénesis es el proceso por el que se producen el crecimiento y la maduración de los folículos, desde su estado primordial (con unos 100 µm de diámetro) hasta el ovulatorio (> 4 ó 5 mm, dependiendo de la tasa de ovulación) y que en la oveja tiene una duración aproximada de 180 días. La función de cada folículo es proporcionar el soporte necesario para que el oocito que contiene alcance su máximo potencial y pueda unirse con el espermatozoide para producir un embrión viable. Para ello, las células somáticas del folículo son vitales en el

crecimiento y desarrollo del mismo, así como en el control de la maduración nuclear y citoplasmática del oocito en los folículos seleccionados para ovular (Cahill & Mauleón, 1981).

En el ovario de las ovejas jóvenes existe una reserva de entre 40.000 y 300.000 folículos primordiales con 5-6 células de pregranulosa y sin red capilar sanguínea alguna, que permanecen en un estado de quiescencia a la espera de un desarrollo posterior. Una vez que se inicia el crecimiento ya no hay vuelta atrás y no pueden retornar al estado de quiescencia, de forma que el siguiente estadio de desarrollo son los folículos primarios, formados por oocitos rodeados de una capa de células de la granulosa (Driancourt, 1991). Existe una evolución continua de folículos primordiales a folículos primarios y posteriormente, a secundarios o preantrales, que ya presentan de 2 a 3 capas de células de granulosa (Driancourt, 1991; Fortune, 2003). También se produce en ellos la diferenciación de las células de la teca a partir de las células del estroma ovárico, de manera que forman una capa de células aplanadas alrededor de la membrana basal del folículo. En una oveja existen unos 4.000 folículos secundarios comprometidos simultáneamente, que tienen diámetros que oscilan entre 0,03 y 0,1 mm; por esta razón, su desarrollo no depende de las gonadotropinas hipofisarias.

Durante esta fase de desarrollo las células de la granulosa adquieren receptores FSH y las de la teca receptores LH, con lo que la actividad de síntesis de esteroides parece ser adquirida en la fase preantral del desarrollo folicular aunque no se expresa hasta la fase antral. El desarrollo de estos folículos se basa en un estímulo de la división celular donde, algunos factores de crecimiento, en particular el IGF y el EGF, producidos en las células de la granulosa y la teca, respectivamente, juegan un papel muy activo (Abecia & Forcada, 2011; Bartlewski *et al.*, 2011).

El siguiente estadio de desarrollo folicular es el de folículos con respuesta a las gonadotropinas, conocidos como folículos terciarios o antrales, y cuyo desarrollo se ve estimulado por la LH y FSH (Campbell *et al.*, 1995). Están sometidos a una cierta atresia, de manera que hay a la vez unos 25 folículos antrales, con un tamaño de 1 a 2,5 mm de diámetro, en una oveja. Estos folículos tienen receptores LH en las células de la teca, las cuales producen andrógenos a partir del colesterol, mientras que las células de la granulosa tienen receptores FSH y producen estradiol a partir de los andrógenos sintetizados por las células de la teca por un proceso de aromatización (Abecia & Forcada, 2011; Bartlewski *et al.*, 2011).

Los folículos, a partir de este estadio de desarrollo, se convierten en la fuente más importante de síntesis de esteroides ováricos durante el ciclo sexual, en respuesta a la LH y a la FSH. Esta capacidad sintética aumenta conforme lo hace el tamaño y la funcionalidad de los folículos. Los factores de crecimiento, así como la

activina y la inhibina producidas en las células de la granulosa influyen en la funcionalidad de los folículos antrales. La IGF y la activina potencian la acción FSH en la aromatización, mientras que la EGF la deprime. Paralelamente, la IGF y la inhibina potencian la acción LH de las células de la teca mientras que la EGF y la activina la deprimen (Abecia & Forcada, 2011; Bartlewski *et al.*, 2011).

Al avanzar el desarrollo folicular, los folículos antrales se transforman en folículos preovulatorios o folículos de Graaf, mediante la formación completa del antro y la diferenciación funcional y pasando a convertirse en folículos dependientes de gonadotropinas. Una oveja puede presentar entre 1 y 8 folículos preovulatorios cuyo tamaño oscila entre 2 y 5 mm de diámetro. Los folículos preovulatorios tienen elevados requerimientos de FSH y esto hace que sea el estadio folicular más vulnerable a la atresia, que se produce cuando las concentraciones plasmáticas de FSH son menores de 1 ng/ml o cuando las de LH son elevadas superando los 5 ng/ml. En la fase final del desarrollo de los folículos preovulatorios que no sufren atresia, tiene lugar la expresión de los receptores LH también en las células de la granulosa donde LH y FSH actúan de manera sinérgica en la actividad aromatasa para producir grandes cantidades de estradiol en la fase folicular del ciclo estral (Abecia & Forcada, 2011; Bartlewski *et al.*, 2011).

El número de receptores LH en las células de la teca aumenta para producir el sustrato androgénico de la aromatización. En este sentido, los folículos preovulatorios son las víctimas de la actividad del folículo ovulatorio, muy sensible a la FSH y con una alta secreción de E2 (que da lugar al comportamiento de celo y que precede al pico preovulatorio de LH) y de inhibina (Webb & Engeland, 1982). Esta última en particular ejerce una fuerte retroalimentación negativa a nivel hipofisario, induciendo una reducción de la síntesis de FSH por debajo del umbral crítico de supervivencia requerido por los folículos preovulatorios. El número de folículos que alcanzan este estadio de desarrollo en el ciclo sexual de la oveja, con un tamaño de unos 6 mm de diámetro, está determinado por la tasa de ovulación intrínseca de la raza, que habitualmente oscila entre 1 y 2 pero que puede aumentar considerablemente en las razas prolíficas (Campbell *et al.*, 1995; Webb *et al.*, 1999). Este fenómeno por el que el folículo ovulatorio impide el desarrollo de los folículos preovulatorios se conoce con el nombre de “dominancia folicular”.

Este folículo ovulatorio puede ser capaz de ovular, siempre y cuando se encuentre en fase folicular y se produzca, paralelamente, un pico preovulatorio de LH (Driancourt *et al.*, 1988; Price & Webb, 1989); en caso contrario, este folículo entra en proceso de atresia, dando paso al desarrollo de otro folículo reclutado del grupo de folículos que responden a las gonadotropinas, que reemplaza la anterior (Campbell *et al.*, 1995).

1.6.3 Dinámica folicular en la oveja

La dinámica folicular es un proceso continuo de crecimiento y regresión de folículos antrales, que finaliza en la ovulación o en la atresia (Lucy *et al.*, 1992).

El desarrollo de la ecografía transrectal adaptada para la especie ovina ha permitido observar que la selección y crecimiento de los folículos se realiza de forma continua a lo largo del ciclo sin evidencia firme de presentar un patrón organizado de crecimiento y regresión durante el mismo (Schrick *et al.*, 1993; Lopez-Sebastian *et al.*, 1997; Adams, 1999). Estudios posteriores han descrito el desarrollo de ondas primarias y secundarias, que se suceden de forma continua. Las ondas primarias son aquellas en las que se evidencia un folículo dominante y tienen lugar en la fase luteal temprana y en la fase folicular del ciclo y las ondas secundarias, aquellas donde no hay presencia de un folículo dominante y que se producirían de forma continua durante la fase luteal media (Adams, 1999; Vinales *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000; Evans, 2003). Cada una de estas ondas está compuesta por tres etapas: reclutamiento, selección y dominancia (Goodman & Hodgen, 1983).

El **reclutamiento** es la capacidad de un grupo de folículos para responder a la acción de las gonadotropinas hipofisarias, en particular, los patrones de secreción de FSH son los que determinan los procesos de crecimiento y reclutamiento foliculares (Picton *et al.*, 1990; Driancourt, 1991; Adams *et al.*, 1992; Webb *et al.*, 1999).

La **selección** es el proceso por el cual algunos de los folículos reclutados son capaces de continuar su crecimiento hasta estadios preovulatorios mientras la mayoría entran en atresia (Webb *et al.*, 1999). Este proceso lo inician los folículos en crecimiento, que secretan E2, inhibina y folistatina, provocando un descenso en la liberación de FSH (Gibbons *et al.*, 1997; Gibbons *et al.*, 1999; Padmanabhan, 2002).

La **dominancia** es la etapa en la que culmina el proceso de selección, donde uno o unos pocos folículos adquieren mayor tamaño y características funcionales que permiten aumentar su propio crecimiento a la vez que inhiben el crecimiento de los restantes (Webb *et al.*, 1999).

Esta etapa puede ser ejercida a dos niveles. El primero se denomina sistémico, indirecto o pasivo, y se ejerce a través de la reducción de los niveles de FSH hasta niveles muy bajos; los folículos no dominantes entran en atresia y desaparecen. Este efecto se produce por un mecanismo de retroalimentación negativa que ejercen la inhibina y el E2 secretados por los folículos de mayor tamaño (Martin *et al.*, 1988; Driancourt, 1991). El segundo se denomina local, directo o activo, y consiste en un efecto inhibitorio directo sobre el crecimiento de

los folículos menos desarrollados, a través de la secreción de sustancias en la sangre que reducen la sensibilidad de estos folículos a la FSH (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004).

Las oleadas de crecimiento folicular aparecen durante el ciclo estral, durante el anestro estacional y durante la gestación. Normalmente la oveja presenta tres oleadas de crecimiento y 4 oleadas en la cabra, aunque están publicadas variaciones entre ciclos (Menchaca *et al.*, 2010). En este sentido, Ginther *et al.*, en 1995, señalan un número medio de 4 ondas foliculares en ovejas de la raza Polipay; otros estudios como el de Leyva *et al.*, en 1998, describen un número menor de ondas (2 en el 21% de los animales y 3 en el 79%) en ovejas de la raza Suffolk (Ginther *et al.*, 1995; Leyva *et al.*, 1998).

Cada oleada de crecimiento folicular está precedida de un incremento en la concentración de FSH. Tras el reclutamiento, normalmente uno y a veces dos o tres folículos continúan creciendo y adquieren un diámetro ≥ 5 mm, mientras que el resto de folículos medianos (4-5 mm) y pequeños (2-4 mm) entran en atresia. El folículo/s más grande ovula o regresa y una nueva oleada de crecimiento emerge con un intervalo entre oleada de 5 días (rango 3-7d) (Menchaca *et al.*, 2010).

1.6.4 Ovulación, crecimiento y desarrollo del cuerpo lúteo

La ovulación es un proceso consistente en la ruptura de la pared del folículo ovulatorio y la liberación de su contenido, incluyendo el oocito maduro, para dar lugar a un CL (Pineda, 1989).

En el folículo ovulatorio pueden distinguirse cinco capas celulares, que son, desde la más externa a la más interna: la superficie epitelial, la túnica albugínea, la teca externa, la teca interna y el estrato granuloso, que consta de unas cinco a siete capas de células, excepto en donde las células forman una base para la sustentación del oocito denominada *cumulus oophorus*. Asimismo, existe una membrana basal que separa a las células de la granulosa de la teca interna (Espey, 1994).

El oocito maduro secreta un factor que permite la expansión de las células del *cumulus oophorus* y precede al proceso de ovulación propiamente dicho. Paralelamente las células de la granulosa empiezan a sufrir cambios funcionales que reducen considerablemente su capacidad para producir E2. Esto a su vez estimula la expresión de enzimas con capacidad para degradar el colágeno, la elastina, los proteoglucanos, etc., que participan activamente en la ruptura folicular y, por tanto, en la ovulación. Estos cambios son inducidos, principalmente, por la LH hipofisaria. El inicio de estos pasos previos a la ovulación varía entre las diferentes especies de mamíferos (Espey, 1994). En el caso de la oveja su inicio ocurre entre 21 y 33 horas después del comienzo del celo (Stellflug *et al.*, 1997).

En caso de que el folículo dominante alcance la ovulación, dará lugar a un CL, en un proceso continuo e ininterrumpido de luteinización (Smith *et al.*, 1994) que requiere de la rápida conversión de un folículo predominantemente productor de estrógenos a un CL predominantemente productor de P4 (Bowen-Shauver & Telleria, 2003), hormona esencial para la implantación del blastocisto y el mantenimiento de la gestación (Keyes & Wiltbank, 1988). El CL se desarrolla en un proceso en el que las células foliculares de la teca se transforman en células luteales pequeñas, mientras que las de la granulosa pasan a ser las células luteales grandes. Además, el CL secreta, en pequeñas cantidades, péptidos tales como relaxina, oxitocina, vasopresina e inhibina (Field, 1991).

En caso de que no se produzca gestación, el CL sufrirá regresión y dará paso a una nueva ovulación. Por ello, la dinámica de crecimiento del CL se describe como un patrón de crecimiento y regresión (Jablonka-Shariff *et al.*, 1993; Reynolds *et al.*, 1994; Reynolds & Redmer, 1999). En la oveja, el CL tiene un peso inicial de 30 a 40 mg, inmediatamente después de la ovulación, y alcanza un peso de 750 mg en, aproximadamente, 12 días después de la ovulación (Baserga, 1985; Reynolds *et al.*, 1994). En general, el peso del CL está relacionado positivamente con el tamaño corporal en las diferentes especies de mamíferos, pero, por el contrario, existe una relación inversa entre el tamaño del CL y el número de CLs (Reynolds *et al.*, 1994).

El mantenimiento de la función luteal se debe principalmente a la acción de la LH y la hormona de crecimiento (GH); sin embargo, existen otras sustancias involucradas, tales como el IGF-I, la PGE₂ y la PGI₂, que también incrementan la producción de P4 (Juengel & Niswender, 1999).

Cuando no se establece la gestación, desde el endometrio se inician los procesos que conducen a la lisis del CL. Esta se produce por la acción de la PGF_{2α}, la cual se sintetiza y libera en el endometrio uterino. La producción de PGF_{2α} es, a su vez, inducida por la oxitocina sintetizada por el CL, la cual ejerce su acción a través de receptores localizados a nivel del endometrio materno (Wathes & Lamming, 1995).

Estos procesos que tienen lugar durante la luteolisis coinciden con la fase de crecimiento de una onda folicular, el conjunto de ambas constituyen la fase folicular del ciclo sexual. Esta se caracteriza por una disminución de los niveles de P4, que dan lugar a una mayor liberación de LH; necesaria para el desarrollo, maduración y ovulación del folículo ovulatorio. Por el contrario, si no se produce la luteolisis, los altos niveles de P4 mantienen en niveles basales (pulsos de baja frecuencia) las concentraciones de LH; en consecuencia, el crecimiento del folículo seleccionado se desacelera, sufriendo un proceso de atresia que conduce a la aparición de una fase de reclutamiento folicular y una nueva onda de desarrollo folicular (Lopez-Sebastian *et al.*, 1997; Adams, 1999).

1.6.5 Ciclo sexual y estacionalidad en la oveja

En el proceso reproductivo intervienen tres elementos básicos: el hipotálamo, la hipófisis y las gónadas. Estas tres estructuras se relacionan entre sí de manera muy estrecha para asegurar los diferentes acontecimientos que tienen lugar en el ciclo sexual de la oveja. El objetivo del ciclo sexual es la formación de oocitos maduros y la preparación del aparato genital para instaurar la gestación si se produce la fecundación. Todo ello se consigue mediante el gobierno hipotalámico y la modulación que ejercen otros factores externos, tanto el fotoperiodo como el nivel nutricional, o incluso, los condicionantes sociales dentro del rebaño (Abecia & Forcada, 2011).

La mayoría de los mamíferos en la vida silvestre expresan variaciones estacionales en sus características reproductivas, adaptándose a las condiciones y ciclos de su medio natural, distribuyendo los nacimientos de una forma más o menos marcada a lo largo del año. Según especies esta denominada “estacionalidad” es de diferente intensidad, siendo especialmente marcada en las ovejas y las cabras (Chemineau *et al.*, 2008).

La domesticación de estas especies no ha implicado una modificación de los patrones estacionales de reproducción mostrados por estos animales en la vida salvaje, cuyo objetivo es que los corderos y los cabritos nazcan al final del invierno o principio de la primavera, el periodo más favorable del año para garantizar la supervivencia de la progenie (Chemineau *et al.*, 2008; Abecia *et al.*, 2012). Esto condiciona, ya dentro de los sistemas productivos, cambios en la disponibilidad de los productos frescos derivados del ovino y caprino (carne, leche y queso), lo cual explica la relevancia que tiene dentro de la producción animal, la característica estacionalidad reproductiva en ambas especies.

Precisamente uno de los rasgos más importantes de la reproducción ovina es la estacionalidad. Los patrones de actividad reproductiva en la oveja adulta, no gestante, están dominados por dos ritmos distintos. Uno de ellos es un ciclo estral de 16-17 días de duración, con una media de $16,8 \pm 0,3$ días (Acritopoulou *et al.*, 1977). El otro es un ritmo anual de ciclicidad ovárica caracterizado por el cese (anestro) y restauración (estación reproductiva) de ciclos ováricos ovulatorios (Legan & Karsch, 1979; Bartlewski *et al.*, 2011).

Pese a ello en el periodo de transición entre el anestro y la actividad sexual (final de verano), los ciclos cortos son bastante comunes. Esto es debido a que el cuerpo lúteo (CL), con frecuencia, involuciona prematuramente 5 o 6 días después de su formación (Rosa & Bryant, 2003).

De esta forma, la reproducción en las ovejas sigue un patrón estacional, es decir, existe una alternancia entre los periodos de anestro y de actividad sexual. La estacionalidad está regulada por el fotoperiodo o duración de luz diaria, de manera

que la reducción de la duración del día estimula la actividad sexual y su aumento induce el anestro (Legan & Karsch, 1980).

Las ovejas son capaces de “monitorizar” por sí mismas los cambios en el fotoperiodo diario mediante la secreción circadiana de melatonina por parte de la glándula pineal.

La melatonina es una hormona, una de cuyas funciones es la transducción de la información fotoperiódica al control de las funciones estacionales, particularmente la reproducción (Malpaux *et al.*, 1996). Esta fotorrecepción es transmitida desde la retina, a través de las neuronas, a un área del hipotálamo conocida como núcleo supraquiasmático. De ahí al ganglio cervical superior, desde donde se produce una sinapsis con las neuronas inhibitorias, que hacen contacto con los pinealocitos, que son las células de la glándula pineal (Figura 7). Los pinealocitos secretan la melatonina, que es sintetizada y liberada solamente durante la noche (Legan & Karsch, 1979; Karsch *et al.*, 1984).

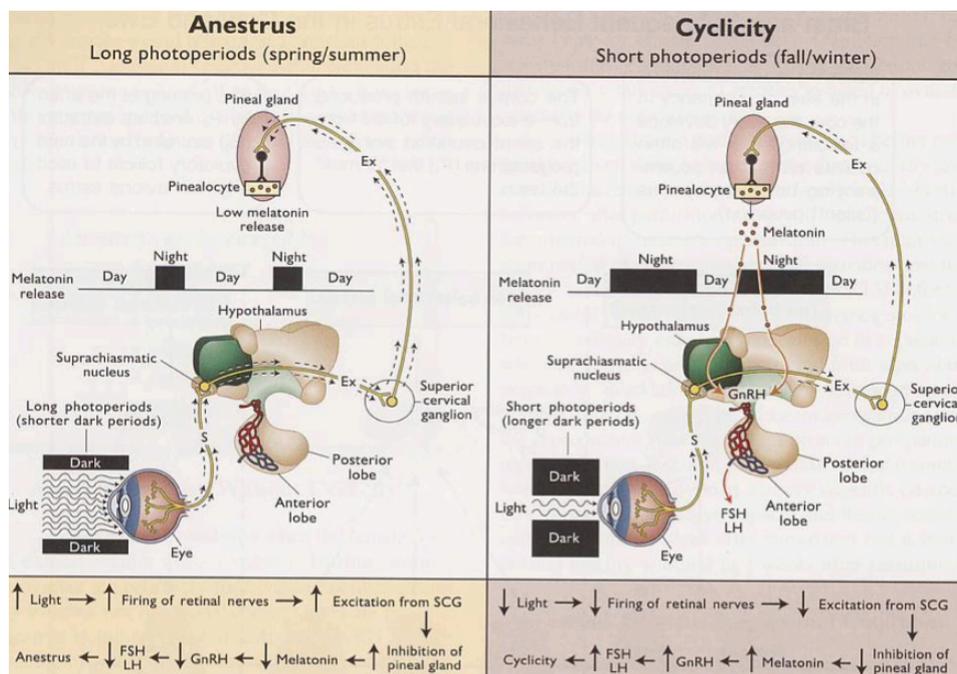


Figura 7. Esquema de activación/inhibición de la ciclicidad en la oveja mediante la melatonina. Fuente: Pathways to pregnancy and parturation. Senger, P. L. 2005 (Senger, 2005).

La producción de melatonina está regulada por el fotoperiodo, encontrándose concentraciones elevadas de esta hormona en sangre sólo durante las horas de oscuridad. Las características del patrón circadiano de la secreción de melatonina varían con los cambios en el ciclo de luz-oscuridad a lo largo del año, lo que permite que el animal “reconozca” los cambios en la proporción de luz-oscuridad (Malpaux, *et al.*, 1996). Los periodos largos de secreción de melatonina estimulan y regulan la secreción pulsátil de GnRH hipotalámica, induciendo los correspondientes cambios en la secreción de LH y promoviendo así la ciclicidad.

Por tanto, es la GnRH la encargada de modular la liberación de gonadotropinas hipofisarias y éstas, a su vez, controlan la actividad reproductora estacional (Kennaway *et al.*, 1987; Malpaux *et al.*, 1999).

Aunque el fotoperiodo es el principal determinante de la estacionalidad hay otros factores que pueden influir sobre los patrones reproductivos, como la genética, las prácticas de manejo y las interacciones sociales (Rosa & Bryant, 2003).

La estación reproductiva de esta especie es una sucesión de ciclos estrales, los cuales empiezan normalmente en verano o a principios de otoño, con una duración decreciente de horas de sol, y finalizan al final del invierno o principio de primavera, cuando los días comienzan a crecer (Abecia *et al.*, 2011). La responsable de estos cambios es una compleja combinación de un ritmo circanual endógeno conducido y sincronizado por la luz y la melatonina, la cual controla la actividad pulsátil de las neuronas de GnRH en el hipotálamo preóptico-mediobasal (Chemineau *et al.*, 2010).

La duración de la estación reproductiva tiene una clara influencia racial. En la mayoría de las razas del hemisferio norte existe un pico de fertilidad a finales del otoño (octubre-noviembre). Por tanto, los mayores porcentajes de partos se registran a finales de marzo y en abril, el periodo más favorable del año para garantizar la supervivencia de la progenie (Chemineau *et al.*, 2008; Abecia *et al.*, 2012).

Las razas de latitudes intermedias, como la merino australiana o las mediterráneas, presentan un anestro breve, durante el cual una cierta proporción de las ovejas ovula espontáneamente. En los entornos tropicales y subtropicales las ovejas no son estacionales, o son intermitentemente poliéstricas, dependiendo la actividad sexual, de la disponibilidad y de la calidad del alimento (Rosa & Bryant, 2003).

Durante la estación no reproductiva (anestro), no se observan ciclos estrales como tales. Aunque los signos de comportamiento del estro y la ovulación están ausentes, se dan no obstante, cambios dinámicos en el crecimiento folicular ovárico y su regresión a lo largo de la estación no reproductiva. El anestro se debe a la imposibilidad de los folículos antrales para crecer y madurar, lo cual suele suceder en la fase preovulatoria del ciclo estral. Sin embargo, el desarrollo posterior de estos folículos puede estimularse artificialmente, lo que permite la reproducción durante el anestro o los periodos de transición (O'Callaghan *et al.*, 1994).

La estacionalidad afecta también a la actividad sexual de los moruecos que, aunque pueden aparearse en cualquier momento del año, sufren un descenso de la eficacia reproductiva fuera de la estación natural debido a la falta de libido y a una

menor cantidad y calidad del eyaculado durante el periodo no reproductivo (Gerlach & Aurich, 2000).

Este patrón de reproducción estacional, tiene como resultado un claro periodo concentrado de partos y, si los animales están en ordeño, un patrón estacional de producción de leche y carne. Tal situación causa, lógicamente, un patrón estacional de precios de los productos, que son muy bajos cuando la oferta de carne/leche es alta (generalmente, desde final de primavera hasta principios de otoño) y viceversa.

1.7 Manejo y control de la reproducción

La planificación reproductiva es fundamental en la explotación ovina ya que todos los demás factores productivos y de manejo van a depender de la misma y se van a organizar en función del calendario reproductivo que se elabore. La previsión del mismo va a permitir adelantarse a la compra de materias primas para la alimentación de los animales, prever la contratación de mano de obra extra, conocer de antemano los momentos de venta y, por lo tanto, controlar las partidas de ingresos y gastos a lo largo del año (Daza Andrada, 2002).

De aquí, es obvio deducir que se trata de una oportunidad de mejora de la rentabilidad en este tipo de explotaciones, ya que la homogeneización, consiguiendo producciones “fuera de estación”, permite que se puedan obtener precios más altos durante el invierno. En consecuencia, aquellos ganaderos capaces de poner en el mercado productos “fuera de estación”, se benefician de los precios más altos que rigen durante el invierno, aumentando así su rentabilidad, objetivo que se consigue minimizando o revirtiendo los efectos de la estacionalidad reproductiva mediante el uso estratégico de tecnologías reproductivas y, en concreto, mediante la inducción de ciclos estrales durante la estación de anestro (Chemineau *et al.*, 2008; Abecia *et al.*, 2012). Es también una herramienta esencial para la intensificación de la producción ovina (Hernández *et al.*, 2011).

El manejo reproductivo en el ovino puede clasificarse en natural (mediante la alteración del fotoperiodo, el *flushing* o el “efecto macho”) o farmacológico (usando distintos productos hormonales, como melatonina, prostaglandinas o progestágenos) (Haresign, 1981).

La alteración del fotoperiodo implica la exposición de las ovejas a una duración del día reducida artificialmente tras un periodo de duración prolongada. Si se usa solo acelerará el inicio del periodo reproductivo, aunque con resultados variables y con una extensión impredecible con respecto al inicio de la ciclicidad (Legan & Karsch, 1980).

El *flushing* consiste en aumentar el plano de nutrición de las ovejas (ingesta de proteína y energía) aproximadamente 3-4 semanas antes del inicio planeado de la estación reproductiva. Las ovejas con una condición corporal que está mejorando se benefician de una mayor tasa de ovulación y, por tanto, de una mejor fertilidad. Por ello, suelen responder mejor cuando tienen una condición corporal intermedia (2,5-3,5). Este método se utiliza normalmente para mejorar la prolificidad y la fecundidad, pero no con el objetivo de inducir y sincronizar el estro (Haresign, 1981).

El efecto macho consiste en la introducción de moruecos a un grupo de ovejas que han estado apartadas de los machos varias semanas antes (al menos 4 semanas), este efecto mediado por las influencias sociales (quimiosensoriales, táctiles o visuales) tienen efectos potentes sobre la función reproductiva en variedad de especies. Los moruecos pueden estimular la secreción de gonadotropinas y la ovulación en la oveja en anestro a través de éstos estímulos (Delgadillo *et al.*, 2009).

En cuanto al manejo farmacológico del ciclo reproductivo, éste se basa en la administración de hormonas exógenas que modifican los patrones reproductivos (Thimonier, 1981; Abecia *et al.*, 2011), bien manteniendo la fase luteal mediante el uso de P4 y/o sus análogos progestágenos (Vilarino *et al.*, 2013), bien interrumpiéndola con PGF_{2α} o análogos sintéticos (Pope & Cárdenas, 2004), o bien modificando el patrón anual de reproducción con melatonina (Malpaux *et al.*, 1997).

La fase folicular también puede ser modificada con gonadotropina coriónica equina (eCG) administrada al tiempo que cesa la exposición a la P4, lo que aumenta la velocidad del desarrollo folicular y la ovulación, mejorando así los índices de fertilidad (Blaschi *et al.*, 2014).

Los protocolos basados en hormonas han sido ampliamente empleados para incrementar el rendimiento reproductivo y la productividad en la oveja. El uso de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) permite asimismo la sincronización de partos, la organización de lotes de corderos según la demanda del mercado, un inicio más temprano de la pubertad, y una mejora de la fertilidad (Abecia *et al.*, 2012; Blaschi *et al.*, 2014).

El método natural es más barato, pero da lugar a una sincronización menos exacta y sólo es de utilidad en ciertas condiciones. En cambio, los métodos farmacológicos son eficaces para la sincronización exacta del estro en la mayoría de las situaciones, pero con la desventaja del coste del producto y su administración. De todas formas, al asegurar unas buenas cifras de producción, se puede rentabilizar si se utilizan para hacer una cubrición en primavera y así tener la posibilidad de vender los corderos a finales de año, que es cuando alcanzan el precio más alto (Abecia *et al.*, 2012).

1.7.1 Progesterona, sus análogos (progestágenos) y eCG

Los métodos que utilizan progesterona o sus análogos están basados en sus efectos sobre la fase luteal del ciclo, simulando la acción de la progesterona natural producida por el CL, es decir, controlar la secreción de LH desde la pituitaria (Hansel & Convey, 1983b).

Los primeros tratamientos para controlar el ciclo sexual de la oveja fueron publicados a finales de la década de los 40 (Dutt & Casida, 1948) y consistían en la administración diaria de inyecciones subcutáneas de 10 mg de progesterona, diluidos en 2 ml de aceite de maíz, durante 14 días. El tratamiento redujo el rango, dentro del cual, los animales se apareaban a los 8 días (O'Mary *et al.*, 1950). En investigaciones posteriores se administró eCG y gonadotropina coriónica humana (hCG) además del tratamiento con progesterona. El control óptimo se alcanzó cuando la eCG fue dada en el momento de la última inyección de progesterona y la hCG 24 horas más tarde. Con este tratamiento la mayoría de las ovulaciones se produjeron entre 20 y 28 horas después de la inyección de hCG. Sin embargo, ninguna de las ovejas mostró comportamiento de celo en este momento (Braden *et al.*, 1960).

En 1962, Southcott *et al.* usaron con éxito un análogo de la progesterona, 6-methyl-17-acetoxypregesterona, para inducir y sincronizar el estro en ovejas. Su hipótesis era que un agente progestágeno cuya actividad cayese de manera relativamente brusca después de finalizar el tratamiento debería dar mejores resultados, ya que los trabajos anteriores tenían bajas fertilidades debido al efecto persistente de la progesterona en el ambiente uterino y oviductal (Southcott *et al.*, 1962). Además, se descubrió la vía de administración intravaginal de la progesterona o sus análogos para facilitar la supresión inmediata de estas hormonas (Abecia *et al.*, 2011).

El grado de sincronización obtenido y el intervalo entre el final del tratamiento y el inicio del estro dependen del producto usado y, en general, son los más utilizados en épocas de anestro. Los progestágenos pueden administrarse de distintas formas (esponjas, implantes, etc.), por distintas vías (intravaginal, intramuscular, subcutánea) y a distintas dosis (Henderson & Robinson, 2007).

Los dispositivos intravaginales impregnados con progestágenos, se han usado desde principios de los años 60 para sincronizar ciclos estrales en ovejas (Robinson, 1965). Existen dos métodos usados comercialmente para este tipo de administración: las esponjas de poliuretano impregnadas con progestágenos; y el dispositivo interno de liberación controlada de fármacos (CIDR; Controlled Internal Drug Release), diseñado en Nueva Zelanda a finales de los años 80 y que contiene 0.30 g de progesterona natural (Welch *et al.*, 1984; Abecia *et al.*, 2012).

Las esponjas vaginales se mantienen en contacto con el cérvix predisponen a un incremento de la microbiota bacteriana que puede causar vaginitis y formar adherencias que ocasionen problemas reproductivos en el rebaño (Amiridis & Cseh, 2012). Sin embargo, con el uso del CIDR, fabricado con un elastómero de silicona inerte, la presentación de vaginitis e infecciones vaginales son casi inexistentes (Tondello, 2010).

En ovejas, las esponjas intravaginales o los CIDRs se mantienen durante un periodo de 12-14 días. Las ovejas entran en estro aproximadamente 48 horas después de retirar el dispositivo (Wheaton *et al.*, 1993). Para que el tratamiento progestágeno sea efectivo es necesario que haya suficiente gonadotropina disponible para iniciar los eventos preovulatorios, incrementando los niveles de gonadotropinas endógenas con FSH exógena proporcionada a partir de la administración de eCG en el momento de la retirada del producto (Powell *et al.*, 1996).

Una posible alternativa para minimizar el tiempo de permanencia de los dispositivos vaginales, es la sincronización del estro y la ovulación mediante una menor exposición al tratamiento progestágeno (Ungerfeld & Rubianes, 1999). Estos tratamientos consisten en la inserción de esponjas o CIDRs, impregnados en progestágenos, durante 6 días. Este periodo es más corto que la vida media de un posible CL en el ovario, por lo tanto, es necesario aplicar una dosis única de PGF_{2α}, o sus análogos, simultáneamente a la inserción de la esponja, para inducir la lisis del CL. La respuesta a este tratamiento es similar a la obtenida con los tratamientos de larga duración (Letelier *et al.*, 2009).

El único dispositivo intravaginal comercializado en España se presenta en forma de esponjas impregnadas en progestágenos. Estas esponjas contienen acetato de medroxiprogesterona (MPA) o acetato de flugestona (FGA), ambos más potentes que la progesterona natural. En el caso del acetato de flugestona (FGA) la dosis empleada es de 20 ó 30 mg/esponja, mientras que en el acetato de medroxiprogesterona (MPA) se emplean 60 mg/esponja (Letelier *et al.*, 2009).

El FGA es aproximadamente 20 veces más potente que la P4 y exhibe actividad progestágena pero no propiedades anti-progestágenas, anti-androgénicas o androgénicas junto con una baja actividad glucocorticoide. Como resultado de su unión a receptores de progesterona, el FGA actúa por retroalimentación negativa sobre el eje hipotálamo-hipofisario, suprimiendo la liberación de gonadotropinas desde la pituitaria y por tanto, el crecimiento folicular terminal y la ovulación (Abecia *et al.*, 2011). En la actualidad, se pueden encontrar esponjas de FGA a dos dosis diferentes: Sincropart® (30 mg acetato de flugestona, Ceva Salud Animal, Barcelona, España) y Chronogest® (20 mg acetato de flugestona, MSD Animal Health, Salamanca, España).

El MPA es aproximadamente 10 veces más potente que la P4, su mecanismo de acción, al igual que el FGA, es la inhibición de los factores liberadores de gonadotropinas hipofisarias a nivel hipotalámico. La consecuencia es una inhibición de la liberación de LH y FSH, sumado a la disminución de la respuesta ovárica de las mismas, dando como resultado el efecto anovulatorio (Abecia *et al.*, 2011). En la actualidad sólo existe una forma comercial de esponjas de MPA, Esponjavet® (60 mg acetato de medroxiprogesterona, Hipra, Girona, España).

Los niveles sanguíneos de progestágenos son elevados durante la permanencia de la esponja, normalmente durante 12-14 días, para imitar la duración de un CL funcional normal. Tras su retirada, la caída brusca del nivel de progestágeno pone en marcha los acontecimientos hormonales que conducen al celo y la ovulación, siempre que las ovejas se encuentren sexualmente activas. Si no están sexualmente activas, el tratamiento estimulante con progestágenos debe ser reforzado con tratamientos estimulantes para los folículos, como eCG, en el momento de la retirada de las esponjas, para inducir el crecimiento folicular, el estro y la ovulación (Abecia *et al.*, 2011).

El acetato de melengestrol (MGA), otro progestágeno sintético, también ha sido usado para inducir el estro en ovejas y cabras. Se han propuesto algunos protocolos para su administración, pero todos lo incluyen en la alimentación, bien mezclado en la ración total o como suplemento alimenticio cada 8-12 horas, normalmente durante un periodo de 8-14 días. La dosis diaria más usada es 0.25 mg/animal/día, la mayoría de los casos, dos veces por día (0.125 mg x 2) (Powell *et al.*, 1996). En un estudio realizado en los años 70 por investigadores noruegos, se logró que el 89% de las ovejas entraran en celo en los 6 días siguientes y el 74% de ellas quedarán preñadas y, aunque los autores mantenían que estos resultados eran mucho mejores que la mayoría de los anteriores, incluyendo las esponjas intravaginales, varias consideraciones ligadas a la dosificación oral, tales como el tiempo, el trabajo, y el coste, hacen que la aplicación de estos métodos sea comercialmente imposible (Velle & Helle, 1979).

La eCG es una glicoproteína compleja, que, desde el punto de vista farmacodinámico, presenta una alta actividad tanto FSH como LH. Gracias a su actividad FSH, la eCG estimula el crecimiento de las células intersticiales del ovario, así como el crecimiento y maduración de los folículos. Por su actividad LH es también capaz de desencadenar la ovulación actuando directamente sobre el ovario. En el macho, la eCG estimula el desarrollo del tejido intersticial de los testículos y de las glándulas sexuales anejas. La eCG, aplicada después de un tratamiento con progestágenos, favorece el inicio de una fase folicular, la aparición del celo y el desencadenamiento de ovulaciones sincronizadas.

La dosis de eCG varía desde 250 a 500 UI, dependiendo de la edad (250-300 UI en corderas, 350-500 UI en ovejas adultas), la época del año (400-500 UI en

anestro, 300-350 UI durante la época de reproducción), y la raza (dosis más bajas en razas prolíficas). Para el apareamiento de los animales, el ratio macho: hembra recomendado es 1:10 en época reproductiva, aunque puede ser más bajo (1:5-7) fuera de temporada. La inseminación puede realizarse desde las 47 horas, en el caso de inseminación intrauterina, hasta las 55 horas, en el caso de inseminación cervical, después de retirar el dispositivo (Naim, 2009).

Los factores más importantes a tener en cuenta antes de decidir qué método usar son: el grado de sincronización necesario, la estación y los factores económicos y de mercado. Sin embargo, el resultado de las cubriciones dependerá de diversos factores, en particular de la habilidad y fertilidad de los machos durante la época de anestro. Por eso es conveniente, fuera de la época de reproducción, utilizar implantes de melatonina en los machos, para que los resultados en cuanto a las tasas de concepción y de partos no se vean afectados (DeNicolo *et al.*, 2008).

Las ovejas que se encuentran en anestro, al celo inducido le sigue solo otro celo, 16-18 días después de la retirada del dispositivo, después de este ya no tienen lugar más celos hasta la época reproductiva (Abecia *et al.*, 2011).

1.7.2 Prostaglandina F_{2α} y sus análogos

La prostaglandina F_{2α} y sus análogos sintéticos han sido estudiados ampliamente desde su descubrimiento en 1970 como un potente agente luteolítico en rumiantes (McCracken *et al.*, 1972).

La administración exógena de PGF_{2α} o sus análogos de síntesis se utiliza para inducir una luteolisis controlada, de manera que puede usarse para sincronizar el estro en las ovejas cíclicas. El efecto luteolítico da lugar a la regresión del CL y a un descenso de las concentraciones de P4 en sangre. El incremento en la cantidad de gonadotropinas hipofisarias estimula el desarrollo folicular. El celo aparece a los 2-3 días y la ovulación unas 24 horas más tarde. Los análogos de prostaglandinas más comúnmente usados en veterinaria son el cloprostenol y el luprostiol y un protocolo habitual en ovejas y cabras es 125µg de cloprostenol o 7,5mg de luprostiol. Sin embargo, para ser efectivo, debe aplicarse en presencia de CL, de forma que los animales que estén en anestro no responderán al tratamiento (McCracken *et al.*, 1970).

Los tratamientos con PGF_{2α} tienen la ventaja de ser efectivos mediante la administración por vía intramuscular, mejorando el bienestar animal (Douglas & Ginther, 1973). Además son de rápida y casi completa metabolización en los pulmones y, por consiguiente, no se acumulan en los tejidos (Piper *et al.*, 1970).

El principal inconveniente del uso de PGF_{2α} es que, para que la hormona sea efectiva, es necesario aplicarla en presencia de un CL activo que responda al efecto de PGF_{2α} (Rubianes *et al.*, 2003). La administración de PGF_{2α} entre los días 3 y 14

del ciclo induce luteolisis, seguida de estro y ovulación (Acritopoulou *et al.*, 1977; Acritopoulou & Haresign, 1980; Rubianes *et al.*, 2003). Teniendo en cuenta la imposibilidad de conocer la fase del ciclo estral en un grupo de hembras, se hace necesaria la administración de dos inyecciones de PGF_{2α} con un intervalo de 9-10 días. De esa manera, casi todos los animales del grupo estarán en mitad de la fase luteal a la segunda dosis y responderán al tratamiento (Abecia *et al.*, 2011; Abecia *et al.*, 2012).

Otro de los inconvenientes de este protocolo de doble inyección de PGF es que la fertilidad de las ovejas en la primera monta es solamente del 70%, significativamente más baja que la obtenida con los tratamientos con progestágenos (Boland *et al.*, 1978; Godfrey *et al.*, 1999). Este problema puede deberse a que el intervalo de 9-10 días asegura la presencia de CL a la segunda inyección en la mayoría de los animales, pero su presencia altera la funcionalidad, la maduración final de los folículos preovulatorios y la luteogénesis normal. También es debido a la variabilidad en el tiempo de ovulación después de la luteolisis inducida (Barrett *et al.*, 2002; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005). De igual forma la existencia de altas concentraciones de P4 durante la fase luteal media del ciclo disminuye la secreción de LH. Esta disminución es necesaria para crecimiento final y la maduración de los folículos preovulatorios (Campbell *et al.*, 1995; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004).

1.7.3 Protocolos hormonales más utilizados en programas de monta natural

Prostaglandina + efecto macho

El tratamiento consiste en dos dosis de PGF_{2α} o sus análogos, administrándolos con 10 días de diferencia, y exponiendo a las ovejas al efecto macho coincidiendo con la aplicación de la segunda dosis. El ratio macho: hembra recomendado es 1:10. Las ovejas estarán en celo para ser cubiertas por el macho o bien para la inseminación aproximadamente 48 horas después de la segunda dosis de PGF_{2α}. La inseminación puede realizarse entre 48 y 55 horas después de la segunda inyección pudiéndose obtener ratios de fertilidad entre 44% y 62,5% (Abecia *et al.*, 2011).

La combinación de PGF_{2α} en la fase luteal temprana combinada con el efecto macho puede ser una alternativa adecuada para la sincronización del estro antes de la inseminación sin la previa detección del celo. El efecto macho se usa comúnmente para inducir un pico de LH, estro y ovulación durante la época de transición, sin embargo, también induce un incremento en la secreción de LH durante el periodo ovulatorio, en ovejas cíclicas, tratadas con progestágenos y con prostaglandinas (Evans *et al.*, 2004; Hawken *et al.*, 2007; Contreras-Solis *et al.*, 2009).

Progesterona + eCG

Los protocolos basados en el uso de progestágenos son los más comúnmente usados en todo el mundo (Whitley & Jackson, 2004).

El más habitual, en ovino, es la aplicación de esponjas intravaginales insertadas durante 12 ó 14 días. El estro se producirá, aproximadamente, 48 horas después de la retirada de los dispositivos. El tratamiento incluye la administración de eCG, coincidiendo con la retirada de las esponjas; la dosis de eCG varía de 250 a 500 UI dependiendo de la edad (250-300 UI en corderas y 350-500 UI en ovejas), la estación (400-500 UI durante el anestro y 300-350 durante la estación reproductiva) y la raza (menos dosis en razas prolíficas). Durante la cubrición, el ratio recomendado es de un macho por cada 10 ovejas en época reproductiva, pero debería ser más bajo (1:5-7) en “contraestación”. La inseminación artificial puede ser llevada a cabo desde las 47h (intrauterina) hasta las 55h (cervical) tras la retirada de los dispositivos (Abecia *et al.*, 2011).

Progesterona + Prostaglandinas

Una estrategia para reducir la exposición de los animales a los dispositivos intravaginales así como a los tratamientos con progestágenos es, evidentemente, acortar el periodo de tratamiento. Para que el tratamiento con P4 o progestágenos sea efectivo, éste debe ser más largo que la fase luteal. Así, durante el periodo ovulatorio, es necesario eliminar el CL para reducir el tiempo de exposición. Normalmente se emplea PGF_{2α} o sus análogos para ese fin (Abecia *et al.*, 2011).

Se inserta el dispositivo liberador de progestágeno (esponja o dispositivo subcutáneo), sintético o natural, con 30 a 60 mg, puede ser de MAP o de FGA. El día de la inserción del dispositivo es considerado el día 0. En caso de usar un dispositivo subcutáneo, debe permanecer durante 9 días. La esponja o el CIDR permanece en la vagina entre 9 y 14 días en lugar de 18, mientras se aplica una sola dosis de PGF_{2α} el día 9. El estro se presenta entre las 36 a 48 horas tras la aplicación de PG y la ovulación 10 horas más tarde. La fertilidad tras la inseminación con semen congelado es mejor si se compara con los protocolos clásicos (61% ante un 57%). En el presente, el tiempo de permanencia de los dispositivos intravaginales puede reducirse más, de 5 a 7 días. El efecto en el ovario es similar a los protocolos clásicos y la fertilidad puede verse mejorada (Peralta, 2007; Tondello, 2010; Abecia *et al.*, 2011).

Progesterona + Prostaglandina + eCG

En este protocolo de sincronización el dispositivo con el progestágeno se utiliza del mismo modo que en los dos protocolos anteriores. Dos días antes (48h) de retirar el dispositivo, se administran dosis únicas de eCG y PGF_{2α} (250 a 400 UI y 10 mg, respectivamente) ambas por vía IM. Esto permite un periodo de actividad más largo y un mejor reclutamiento y maduración de los folículos y los oocitos. El

estros se presentarán en 24-48 horas y la ovulación de 10 a 12 horas después de iniciados los signos de estros (Suárez, 2010).

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2 Justificación y objetivos

La eficiencia reproductiva es un punto clave en la eficiencia productiva global de las explotaciones ovinas, como en el resto de explotaciones ganaderas, ya que facilita la mejora de las producciones por selección de reproductores y por aumento de la fertilidad y prolificidad de los rebaños. Por ello, es absolutamente necesario un adecuado manejo reproductivo. Concretamente, en el ganado ovino, las actuaciones fundamentales son el control de los periodos de monta y la aplicación de inseminación artificial. El control de los periodos de monta tiene como objetivo producir lotes de corderos homogéneos para abastecer la demanda del mercado, superando la limitación estacional en la oferta del producto y aumentando su valor económico. Por otro lado, la inseminación artificial facilita la introducción y difusión de machos mejorantes y la interconexión entre rebaños.

En la consecución de estos objetivos se hace necesaria la aplicación de protocolos de reproducción asistida que conllevan con frecuencia la utilización de tratamientos de inducción y sincronización de celos y que están basados, generalmente, en la utilización de hormonas exógenas.

La sincronización del celo, en el caso de los pequeños rumiantes, se realiza habitualmente mediante la manipulación de la fase luteal del ciclo sexual. La progesterona, o sus análogos, son las hormonas más utilizadas para la sincronización de estros en pequeños rumiantes. Habitualmente, se utilizan tratamientos con progestágenos, que se aplican mediante dispositivos intravaginales con una duración de aproximadamente dos semanas, ya que deben superar la vida media de un posible cuerpo lúteo en el ovario.

En la actualidad, el uso de estos protocolos se ve condicionado por una mayor sensibilidad general por parte de la sociedad, respecto del bienestar de los animales empleados en producción, que percibe de forma negativa el uso de esponjas vaginales durante periodos de tiempo largos. A esto habría que sumarle que los consumidores, a nivel mundial, están comenzando a demandar, cada vez más, alimentos libres de residuos farmacológicos. De hecho, cada día crece el número de estados que exigen a sus productores, importadores y exportadores, que respeten prácticas sostenibles sin uso de hormonas sintéticas. Por ello, en la actualidad, el empleo de progestágenos para sincronización del celo en diversas especies domésticas está siendo objeto de revisión. En el caso concreto de la Unión Europea se está limitando el uso de estas sustancias por generar residuos en las canales de animales (Unión Europea, 2010) (Reglamento (UE) 37/2010 de la Comisión, de 22 de diciembre de 2009).

Estos condicionantes implican la necesidad de llevar a cabo prácticas que minimicen o eviten completamente el uso de tratamientos hormonales, evitando, así, riesgos potenciales para la salud humana, originados por los residuos

presentes en productos de origen animal, y mejorando, en lo posible, el bienestar animal.

En base a estas consideraciones, el desarrollo experimental de la presente Memoria de Tesis Doctoral tiene como objetivo general la identificación y desarrollo de protocolos de sincronización de celos y ovulaciones que tengan en consideración la mejora del bienestar animal y la disminución de residuos hormonales, investigando los efectos obtenidos al reducir el tiempo de exposición a los progestágenos en los protocolos hormonales y la utilización de un nuevo dispositivo intravaginal de progesterona natural (CIDR). La consecución de este estudio pretende minimizar los riesgos para la salud de los consumidores y, al mismo tiempo, potenciar la salud y el bienestar de los animales, adaptándonos a la creciente exigencia de los consumidores, con productos “clean, green and ethical”.

Para alcanzar este objetivo general, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar la respuesta reproductiva (actividad hipofisaria y ovárica, tasa de presentación de celos, fertilidad y prolificidad) frente a la aplicación de progestágenos (FGA) en protocolos de corta o larga duración.
2. Estudiar la respuesta reproductiva (actividad hipofisaria y ovárica, tasa de presentación de celos, fertilidad y prolificidad) tras la utilización de dos tipos diferentes de dispositivos intravaginales (progesterona natural o CIDR y progestágenos o FGA), tanto en protocolos largos, como cortos.

Estos objetivos se corresponden con las siguientes Fases Experimentales:

1. **Fase Experimental 1.** Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos e influencia de la época reproductiva y raza.
2. **Fase Experimental 2.** Evaluación de la funcionalidad hipofisaria y ovárica, así como tasa de presentación de celos, en ovejas tratadas con diferentes protocolos de sincronización de celo con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos.
3. **Fase experimental 3:** Efecto de dos tratamientos de sincronización de celo clásicos de 14 días de duración, con dispositivos intravaginales con progesterona natural (CIDR) o progestágenos sintéticos (FGA-esponjas) durante la época reproductiva.
4. **Fase Experimental 4.** Evaluación de la funcionalidad hipofisaria y ovárica, así como tasa de presentación de celos, en ovejas tratadas con un protocolo corto de 7 días, comparando dos tipos de dispositivos intravaginales de progestativos, uno en base a progesterona natural (CIDR) y el clásico en

base a progestágenos sintéticos (FGA), durante la época reproductiva y en
contraestación.

MATERIAL Y MÉTODOS

3 Material y Métodos

3.1 Animales: base racial

Los animales utilizados procedían en su origen de explotaciones comerciales. Las fases experimentales 1, 2 y 4 que integran el presente estudio se han realizado utilizando animales de aptitud cárnica, siendo un total de 25 ovejas de raza lacaune, 16 ovejas de raza segureña y 98 ovejas pertenecientes a la F1 del cruce de ovejas de las dos razas antes citadas con sementales de la raza prolífica romanov. La fase experimental 3 se efectuó con 303 ovejas adultas, de raza lacaune lechera.

3.2 Entorno experimental: instalaciones y manejo

La **Fase Experimental 1**, se realizó en condiciones reales de una explotación comercial de ganado ovino utilizando una subpoblación de 90 ovejas integrada en una población de 600 ovejas de distintas edades (1–8 años) y en distinta fase de producción (vacías, gestantes y en lactación).

La explotación referida se encuentra ubicada en el norte de la Comunidad Valenciana, en la comarca de l'Alcalatén (latitud 40,70°N, altitud 360 msnm). Se trata de una explotación de ganado ovino con orientación productiva cárnica. Esta ganadería desarrolla su actividad en régimen semiextensivo, de forma que los animales pernoctan en el aprisco y pastan en torno a 8 horas diarias, alimentándose a base de los pastos de la zona.

Las instalaciones cuentan con un aprisco para los animales que salen al campo durante el día y para las ovejas que se encuentran en el último mes de gestación, y una nave que aloja a las madres durante el amamantamiento. Ambos edificios tienen una superficie de 1000 m² cada uno y también existe un almacén de 500 m² que separa el aprisco de la nave. Asimismo, cuenta con parques al aire libre y tolvas para administrar el alimento, así como bebederos de canal de 1,5 metros, de manera que los animales allí alojados puedan disponer de comida y agua a libre disposición. Todos los animales de la explotación están identificados con el sistema homologado vigente mediante marcas auriculares (crotales) y bolos ruminales electrónicos.

El clima en esta zona del interior de la provincia de Castellón es del tipo mediterráneo seco, semiárido, y se considera un clima de transición entre el tipo mediterráneo y el desértico. Julio es el mes que registra menos precipitaciones, tan sólo 15 mm, mientras que octubre es el más lluvioso con 66 mm. En referencia a las temperaturas, el mes más caluroso del año es agosto, con un promedio de 23,8°C, mientras que el más frío es enero, con una media de 8,7°C (climate-data.org

14/1/16). La vegetación espontánea que sirve de alimento a los animales está determinada por esta escasez de precipitaciones y por la sequedad estival.

A partir de los 100-150 metros de altitud, la vegetación dominante es una asociación entre encinar y carrascal (*Quercetum rotundifoliae*) y pino mediterráneo (*Pinus halepensis*) y matorral leñoso de porte arbustivo conocido como coscoja (*Quercus coccifera*). Junto con la coscoja se dan otras especies, tales como el lentisco (*Pistacia lentiscus*), el acebuche (*Olea europaea*), algarrobo silvestre (*Ceratonia siliqua*), brezo (*Erica multiflora*), romero (*Rosmarinus officinalis*), junza (*Cyperus longus*), coscollina (*Rhamnus alaternus*), palmito (*Chamaerops humilis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*).

En las zonas bajas no hay ningún tipo de cultivo, exceptuando el olivo (*Olea europea*) y el almendro (*Prunus dulcis*), por lo que abunda vegetación adventicia tal como lechetrezna (*Euphorbia helioscopia*), cardo (*Carduus nutans*), lisonos (*Sonchus oleraceus*), correhuela (*Convolvulus arvensis*), verdolaga (*Portulaca oleracea*), bledos (*Amaranthus retroflexus*), grama (*Cynodon dactylon*), ballueca (*Avena fatua*), cañota (*Sorghum halepensis*), rabaniza (*Diplotaxis eruroides*), conejitos (*Fumaria officinalis*), amapola silvestre (*Papaver rhoeas*) e hinojo (*Foeniculum vulgare*).

Las Fases Experimentales 2, 3 y 4 se realizaron en la Unidad de Ovino de la Granja Docente y de Investigación Veterinaria de la Universidad CEU Cardenal Herrera, ubicada en la población de Náquera (latitud 39,62°N, altitud 242 m).

Los animales utilizados en las fases experimentales 2 y 4 (n=49) pertenecían a la F1 de los cruces anteriormente descritos y estaban identificados con crotales homologados y bolos ruminales electrónicos. Para estas dos fases experimentales se utilizó una proporción 1:1 (macho:hembra).

En la fase experimental 3 se incluyeron 303 ovejas de raza lacaune lechera, cedidas por una explotación comercial y el ratio macho:hembras fue de 1:5.

Las instalaciones de la Unidad de Ovino de la Granja Docente cuentan con una única nave para el rebaño, dividida en dos parques con separaciones eventuales para los grupos experimentales. Ambos parques tienen una zona cubierta y una zona al aire libre y cuentan con comederos y bebederos automáticos para la administración *ad libitum* de agua y alimento. Además, en la zona de comederos se dispone de cornadizas autotrabantes y otras instalaciones y maquinaria para facilitar el manejo de los animales.

El clima de esta zona es un clima subhúmedo seco, con una precipitación media de 570 mm, que alcanza un claro máximo otoñal correspondiente al mes de octubre. La temperatura media anual de 16,7°C, fluctuando entre una temperatura

mínima de -4,5°C registrada en el mes de enero y una máxima de 39,0°C registrada en el mes de agosto (climate-data.org 14/1/16).

El tipo de explotación es intensivo con estabulación libre. La base de su alimentación está integrada por alfalfa y paja a libre disposición, sin salida a pastos.

3.3 Diseño experimental

Fase Experimental 1. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos e influencia de la época reproductiva y de la raza ovina

El objetivo esencial de esta primera fase experimental fue evaluar el efecto de la reducción en el tiempo de tratamiento con progestágeno intravaginal; concretamente, de 14 a 7 días y sus posibles diferencias debidas a la época del año (fotoperiodo) en que se aplicaba el tratamiento y a la raza.

Para ello, se compararon tres métodos distintos de sincronización de celos, uno con tratamiento tradicional o “largo” y dos con tratamiento “corto”, en dos replicados que se diferenciaban en la época del año en que se desarrollaron. El primer experimento se realizó en fotoperiodo decreciente (experimento 1.1; época reproductiva natural) y el segundo en fotoperiodo creciente (experimento 1.2; “contra-estación” reproductiva).

En cada experimento se dividieron los animales, de manera aleatoria, en tres lotes distintos, que constituyeron los grupos experimentales, correspondientes a cada uno de los tratamientos de sincronización de celos.

Grupos experimentales:

- **Grupo Control (n=30):** El tratamiento de sincronización empleado fue el protocolo “clásico” o “largo”, consistente en la colocación de esponjas intravaginales impregnadas con 20 mg de acetato de fluorogestona (Chronogest®, MSD Animal Health, Madrid, España) durante un periodo de 14 días. Además, en el momento de la retirada del dispositivo, se administró una única dosis de gonadotropina coriónica equina o eCG por vía intramuscular (Foligon®, MSD Animal Health, Madrid, España); la dosis se ajustó según raza. Así, a las ovejas de raza segureña se les administró 400 UI y al resto una dosis menor (350 UI), por ser de razas prolíficas o proceder de cruces con las mismas (figura 8).
- **Grupo PG-Corto (n= 30)** el tratamiento consistió en la colocación de las esponjas intravaginales (del mismo tipo previamente descrito) durante un periodo “corto” de 7 días. Este protocolo hace necesaria la eliminación de un posible CL y, para ello, se administró una dosis de 5 mg de

prostaglandina $F_{2\alpha}$ por vía i.m (Dinolytic®, Zoetis, Madrid, España) en el momento de la colocación de los dispositivos intravaginales.

- **Grupo Corto-PG (n=30)** el tratamiento consistió en la colocación de las esponjas intravaginales (del mismo tipo previamente descrito) durante un periodo “corto” de 7 días. Este protocolo hace necesaria la eliminación de un posible CL y, para ello, se administró una dosis de 5 mg de prostaglandina $F_{2\alpha}$ por vía i.m (Dinolytic®, Zoetis, Madrid, España) en el momento de la retirada de la esponja.

Finalmente, en ambos grupos se llevó a cabo la administración de una dosis de eCG en el momento de retirada del tratamiento (mismo producto y mismas dosis previamente descritas que en el grupo control; figura 8).

La aplicación del tratamiento progestativo en los grupos de tratamiento corto se realizó una semana después que en el grupo control, con el fin de realizar la retirada de las esponjas intravaginales en los tres grupos al mismo tiempo y que así las condiciones ambientales y de manejo fuesen las mismas durante la aparición del celo y la ovulación (figura 8).

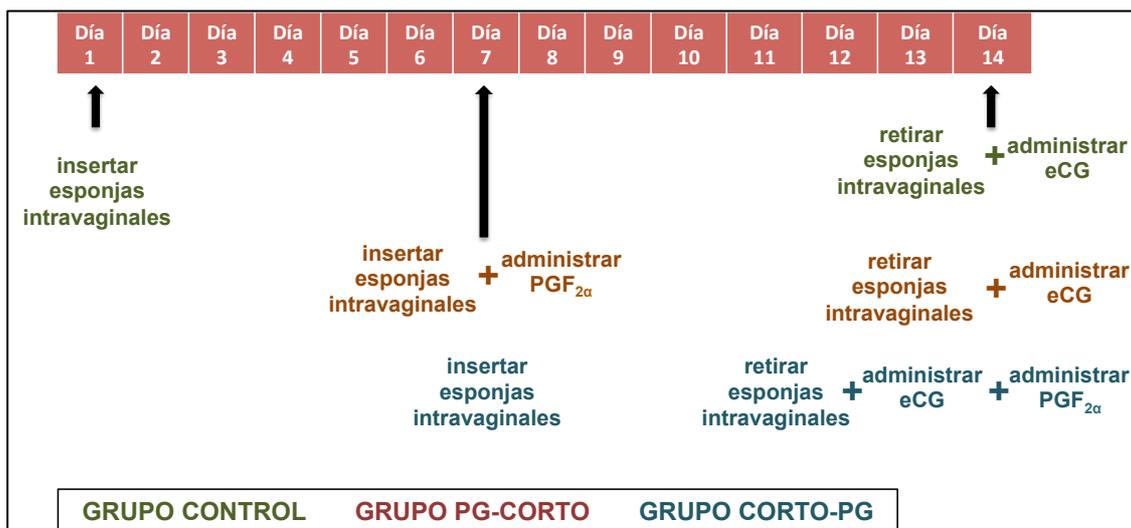


Figura 8. Protocolos de sincronización de celo en base a dispositivos intravaginales de progestágenos de duración “clásica” (grupo Control) o “corta” (grupos PG-Corto y Corto-PG), utilizados en la Fase Experimental 1

En el momento de la retirada de las esponjas, se introdujeron los machos en el rebaño de ovejas, con una proporción de 1 macho por cada 3 hembras, y éstos se mantuvieron con ellas durante 48 horas, momento en que se retiraron para que reposaran hasta la cubrición del siguiente lote. Los machos se estimularon previamente, cada uno de ellos, con tres implantes subcutáneos de melatonina (Melovine®, Ceva Salud Animal, Barcelona, España), 60 días antes de empezar las cubriciones. El porcentaje de gestación se valoró mediante ecografía transabdominal entre los días 35-45 de la supuesta gestación, utilizando un

ecógrafo portátil (Sonosite NanoMaxx®, Sonosite Inc., Bothell, Wa, USA) equipado con una sonda abdominal microconvex de banda ancha C11n de 8-5 Mhz.

Las variables consideradas fueron el **porcentaje de gestación** definido como el número de hembras gestantes sobre el total de hembras sincronizadas (respuesta al tratamiento de sincronización) y la **prolificidad** definida como el número de corderos nacidos sobre el número de hembras paridas.

Experimento 1.1

En el **Experimento 1.1** (época reproductiva natural), se incluyeron un total de **90 ovejas**, de edades comprendidas entre dos y seis años ($3,34 \pm 1,2$), secas y con una condición corporal media de $3,5 \pm 0,4$ (rango entre 2,75 y 4,25) y de distribución homogénea entre los tres grupos experimentales ($P < 0,05$). Veinticinco de ellas eran de raza lacaune, 16 de raza segureña y 49 procedentes de la F1 de los cruces (romanov x segureña) y (romanov x lacaune). Estos animales se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos experimentales de 30 animales cada uno (grupos 1 al 3), quedando la distribución racial equitativa dentro de cada grupo, con ovejas de razas segureña y lacaune, y procedentes de sus respectivos cruces con romanov, tal y como se puede observar en la tabla 1 y en la figura 9.

Tabla 1. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

	Raza Segureña	Raza Lacaune	Cruce F1	
Grupo Control	3	12	15	30
Grupo PG-Corto	4	9	17	30
Grupo Corto-PG	9	4	17	30
	16	25	49	

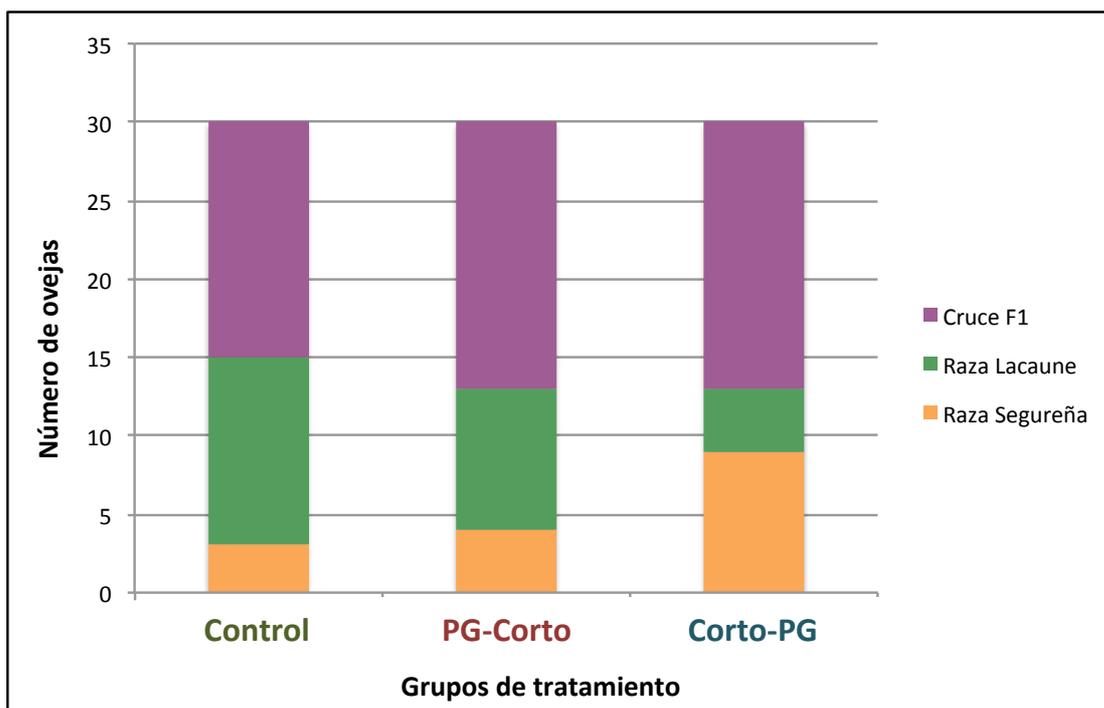


Figura 9. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

Experimento 1.2

En el **Experimento 1.2** (fotoperiodo creciente) se usaron **76** de las 90 ovejas previamente incluidas en el Experimento 1.1, ya que 14 de ellas fueron excluidas por baja o enfermedad.

La edad de los animales en el experimento 1.2 fue de aproximadamente seis meses más que en el experimento anterior ($3,7 \pm 0,9$) y la condición corporal era homogénea, con una media de 3,5, variando entre 3 y 4 ($3,6 \pm 0,4$); asimismo, la distribución fue también homogénea entre los tres grupos experimentales ($P > 0,05$). Veintiuno de los 76 animales utilizados eran de raza lacaune, 14 de raza segureña y 41 procedentes de la F1 de los cruces (romanov x segureña) y (romanov x lacaune), y se distribuyeron aleatoriamente en los tres grupos experimentales (grupos 1 al 3), quedando la distribución racial, tal y como se puede observar en la tabla 2 y la figura 10. De esta forma, en todos los grupos de tratamiento se encontraban ovejas de razas segureña y lacaune, y procedentes de sus respectivos cruces con romanov.

Tabla 2. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

	Raza Segureña	Raza Lacaune	Cruce F1	
Grupo Control	6	9	15	30
Grupo PG-Corto	4	5	15	24
Grupo Corto-PG	4	7	11	22
	14	21	41	

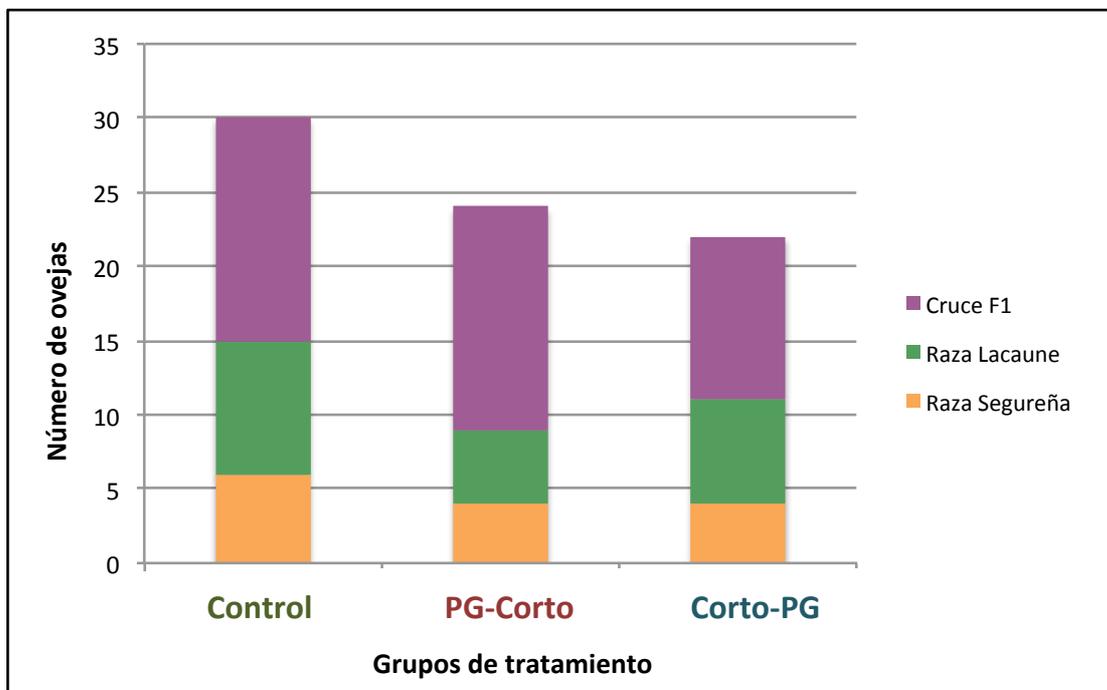


Figura 10. Distribución racial de las ovejas por grupos de tratamiento (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

Fase Experimental 2. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas, en fotoperiodo decreciente

En esta fase se complementó la información obtenida en la Fase experimental 1 mediante el estudio pormenorizado de la funcionalidad hipofisaria y ovárica relativa a los distintos métodos de sincronización. Por esta razón, el número de animales utilizados fue menor, de la misma raza y durante la misma época del año. Los animales se mantuvieron controlados en condiciones experimentales, en la Granja Docente y de Investigación Veterinaria de la Universidad CEU Cardenal Herrera.

En total, se utilizaron **32 ovejas**, todas de raza **F1** (cruce realizado con sementales de raza romanov y ovejas de razas segureña y lacaune) al comprobarse en el experimento 1 que la respuesta al tratamiento de sincronización no se veía afectada por la raza ovina. La edad osciló entre 1 y 4 años de edad ($3,19 \pm 1,148$ años) y la condición corporal media fue de $3,5 \pm 0,460$ (rango entre 2,5 y 4). El fotoperiodo en esta fase experimental fue **decreciente**.

Los animales se distribuyeron de nuevo en **tres grupos experimentales**, según el protocolo de sincronización de celo aplicado y descrito previamente para la Fase Experimental 1 (Figura 8); **Grupo Control** (n=9), con el tratamiento “clásico o largo” de 14 días; **Grupo PG-Corto** (tratamiento “corto” con prostaglandina al inicio del tratamiento (n=12) y el **Grupo Corto-PG** (tratamiento “corto” y prostaglandina a la retirada del dispositivo vaginal (n=11). Todos los animales presentaban edades y CC de distribución homogénea entre grupos experimentales ($P=0,815$ para edad y $P=0,745$ para CC).

Los parámetros evaluados en esta fase experimental fueron los siguientes:

- Porcentaje de hembras que mostraron celo, momento medio de aparición del mismo y agrupación de los celos desde las 12 hasta las 80h tras la retirada de los dispositivos.
- Funcionalidad hipofisaria y ovárica mediante:
 - Realización de mapas de crecimiento folicular.
 - Medición de las hormonas LH, E2 circulante y P4.

La **detección del celo** fue llevada a cabo mediante inspección visual directa usando moruecos entrenados, cada cuatro horas desde las 12 horas hasta las 80 horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales cada 4 horas, considerándose el momento de aparición del celo la primera vez en la que la oveja aceptaba la monta del macho.

La **funcionalidad ovárica** de las ovejas se estudió mediante la valoración, por ultrasonografía transrectal con ecógrafo portátil (Aloka SSD-500, Ecotron, Madrid, S; sonda transrectal de 7.5 MHz) de los patrones de crecimiento folicular en el periodo previo al celo y, posteriormente, de la tasa de ovulación y la calidad morfológica de los CLs; estos datos se complementaron con la determinación de los niveles plasmáticos de E2 y P4 en fase folicular y luteal, respectivamente. La funcionalidad hipofisaria se valoró mediante la determinación de las características y momento de aparición del pico preovulatorio de LH.

Las observaciones se efectuaron fijando la oveja en posición de decúbito dorsal. Las heces se extraían manualmente del recto y posteriormente se aplicaba un gel hidrosoluble, con la finalidad de evitar daños a nivel de la mucosa rectal y mejorar la transmisión de la imagen ecográfica. Seguidamente, la sonda se colocaba dentro de la ampolla rectal, orientando el transductor perpendicularmente hacia la pared abdominal. Los folículos fueron identificados como estructuras anecoicas y su medición fue realizada colocando los calibradores electrónicos en el límite ubicado entre la pared folicular y el estroma ovárico. Los CLs se caracterizaban como estructuras hipoecoicas y homogéneas; sus diámetros mayor y menor se midieron colocando, en forma perpendicular, los calibradores electrónicos del ecógrafo en la interfase ubicada entre el tejido luteal y el estroma ovárico.

Los datos ecográficos se organizaron para caracterizar los patrones de cada onda de crecimiento folicular y sus efectos sobre la población folicular, durante el intervalo interovulatorio.

Los folículos ovulatorios presentes en los ovarios se clasificaron por su diámetro en cuatro grupos según su diámetro: **folículos totales** (mayores de 2 mm), **folículos pequeños** (2,0-3,0 mm), **folículos medianos** (4,0-5,0 mm) y **folículos grandes** (mayor de 5,0 mm). Además, durante la fase folicular, también se tuvieron en cuenta el número de folículos nuevos (no detectados el día anterior), folículos en crecimiento (aquellos en los que se produce un aumento de tamaño con respecto al día anterior) y folículos en regresión (aquellos en los que, bien se produce una disminución en el diámetro con respecto al día anterior, o bien hayan desaparecido). Por último, se anotó el tamaño del folículo más grande (F1), del segundo folículo más grande (F2) y el tamaño medio del resto de los folículos (F resto).

En el mismo periodo de fase folicular, para la evaluación de los niveles plasmáticos de E2 se obtuvieron muestras de sangre a las 0, 12, 24, 36, 48 y 60 horas, y para la evaluación de los niveles plasmáticos de LH se obtuvieron muestras a las 32, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 64, 68, 72, 76 y 80 horas. Estas muestras se obtuvieron, mediante punción de la vena yugular, en tubos *vacutainer* heparinizados de 5 ml. Inmediatamente tras la extracción, se centrifugaron las

muestras durante 15 minutos a una velocidad de 3500 rpm. Seguidamente, se almacenó el equivalente a 2 ml de plasma/muestra, en criotubo de 3 ml, a una temperatura de -20°C hasta su posterior procesamiento.

La valoración de número y la calidad morfológica y funcional de las ovulaciones se llevó a cabo 11 días después de la retirada del tratamiento progestativo. Esta observación se realizó mediante ecografía transrectal y mediante la valoración de los niveles plasmáticos de progesterona en una muestra de 5ml de sangre obtenida en tubos vacutainer heparinizados; estas muestras de sangre fueron procesadas de la forma descrita para las muestras anteriores.

La evaluación de las concentraciones plasmáticas de E2 y P4 se realizó en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, mientras que la determinación de los niveles de LH se realizó en el laboratorio de Fisiología Comparada del Departamento de Reproducción Animal del INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria).

- La concentración plasmática de **E2** se determinó con un kit de radioinmunoensayo (ESTR-US-CT Ultrasensible, IBA Molecular, Madrid), según la metodología descrita por Romeu *et al.* (1995) y adaptada para su uso en plasma ovino por González-Bulnes *et al.* (2003) (Romeu *et al.*, 1995; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2003). La sensibilidad de la prueba fue de 5 pg/ml y los coeficientes de variación intra e interensayo fueron 5,0 y 9,7%, respectivamente.

- Las concentraciones plasmáticas de **LH** fueron evaluadas usando un kit de ELISA basado en el principio de unión competitiva (LH DETECT *for ovine* TBM ReproPharm, Nouzilly, France), cuya sensibilidad fue de 0,01 ng/ml. Para las fases experimentales 2 y 4, los coeficientes de variación intra-ensayo fueron de 5,0 y 3,4% y los del inter-ensayo fueron 6,4 y 9,6%, respectivamente. En relación a las características de la onda preovulatoria de LH, el inicio y final de ésta fueron definidos como el valor anterior y posterior, respectivamente, al incremento en un 10%, de las concentraciones basales de LH. Las concentraciones basales de LH, fueron determinados calculando el promedio de las concentraciones de LH antes y después del pico preovulatorio de LH. La duración del pico de LH fue definida como la diferencia entre el inicio y el final de la onda preovulatoria. El área bajo la curva (AUC), fue calculado usando el método del paralelepípedo descrito por Rowland en 1989 (Rowland, 1989).

- Las concentraciones plasmáticas de **P4** se determinaron con un kit de radioinmunoanálisis usando kits en fase sólida (PROG-CTRIA progesterona, IBA Molecular, Madrid). La sensibilidad del análisis y el coeficiente de variación intraensayo en la fase experimental 2 fueron 0,3 ng/ml y 3,1%, respectivamente. En los análisis realizados durante la fase experimental 4, la sensibilidad y los coeficientes de variación intra e interensayos fueron 0,1 ng/ml, 4,8 y 10,0%,

respectivamente. La presencia de un CL activo fue definida cuando las concentraciones plasmáticas de P4 fueron iguales o superiores a 0,5 ng/ml.

Fase Experimental 3. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre el porcentaje de gestación en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos largo (14 días) en fotoperiodo decreciente

Esta parte del trabajo se centró en la comparación de la eficiencia de protocolos de sincronización basados en la utilización de dispositivos intravaginales con dos progestativos diferentes en un protocolo largo tradicional de 14 días con administración de eCG a la retirada de los dispositivos intravaginales (figura 11) durante fotoperiodo decreciente.

Para esta fase experimental 3 se utilizaron un total de 303 ovejas, multíparas, de raza lacaune lechera, cedidas por una explotación comercial de la zona. El experimento se realizó en 4 réplicas de 75 ovejas para el primer lote y de 76 para cada uno de los tres restantes, entre los meses de septiembre a diciembre. En cada uno de estos grupos había un 10% de ovejas que no se encontraban en lactación (8 en el primer grupo y en el cuarto y 7 en el segundo y en el tercero). La edad de los animales utilizados fue de $3,1 \pm 1,55$ años (valores mínimo y máximo de 1,1 y 8,3 años) y de $3,0 \pm 1,93$ lactaciones/oveja; la condición corporal entre 1 y 3,8, con un promedio de $2,4 \pm 0,51$. De ellas, un total de 186 (46 ovejas en cada una de las dos primeras réplicas y 47 ovejas en cada una de las dos últimas) se asignaron de manera aleatoria para su sincronización con esponjas intravaginales impregnadas con 20 mg de acetato de flugestona "FGA" (Chronogest®, MSD Animal Health, Madrid, España) y 117 (29 ovejas en cada una de las tres primeras réplicas y 30 en la última de ellas) con dispositivo tipo "CIDR" (EAZI-BREED™ CIDR® Sheep Insert, Zoetis, Parsippany, New Jersey, EE.UU.), impregnado con 0,3 g de progesterona, insertándolo durante 14 días, aplicando 400 U.I. eCG por vía i.m. (Foligon®, MSD Animal Health, Madrid, España) en el momento de la retirada y procediendo a la observación de celo tras la retirada.

El análisis estadístico de los datos se realizó sobre el conjunto de todos los animales al finalizar la fase experimental. Dentro del grupo sincronizado con dispositivos de FGA un total de 7 animales se perdieron por diferentes razones antes de comenzar el protocolo de sincronización (eliminación, error de separación en el momento de colocación de las esponjas y mortalidad), por lo que finalmente, recibieron el dispositivo de FGA 179 ovejas adultas. De éstos, durante el tiempo de sincronización se observó un total de 8 pérdidas del dispositivo (4,469%). En el momento del diagnóstico de gestación se perdieron 4 animales adicionales por las mismas razones antes descritas, por lo que la "n" final que se consideró en el estudio dentro del grupo FGA fue de 167 animales. La edad de los animales utilizados en este grupo fue de $3,1 \pm 1,31$ años (valores mínimo y máximo

de 1,2 y 8,2 años) y de $3,0 \pm 1,70$ lactaciones/oveja; la condición corporal entre 1 y 3,8, con un promedio de $2,4 \pm 0,50$.

En el caso del grupo CIDR un total de 12 animales se perdieron por diferentes razones (eliminación, error de separación en el momento de colocación de los CIDR y mortalidad), por lo que se sincronizó un total de 105 animales con dispositivos CIDR. Durante el tiempo de sincronización se observaron dos pérdidas de dispositivo (1,905%). En el momento del diagnóstico de gestación se perdieron 8 animales adicionales por las mismas razones antes descritas, por lo que la “n” final que se consideró en el estudio fue de 95 animales en el grupo CIDR. La edad de los animales utilizados en este grupo fue de $2,9 \pm 1,90$ años (valores mínimo y máximo de 1,1 y 8,3 años) y de $2,9 \pm 2,31$ lactaciones/oveja; la condición corporal entre 1 y 3,8, con un promedio de $2,4 \pm 0,56$.

Los datos de edad media, número de lactaciones por oveja y condición corporal media no difirieron significativamente entre los grupos experimentales ($P=0,361$; $P=0,864$ y $P=0,837$, respectivamente).

Los machos, utilizados en una proporción 1:5 también eran de raza lacaune de aptitud lechera. Se efectuaron diagnósticos de gestación mediante ecografía transabdominal para determinar el porcentaje de gestación y la prolificidad estimada, con ecógrafo portátil (SonoSite M turbo, Madrid, S; sonda microconvex C11 de 5 a 8 MHz).

Grupos experimentales:

- **Grupo FGA:** las hembras recibieron esponjas intravaginales impregnada con 20 mg de acetato de flugestona “FGA” (Chronogest®, MSD Animal Health, Madrid, España).
- **Grupo CIDR:** estas ovejas se trataron con el dispositivo tipo “CIDR” impregnado con 0,3 g de progesterona (EAZI-BREED™ CIDR® Sheep Insert, Zoetis, Parsippany, New Jersey, EE.UU.).

En ambos grupos se administraron 400 U.I. eCG por vía i.m. (Foligon®, MSD Animal Health, Madrid, España) en el momento de la retirada de los dispositivos (Figura 11).

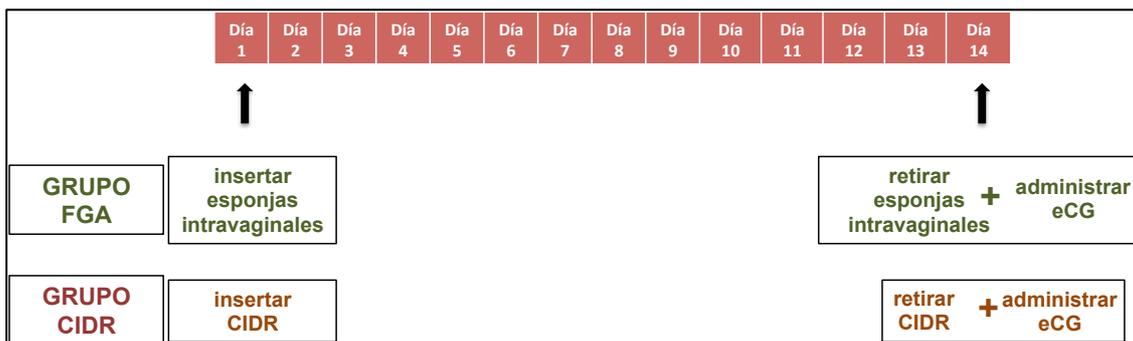


Figura 11. Protocolos de sincronización de celo en base a dispositivos intravaginales de progestágenos Grupo FGA o progesterona Grupo CIDR, utilizados en la Fase Experimental 3. Protocolo de sincronización largo, de 14 días

Fase Experimental 4. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos corto (7 días) e influencia de la época reproductiva

Para esta cuarta fase experimental se eligió el tratamiento corto que mejores resultados había inducido en las fases anteriores 1 y 2: el tratamiento Corto-PG.

Así pues, esta parte del trabajo se centró en la comparación de la eficiencia de protocolos de sincronización basados en la utilización de dispositivos intravaginales con dos progestativos diferentes en el protocolo corto con administración de la prostaglandina en el momento de la retirada de los dispositivos intravaginales (figura 12). Para ello se llevaron a cabo, de igual forma que en la primera fase experimental, dos experimentos consecutivos para determinar posibles efectos del fotoperiodo. Así, el experimento 4.1 se realizó en fotoperiodo creciente, y el experimento 4.2, en fotoperiodo decreciente.

Para esta fase experimental 4 se utilizó un total de 49 ovejas, pertenecientes a la F1 de los cruces realizados con sementales de raza romanov y ovejas de razas segureña y lacaune. La edad de los animales utilizados osciló entre los 2 y los 5 años (3.48 ± 1.154) y la condición corporal entre 3.25 y 4, con un promedio de $3.83 \pm 0,286$.

Grupos experimentales:

- **Grupo FGA:** las hembras recibieron esponjas intravaginales impregnada con 20 mg de acetato de flugestona “FGA” (Chronogest®, MSD Animal Health, Madrid, España).
- **Grupo CIDR:** estas ovejas se trataron con el dispositivo tipo “CIDR” impregnado con 0,3 g de progesterona (EAZI-BREED™ CIDR® Sheep Insert, Zoetis, Parsippany, New Jersey, EE.UU.).

En ambos grupos se administraron 5 mg de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Dinolytic®, Zoetis, Madrid, España) y 400 U.I. eCG (Foligon®, MSD Animal Health, Madrid, España) por vía i.m. ambas, en el momento de la retirada de los dispositivos (Figura 11).

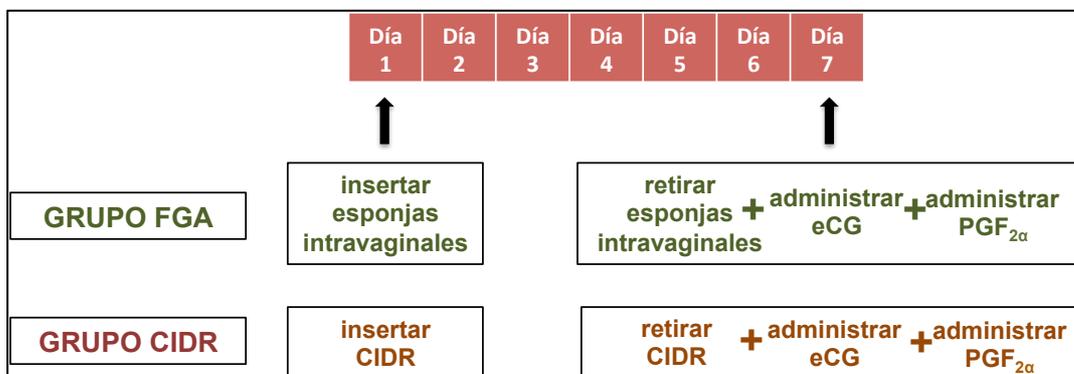


Figura 12. Protocolos de sincronización de celo en base a dispositivos intravaginales de progestágenos Grupo FGA o progesterona Grupo CIDR, utilizados en la Fase Experimental 4. Protocolo corto de sincronización de 7 días

Experimento 4.1 Fotoperiodo creciente

En el **Experimento 4.1** (fotoperiodo creciente) los animales se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos experimentales: **Grupo FGA** (n=24) y **Grupo CIDR** (n=25). La distribución tanto de edad como de CC resultó ser homogénea entre los dos grupos experimentales ($P < 0,05$).

Las variables consideradas fueron:

- Porcentaje de hembras que mostraban celo, momento medio de aparición del mismo y agrupación de los celos, desde las 12 hasta las 80h tras la retirada de los dispositivos
- Funcionalidad hipofisaria y ovárica mediante:
 - Determinación de las hormonas LH, E2 y P4.

La evaluación de las concentraciones plasmáticas de E2 y P4 se realizó en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, mientras que la determinación de los niveles de LH se realizó en el laboratorio de Fisiología Comparada del Departamento de Reproducción Animal del INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria).

- La concentraciones plasmáticas de **E2 y P4** se determinaron con un kit de radioinmunoensayo RIA igual que en la fase experimental 2.

los coeficientes de variación intra e interensayo para E2 fueron 5,0 y 9,7%, respectivamente.

- Las concentraciones plasmáticas de **LH** fueron evaluadas usando un kit de ELISA al igual que en la fase experimental 2. Los coeficientes de variación intra-ensayo fueron de 5,0 y 3,4% y los del inter-ensayo fueron 6,4 y 9,6%, respectivamente.

Experimento 4.2 Fotoperiodo decreciente

En el **Experimento 4.2** (fotoperiodo decreciente) los animales se distribuyeron en los mismos grupos experimentales previamente descritos para el experimento 4.1., pero esta vez se cruzaron los grupos, de manera que el **Grupo FGA** incluía los 25 animales que previamente eran del grupo CIDR y el **Grupo CIDR** incluía las 24 ovejas previamente en el grupo FGA. La distribución tanto de CC resultó ser, de nuevo, homogénea entre los dos grupos experimentales ($P < 0,05$).

En esta última fase experimental tan sólo se valoró el porcentaje de salida en celo, el momento medio del mismo y la agrupación de los celos, desde las 12 hasta las 80h tras la retirada de los dispositivos.

3.4 Análisis estadístico

Todos los datos recopilados se resumieron en tablas excel para su depuración y comprobación previo al procesado estadístico. El programa utilizado fue SPSS® 22.0 (IBM Corporation, Nueva York NY, EE.UU.).

Se comprobó la homogeneidad de los grupos experimentales en cuanto a factores de confusión tales como raza, edad, condición corporal y fotoperiodo. Las variables dependientes fueron la respuesta al tratamiento (fertilidad y prolificidad en caso de las Fases Experimentales 1 y 3), tasas de presentación de celos (fases experimentales 2 y 4) y estudio de la fase luteal (fases 2 y 4). En los estudios de la dinámica folicular (fase experimentales 2) las variables fueron el número de folículos presentes, la presencia de folículo dominante y la evidencia de ovulación o no. Las determinaciones hormonales (fases experimentales 2 y 4) se consideraron también variables continuas y dependientes, y de relevancia en estas mismas fases experimentales.

Las diferencias estadísticas en los parámetros continuos (prolificidad, CC, edad y parámetros hormonales) para más de dos grupos se estimaron mediante análisis de varianza (ANOVA), pero también se realizaron las pruebas Student-Newman-Keuls, y de Duncan post hoc para contrastar las diferencias dentro de los grupos.

Para comparar las medias entre dos grupos en el caso de variables continuas (prolificidad, CC, edad y parámetros hormonales) se utilizó la prueba de *t* de Student. Para las variables con varianza no esférica, se utilizó un nivel de significación de Greenhouse.

La comparación entre las frecuencias de las variables categóricas (raza, respuesta al tratamiento, salida en celo a intervalos horarios) se analizó mediante pruebas de Chi cuadrado, al igual que la respuesta al tratamiento o fertilidad, que se consideró como variable dicotómica (sí/no). Adicionalmente, se exploraron las significancias del efecto de los tratamientos experimentales, simultáneamente con el efecto de factores que pudieran ejercer un efecto adicional y/o de confusión (edad, CC, raza y fotoperiodo) mediante procedimientos de regresión logística binaria, por pasos prospectivos basados en estadísticos de Wald con criterio de $P > 0.10$, incluyendo las interacciones de primer grado.

Los datos ecográficos fueron valorados usando un análisis de la varianza (ANOVA) de una sola vía. Asimismo, se llevó a cabo una correlación de Pearson, para determinar la asociación entre el diámetro y el área (con o sin cavidad) del CL y los niveles de P4 en plasma.

RESULTADOS

4 Resultados

4.1 Fase experimental 1. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos e influencia de la época reproductiva y de la raza ovina

En el **experimento 1.1** se utilizaron un total de 90 ovejas con una edad media de $3,36 \pm 1,2$; de ellas, 25 eran de raza lacaune (27,8%), 16 eran de raza segureña (17,8%) y 49 eran el resultado de la F1 de los cruces de las anteriores con romanov (54,4%). Tal y como se ha descrito en el apartado material y métodos, la distribución de razas fue homogénea entre grupos experimentales ($P > 0,05$).

Tabla 3. Número y porcentaje de animales por raza que se incluyeron en el estudio de distintos tratamientos de sincronización del celo basados en el uso de dispositivos intravaginales de progestágenos en fotoperíodo decreciente

Raza	% (N)
Cruce F1	54,4 (49)
Lacaune	27,8 (25)
Segureña	17,8 (16)

En el **experimento 1.2** se utilizaron 76 ovejas de las 90 que se utilizaron en el experimento 1.1. De las 14 ovejas restantes, 12 se encontraban gestantes y dos causaron baja por muerte. Una, a causa de una toxemia de gestación y la otra por un meteorismo.

Las 76 hembras participantes en el experimento 1.2 tenían una media de $3,7 \pm 0,9$ años de edad y de ellas 21 pertenecían a la raza lacaune (27,63%), 14 a la raza segureña (18,42%) y 41 a la F1 de los cruces de las razas anteriormente citadas con la raza romanov (53,95%), tal y como se puede observar en la tabla 4. Igualmente, la distribución de razas fue homogénea entre grupos experimentales ($P > 0,05$).

Tabla 4. Número y porcentaje de animales por raza que se incluyeron en el estudio de distintos tratamientos de sincronización del celo basados en el uso de dispositivos intravaginales de progestágenos en fotoperiodo creciente

Raza	% (N)
Cruce F1	54,0 (41)
Lacaune	27,6 (21)
Segureña	18,4 (14)

En primer lugar, describiremos los resultados separados por experimentos 1.1 (fotoperiodo decreciente) y 1.2 (fotoperiodo decreciente), para pasar a mostrar resultados con grupos agrupados en caso de permitirlo los resultados estadísticos y el diseño metodológico.

4.1.1 Experimento 1.1 Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de gestación durante el fotoperiodo decreciente

Este experimento se realizó sobre un total de 90 animales, divididos en tres grupos experimentales distintos: Grupo control o de tratamiento “largo” (tratamiento 14 días + eCG a la retirada), Grupo PG-Corto (tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada) y (Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada), con una edad media de $3,36 \pm 1,21$ años, sin diferencias significativas entre los tres grupos ($P=0,210$), siendo la media en el grupo control de $3,08 \pm 1,10$ años, de $3,23 \pm 1,06$ años en el grupo PG-Corto y de $3,76 \pm 1,38$ años en el grupo Corto-PG.

La condición corporal no fue significativamente diferente entre los tres grupos ($P=0,462$), con una media total de $3,51 \pm 0,40$, siendo esta media de $3,61 \pm 0,34$ en el grupo control o “largo”, $3,50 \pm 0,44$ en el grupo PG-Corto y $3,42 \pm 0,40$ en el grupo Corto-PG.

Los resultados de porcentaje de gestación en función del tratamiento se pueden observar en la figura 13. El grupo de animales que mostró un mayor porcentaje de gestación durante el fotoperiodo decreciente fue el tratamiento “corto” con prostaglandina F_{2α} en el momento de la retirada del progestágeno (grupo Corto-PG: 90,0%), seguido del otro grupo corto (PG-Corto: 80%) y, finalmente, del grupo control o tratamiento largo (76,7%); sin embargo, estas diferencias numéricas no fueron significativas en ningún caso (figura 13).

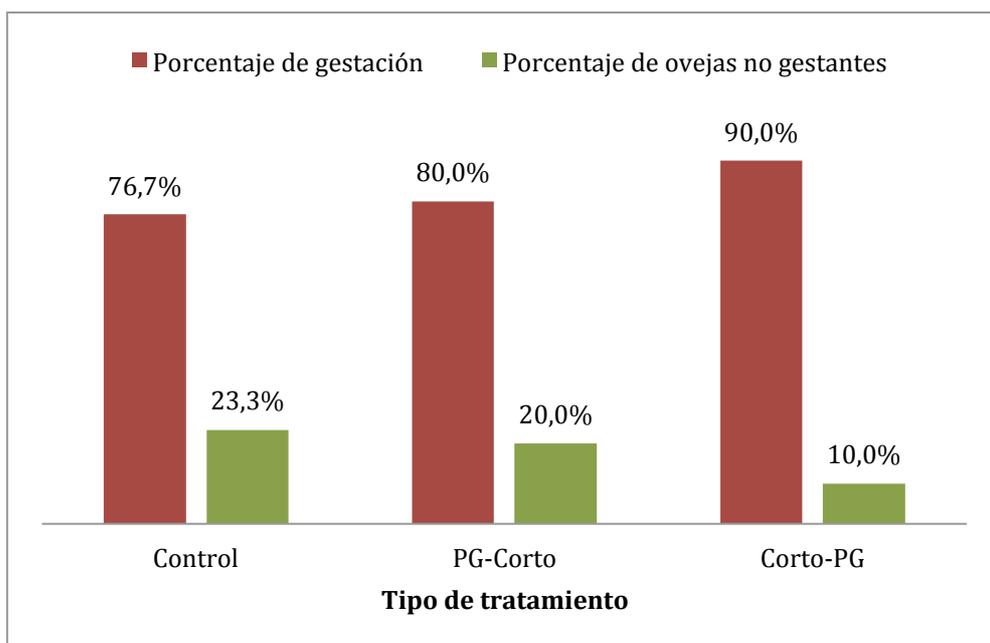


Figura 13. Porcentaje de ovejas gestantes y no gestantes según grupo experimental durante el fotoperíodo decreciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

El análisis de regresión logística, considerando la variable dependiente el porcentaje de gestación e incluyendo los factores que pudieran influir de manera significativa en esta variable (considerados factores de confusión, como la raza, la edad y condición corporal) corroboró los resultados descritos previamente sin encontrar significancia en los *odds ratios* de ninguna de las variables consideradas posibles factores de confusión, ni de la variable independiente o tratamiento.

En lo referente a la prolificidad, aunque no hubo diferencias significativas ($P=0,669$), sí se observaron diferencias numéricas (figuras 14 y 15). Así pues, durante el fotoperíodo decreciente, el mayor porcentaje de animales con partos dobles se observó en el grupo de tratamiento Corto-PG (44%), seguido por el grupo de tratamientos largos (40%) y finalmente el grupo PG-Corto. En cambio, en las ovejas del grupo PG-Corto fue el que mayor número de partos triples mostró (36% vs. 18,2 y 18,5% para PG-Corto, largos y Corto-PG, respectivamente).

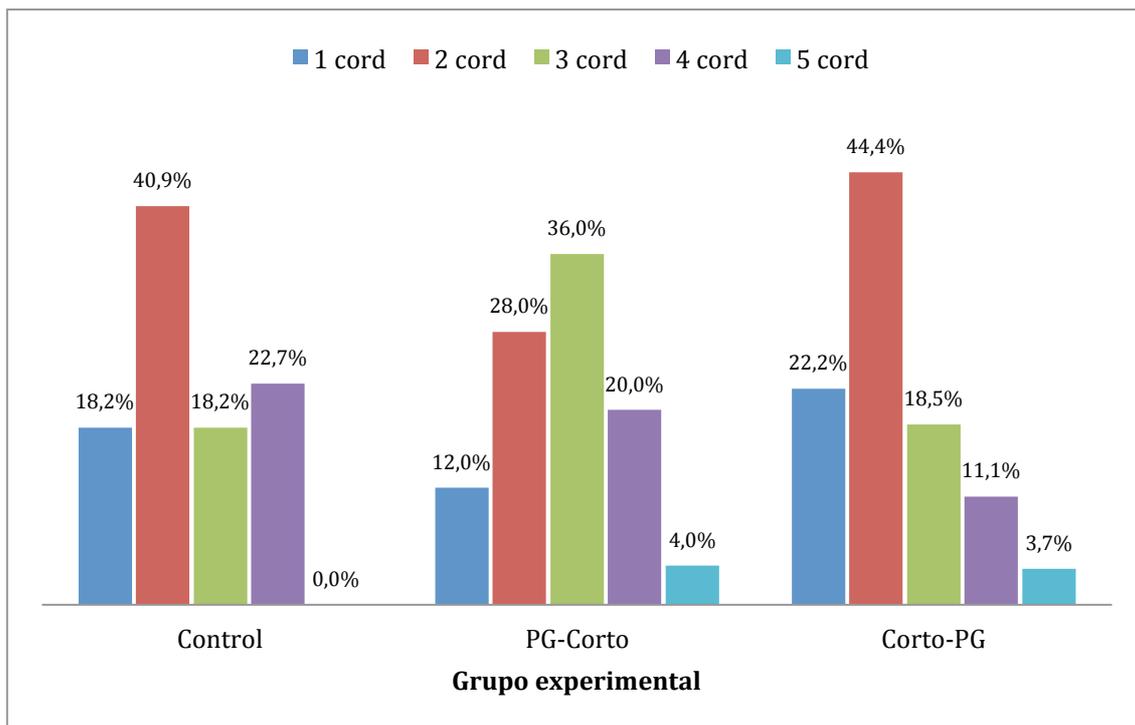


Figura 14. Porcentaje de ovejas que paren 1, 2, 3, 4 ó 5 corderos por parto dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo decreciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

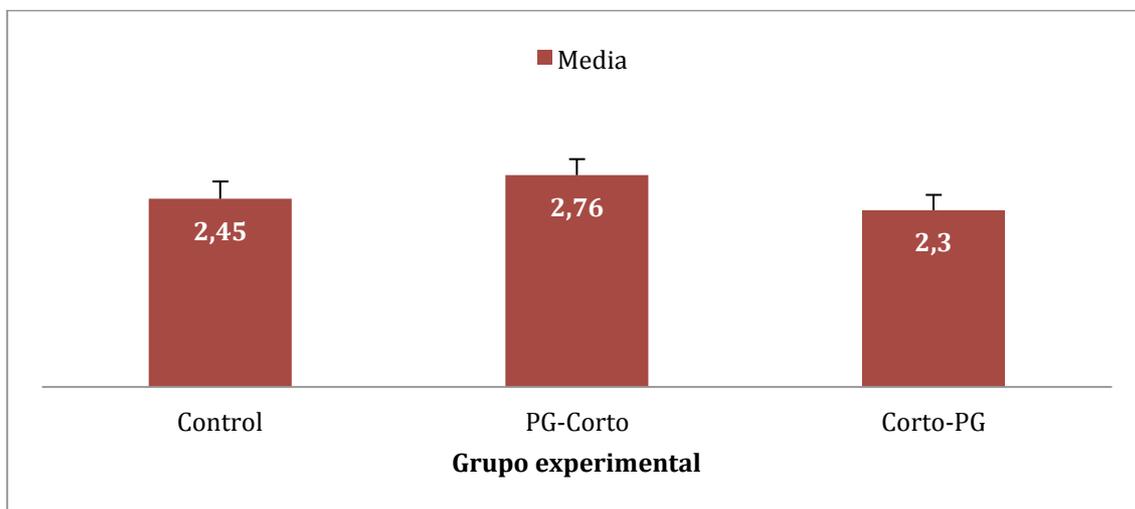


Figura 15. Prolificidad media y error estándar en los distintos grupos de tratamiento administrados en fotoperiodo decreciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

4.1.2 Experimento 1.2 Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de gestación durante el fotoperiodo creciente

Este experimento se realizó sobre un total de 76 animales, divididos en tres grupos experimentales: Grupo control o de tratamiento “largo” (tratamiento 14 días + eCG a la retirada), Grupo PG-Corto (tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada) y Grupo Corto-PG (tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada), con una edad media de $3,67 \pm 0,92$ años, sin diferencias significativas entre los tres grupos ($P=0,943$), siendo la media en el grupo control de $3,80 \pm 0,99$ años, de $3,56 \pm 0,92$ años en el grupo PG-Corto y de $3,63 \pm 0,84$ años en el grupo Corto-PG.

La condición corporal no fue significativamente diferente entre los tres grupos ($P=0,916$), con una media total de $3,60 \pm 0,39$, siendo el valor de CC $3,54 \pm 0,39$ en el grupo control o “largo”, $3,65 \pm 0,38$ en el grupo PG-Corto y $3,63 \pm 0,39$ en el grupo Corto-PG.

Durante el fotoperiodo creciente tampoco se observaron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de hembras gestantes en los tres grupos estudiados, aunque el grupo que obtuvo un mayor porcentaje de animales gestantes fue el grupo control, con un 80,0%, frente al 79,2% de respuesta que se observó en el grupo PG-Corto. En cambio, en este fotoperiodo, a diferencia del anterior, el grupo menos efectivo fue el grupo corto con prostaglandina F_{2α} al final (Corto-PG), con un 59,1% de ovejas que respondieron al mismo (figura 16).

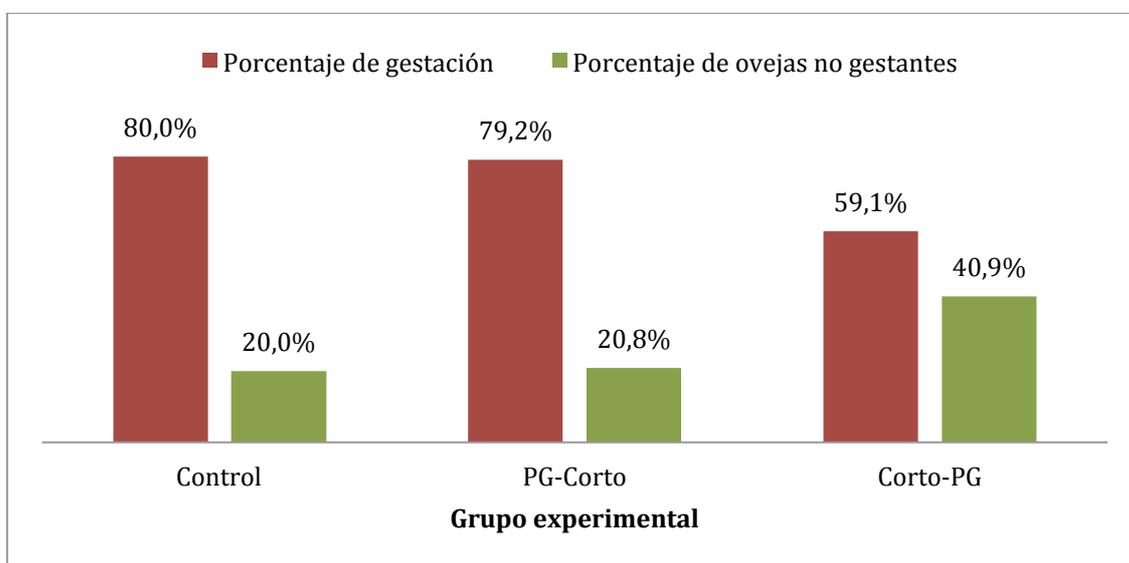


Figura 16. Porcentaje de ovejas gestantes y no gestantes dependiendo del tipo de tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

Al igual que se hizo en el experimento 1.1., el análisis de regresión logística, considerando la variable dependiente el porcentaje de gestación e incluyendo los factores que además, pudieran influir de manera significativa en el porcentaje de gestación (considerados factores de confusión, como la raza, la edad y condición corporal) corroboró los resultados descritos previamente sin encontrar significancia en los *odds ratios* de ninguna de las variables consideradas posibles factores de confusión, ni de la variable independiente o tratamiento.

En lo referente a la prolificidad, las diferencias entre grupos tampoco fueron significativas ($P=0,938$), y las diferencias numéricas fueron menos marcadas que durante el fotoperiodo decreciente (figuras 17 y 18). El mayor porcentaje de animales con partos dobles se observó, de nuevo, en el grupo de tratamiento Corto-PG (38%), seguido por el grupo PG-Corto (26%) y finalmente las ovejas del grupo control (25%). Este mismo orden se observó en los partos quintuples. En cambio, en las ovejas del grupo Corto-PG no se observó ningún parto cuádruple, mientras que un 10,5% de ovejas del grupo PG-Corto y un 8,3% del grupo control tuvieron cuatro corderos.

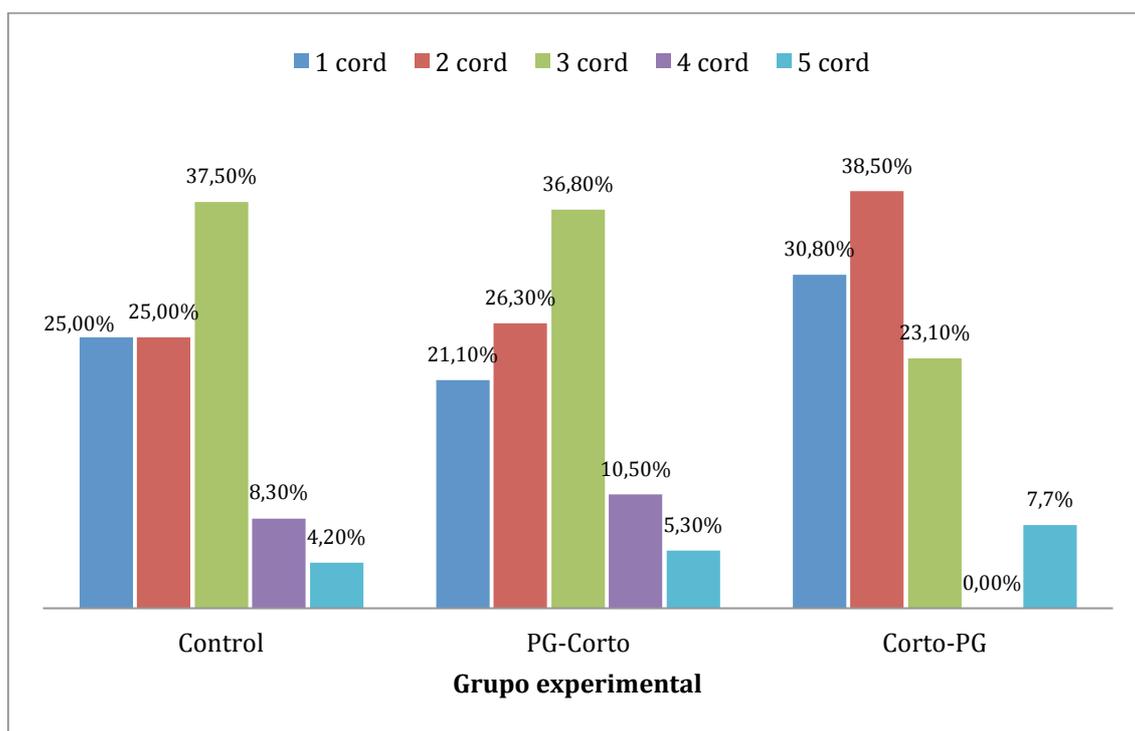


Figura 17. Porcentaje de ovejas que paren 1, 2, 3, 4 ó 5 corderos por parto dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

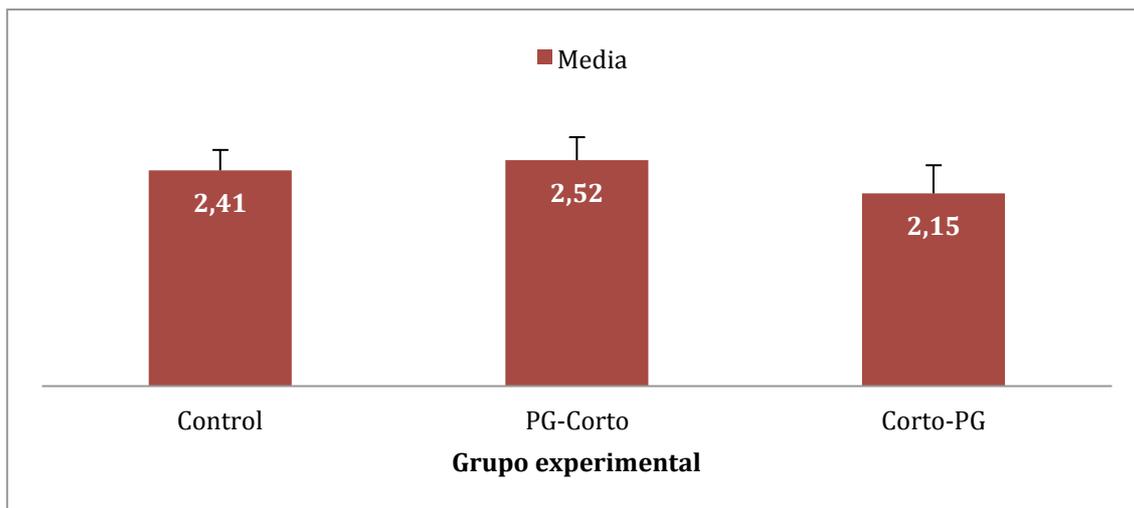


Figura 18. Prolificidad media y error estándar en los distintos grupos de tratamiento administrados en fotoperiodo creciente (Grupo control: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

Dado que en el fotoperiodo creciente hubo una mayoría de animales con ausencia de cuerpos lúteos, desde el punto de vista metodológico, podemos unir los dos grupos de tratamientos cortos en uno y efectuar una comparación global del tratamiento largo con respecto a los tratamientos cortos. Los resultados de porcentaje de gestación así agrupados se pueden observar en la figura 19 obtenidos en fotoperiodo creciente. En el grupo control se observó un porcentaje de gestación del 80%, y agrupando los dos tratamientos cortos se pudo observar un porcentaje de gestación medio del 69,6%.

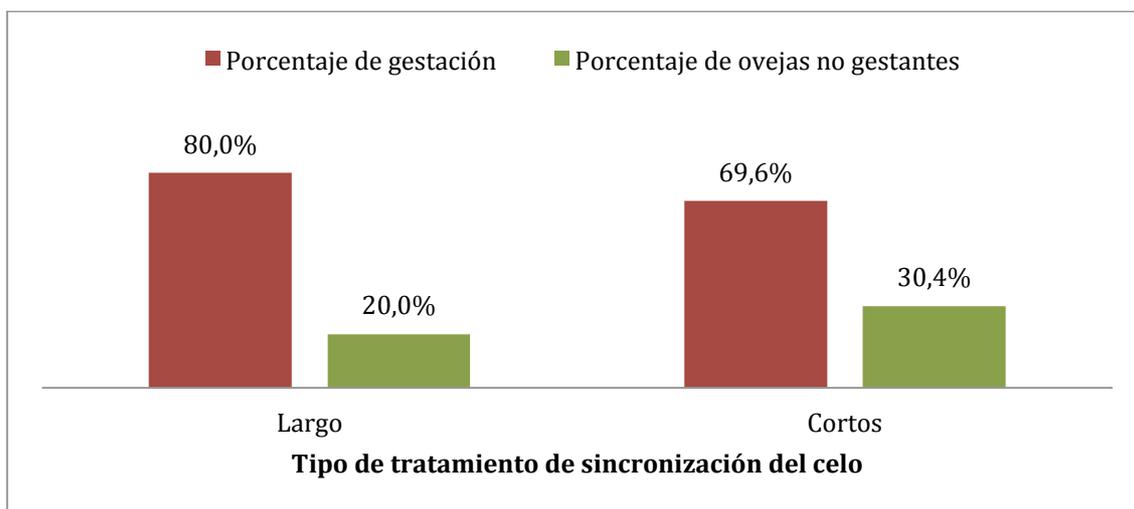


Figura 19. Porcentaje de ovejas gestantes y no gestantes dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo Largo: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo de tratamientos Cortos: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio o a la retirada + eCG a la retirada)

La comparativa de prolificidad agrupando las ovejas en tratamiento largo, respecto de tratamientos cortos, se puede observar en la figura 20. El porcentaje

más elevado en prolificidad en fotoperiodo creciente lo registraron las ovejas de partos triples del grupo control (37,5%). En los tratamientos cortos se obtuvo un porcentaje de partos triples y dobles similar (31,3%). El número de ovejas que tuvieron un parto simple coincidió en el grupo largo y en el de tratamientos cortos (25,0%) y éste a su vez, coincidió con las ovejas que tuvieron un parto doble en el grupo de tratamiento largo. Este porcentaje de ovejas de parto doble fue superado por las ovejas que habían recibido un tratamiento corto (31,3%).

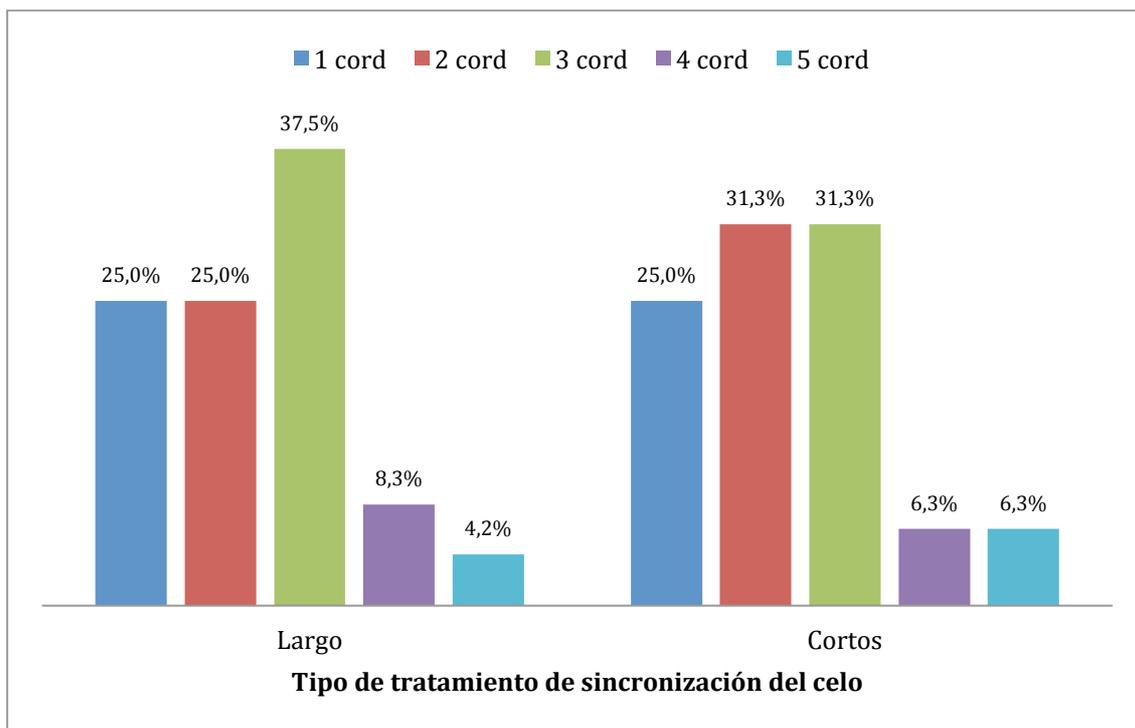


Figura 20. Porcentaje de ovejas que parieron 1, 2, 3, 4 ó 5 corderos por parto dependiendo de la duración del tratamiento administrado en fotoperiodo creciente (Grupo Largo: tratamiento 14 días + eCG a la retirada, Grupo de tratamientos Cortos: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio o a la retirada + eCG a la retirada)

4.1.3 Influencia del fotoperiodo sobre las tasas de gestación y prolificidad

El porcentaje de ovejas que respondieron al tratamiento fue numéricamente superior cuando el fotoperiodo era decreciente, aunque esta diferencia no fue significativa ($P=0,184$), tal y como se aprecia en la figura 21.

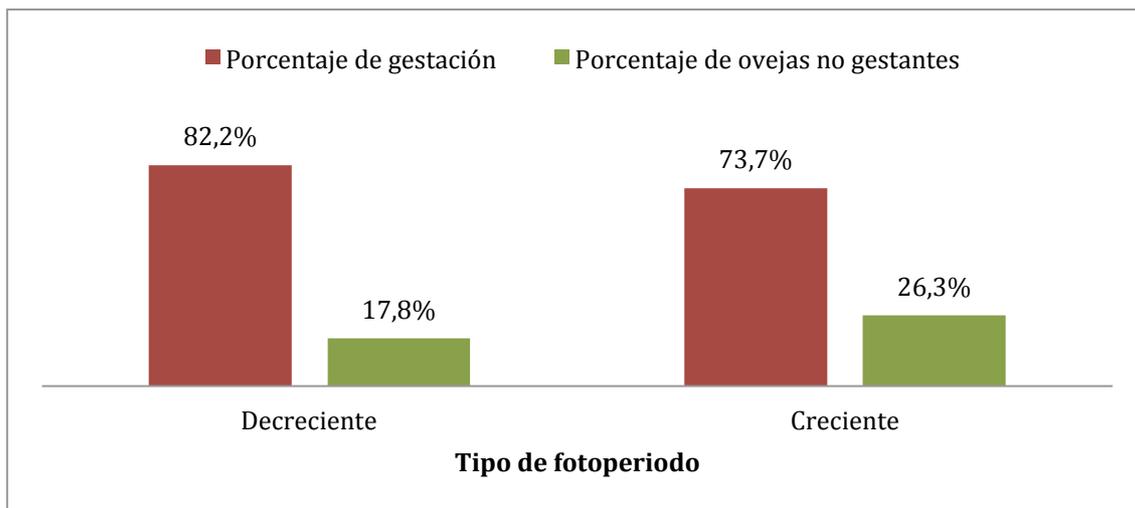


Figura 21. Efecto del fotoperiodo (creciente vs. decreciente) sobre el porcentaje de gestación en ovejas sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos.

No se observaron diferencias significativas entre fotoperiodo creciente y decreciente ($P=0,577$) sobre la prolificidad al parto (2,50 vs. 2,39 para decreciente y creciente, respectivamente) registrándose valores idénticos de prolificidad mínima (1 cordero/parto) y máxima (5 corderos/parto), siendo muy semejantes de igual forma los valores de prolificidad media en ambos casos (figura 22).

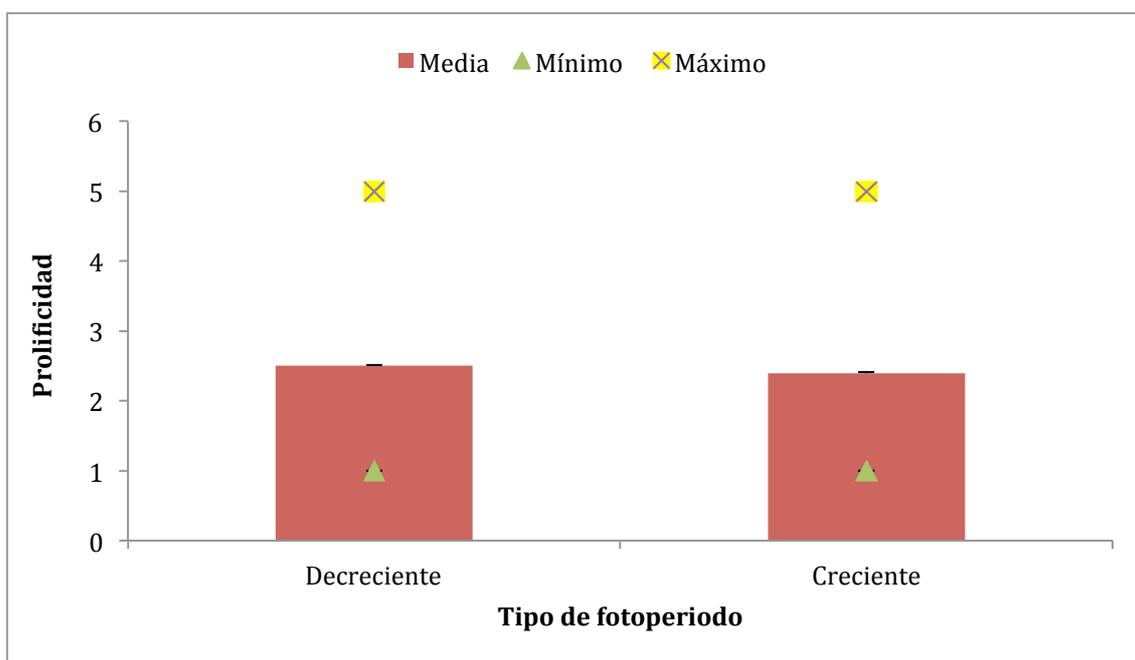


Figura 22. Efecto del fotoperiodo (creciente vs. decreciente) sobre la prolificidad media en ovejas sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos

En lo que respecta al efecto del fotoperiodo dentro de los grupos experimentales, observamos únicamente diferencias en el porcentaje de gestación. El grupo Corto-PG resultó mejor durante el fotoperiodo decreciente (90,0% vs. 59,1% decreciente vs. creciente, respectivamente $P=0,009$). El porcentaje de gestación fue similar en el resto de grupos. En el grupo control fue del 76,7 vs. 80,0%, para el fotoperiodo decreciente y creciente, respectivamente ($P=0,754$), mientras que en el grupo de tratamiento PG-Corto, las cifras fueron del 80,0 vs. 79,2% con un valor de P del 0,940.

4.1.4 Influencia de la raza sobre el porcentaje de gestación y prolificidad

El factor racial no influyó significativamente en el porcentaje de gestación, como se puede apreciar en la figura 23 con un porcentaje de hembras gestantes semejante en las dos razas puras utilizadas (78,3% y 76,7%) al igual que en los híbridos F1 (78,9%).

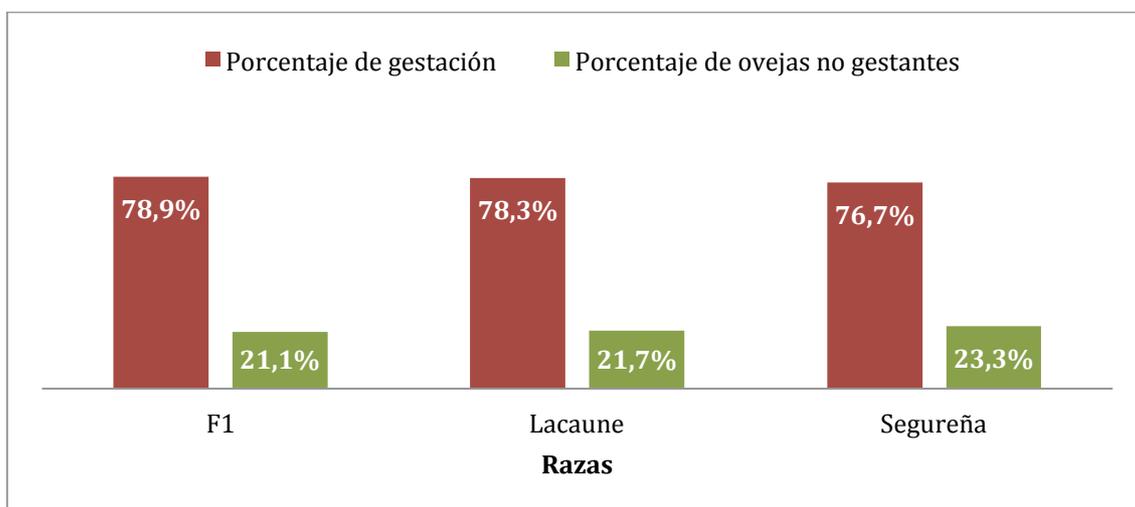


Figura 23. Porcentaje de hembras gestantes y no gestantes según raza (lacaune, segureña o F1 del cruce de éstas con romanov) sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos

Sin embargo, sí que observamos un efecto significativo de la raza sobre la prolificidad (figura 24). De hecho, el mayor porcentaje de partos de un solo cordero se produjo en la raza segureña, con un 41,7%, frente a la lacaune y el cruce F1, donde estos porcentajes bajaron al 22,9% y 12,7%, respectivamente. En relación a los partos múltiples (de 2 a 5 corderos), el cruce F1 demostró claramente su superioridad sobre la lacaune en partos triples, cuádruples y quíntuples, con un 33,8%, un 18,3% y un 5,6%, respectivamente, frente al 25,7%, 5,7% y 2,9% que se registraron en la raza lacaune. Esta última, superó a la F1 en el porcentaje de partos dobles, que fue del 42,9%, frente al 29,6% observado en la F1. La raza segureña también superó a la F1 en el porcentaje de partos dobles, que fue del 33,3%, frente al 29,6% ($P=0,05$).

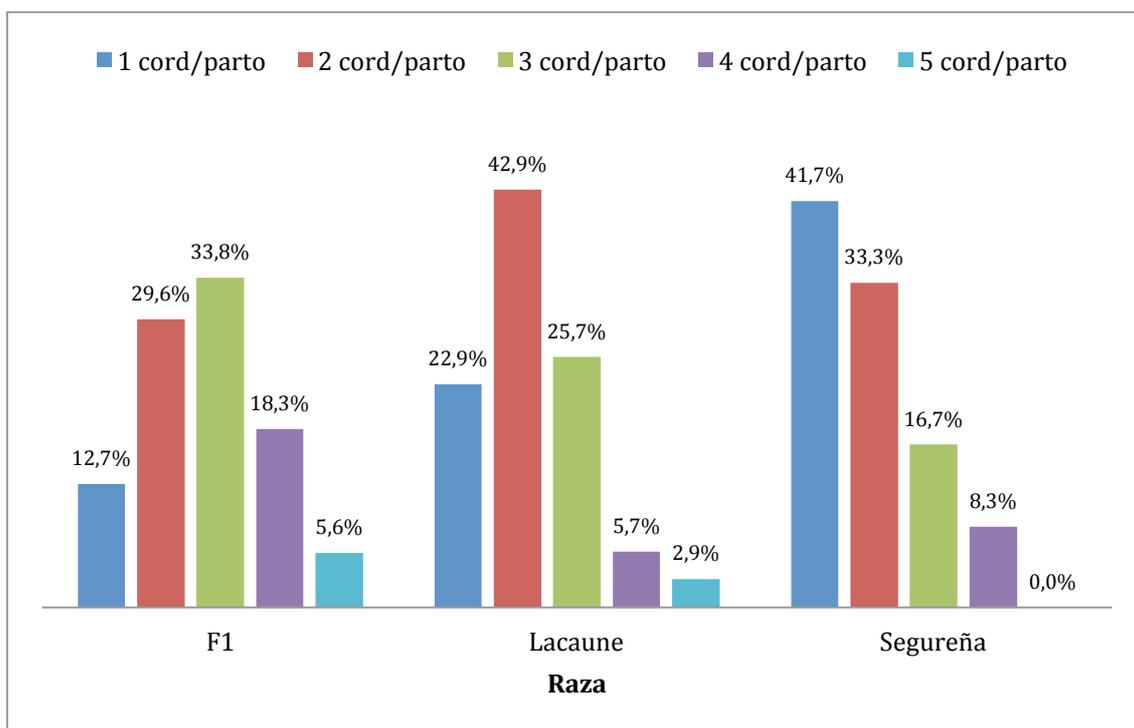


Figura 24. Porcentaje de ovejas con 1, 2, 3, 4 o 5 corderos por parto según razas (lacaune, segureña o F1 del cruce de éstas con romanov) sincronizadas con diferentes protocolos de sincronización basados en la inserción de dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos

4.2 Fase experimental 2. Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas, en fotoperiodo decreciente

En esta fase experimental se trabajó con un total de 32 ovejas distribuidas en los mismos tres grupos experimentales previamente descritos en la fase experimental anterior.

La edad media en los tres grupos fue de $3,19 \pm 1,15$, sin diferencias significativas entre ellos ($P=0,815$) al igual que la condición corporal media de $3,45 \pm 0,46$, sin diferencias significativas entre los tres grupos ($P=0,745$).

4.2.1 Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de presentación de celo y momento de aparición del celo

La determinación del momento de aparición del celo, realizada cada 4h desde las 12h hasta las 80h después de la retirada de las esponjas, mostró que el porcentaje de hembras que salieron en celo fue del 87,66%. Los porcentajes de respuesta entre grupos fueron 100% en el grupo control, 63,6% en el grupo PG-Corto y del 90,9% en el grupo Corto-PG. Estas diferencias numéricas, mostraban una tendencia estadísticamente significativa ($P=0,065$; Tabla 5), que ratificaba que en el grupo PG-Corto se obtuvo una menor respuesta al tratamiento en relación a los otros dos grupos (control y Corto-PG).

Tabla 5. Porcentaje de presentación de celo según grupo experimental

Grupo de tratamiento	Respuesta al tratamiento
Control	100,0%
PG-Corto	63,6%
Corto-PG	90,9%

(Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

El análisis de regresión logística, considerando la variable dependiente la presentación de celo corroboró los resultados descritos previamente sin encontrar significancia en las *odds ratio* de ninguna de los posibles factores de confusión (edad ni condición corporal) ni de la variable independiente o tratamiento, con valores $P>0,05$ en todos los casos.

El tiempo (T) medio de salida en celo fue de $42,31 \pm 14,88$ h, no existiendo diferencias significativas entre los tres grupos ($P=0,165$; tabla 6). En el grupo control, el tiempo medio fue de $35,11 \pm 5,20$ h; en el grupo PG-Corto, de $43,43 \pm 19,24$ h; y en grupo Corto-PG, de $48,0 \pm 16,0$ h.

Tabla 6. Tiempo medio transcurrido (h) entre la retirada de las esponjas intravaginales y el momento en que salieron en celo las ovejas pertenecientes a los distintos grupos experimentales

Grupo tratamiento	T medio \pm Desviación típica	T mínimo	T máximo
Control	35,11 \pm 5,20	24	40
PG-Corto	43,43 \pm 19,24	28	80
Corto-PG	48,00 \pm 16,00	24	72

(Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2 α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2 α} y eCG a la retirada)

En cuanto a la agrupación de presentación del celo, pudimos observar que el total de animales que respondieron al tratamiento lo hicieron, en el caso del grupo control, en 16h. En el grupo PG-Corto este intervalo fue de 52h, mientras que en el grupo Corto-PG fue de 48h ($P < 0,05$).

Al ir analizando el porcentaje de animales que iba saliendo en celo en las valoraciones cada 4h, se pudo observar el grado de agrupación de la presentación del celo, además del momento en el que el 100% de los animales lo mostraron (figura 25). En resumen, las ovejas del grupo control salieron en celo de manera más agrupada, con el 100% de ellas en la hora 40 tras la retirada de las esponjas. Los tratamientos cortos se distribuyeron más en el intervalo de observación de celo, encontrándose el 100% de celos a las 80h y 72h, respectivamente para los grupos PG-Corto y Corto-PG, respectivamente.

Únicamente, en la hora 40, se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo Corto-PG ($P = 0,018$), con un 100% y un 69,2% de ovejas en celo, respectivamente. Los porcentajes acumulados de animales en celo el resto de intervalos no fueron estadísticamente significativos. En la Figura 26 se recoge de forma detallada esta dinámica de celos, y se puede observar esta agrupación más marcada de salida en celo en el grupo control y Corto-PG.

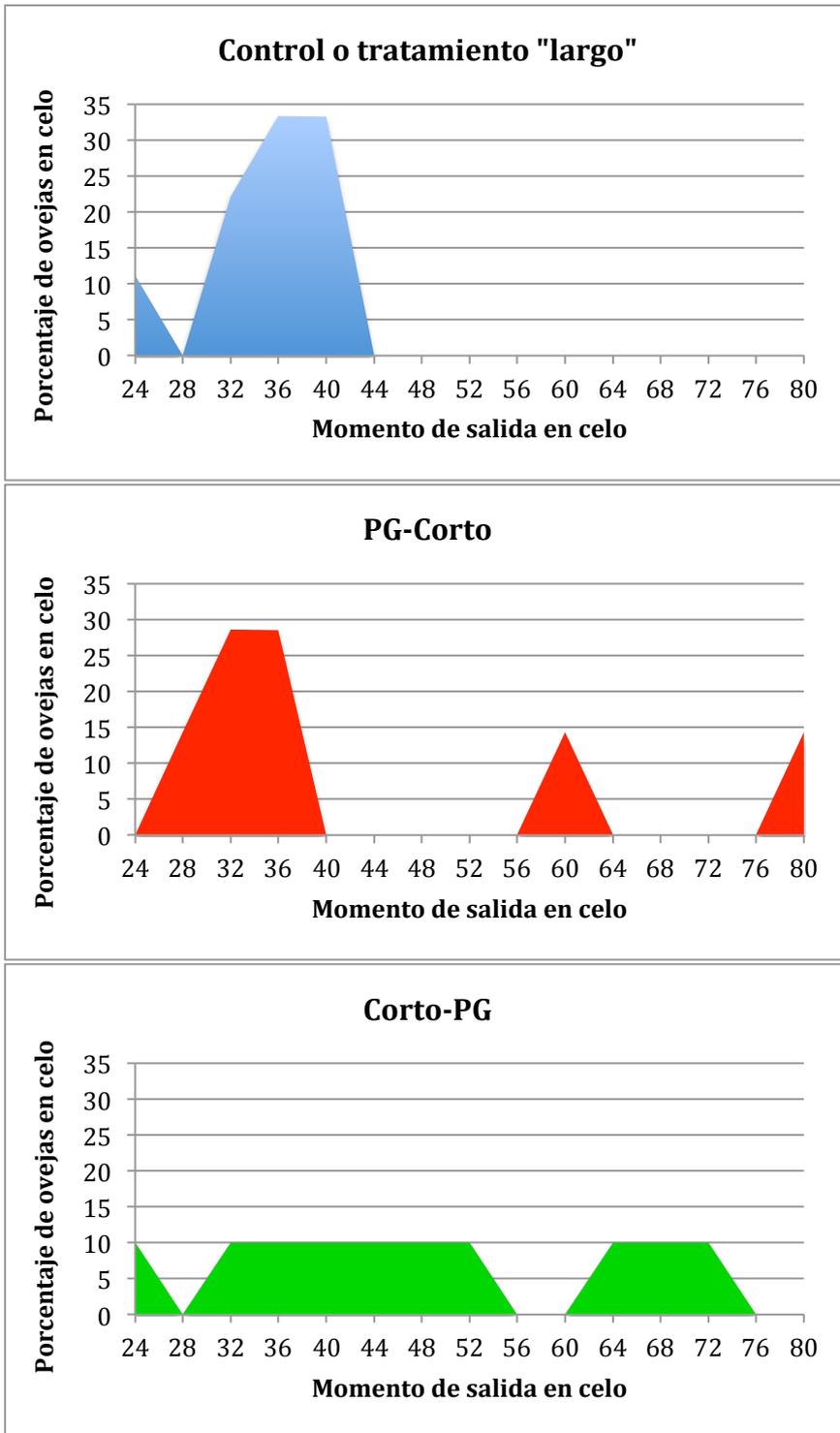


Figura 25. Porcentaje de ovejas de cada grupo que mostraron celo en las horas posteriores a la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

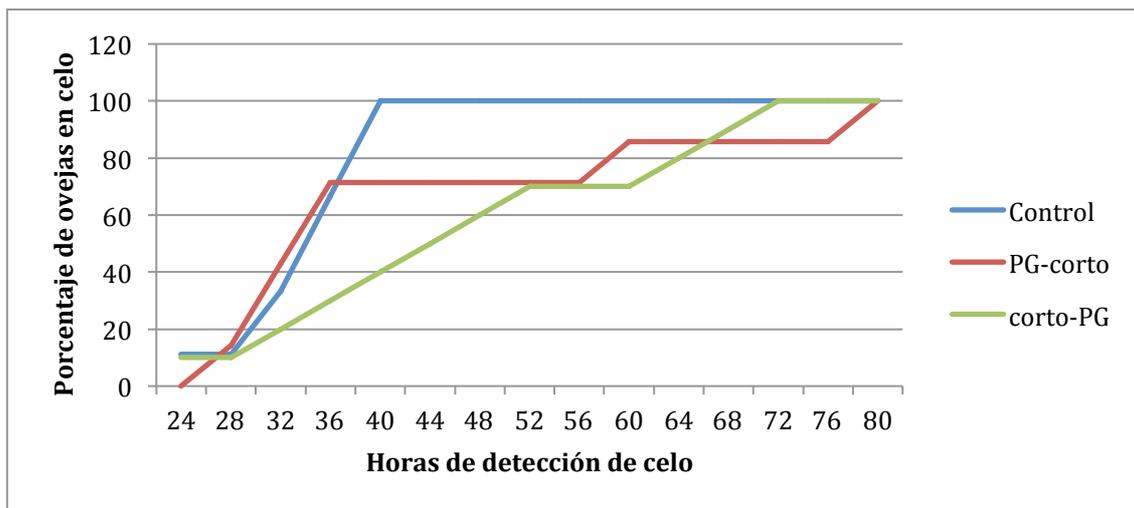


Figura 26. Porcentaje de ovejas de cada grupo que salen en celo en las horas posteriores a la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ y eCG a la retirada)

Para la siguiente parte del estudio en donde profundizamos en la dinámica folicular y funcionalidad ovárica e hipofisaria trabajamos sólo con las ovejas que salieron en celo en el intervalo 0-60h tras retirada esponjas para asegurar que la información diferenciada entre grupos se debía a los ciclos inducidos por los tratamientos experimentales.

Así pues se estudiaron un total de 9 ovejas en el grupo control, 7 ovejas en el grupo PG-Corto y 7 en el grupo Corto-PG.

4.2.2 Influencia del tipo de tratamiento sobre la dinámica de crecimiento folicular

La dinámica de crecimiento folicular consecuente a la retirada del progestágeno en aquellos animales que presentaron signos de celo fue similar en los tres grupos de tratamiento. En esencia, se produjo un aumento en el número total de folículos grandes (diámetro mayor o igual a 6mm; Figura 27) y un aumento en el diámetro medio de los folículos más grandes (F_1 y F_2 ; Figura 27).

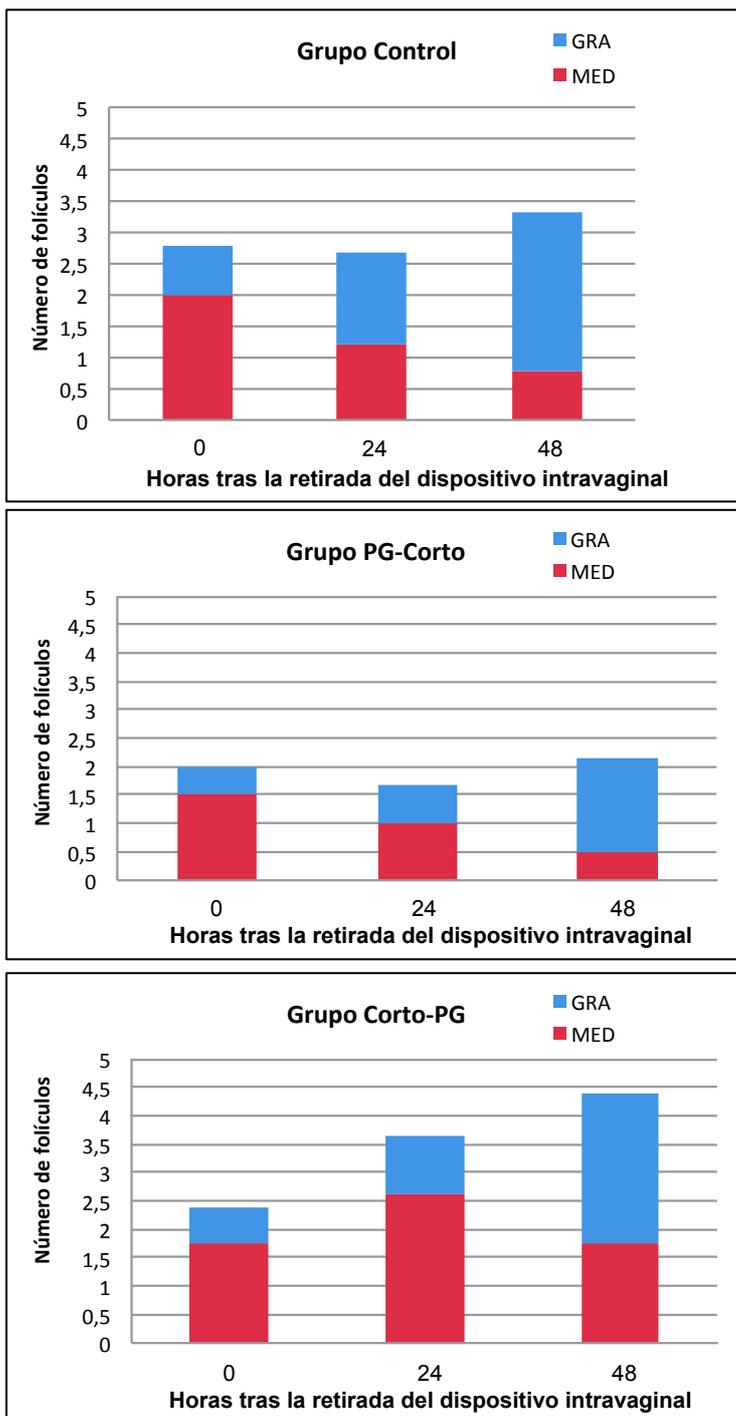


Figura 27. Número medio de folículos ≥ 4 mm, divididos en medianos (4-5mm; barra roja) y grandes (≥ 6 mm; barra azul), durante la fase folicular de ovejas pertenecientes a tres grupos distintos experimentales (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ y eCG a la retirada)

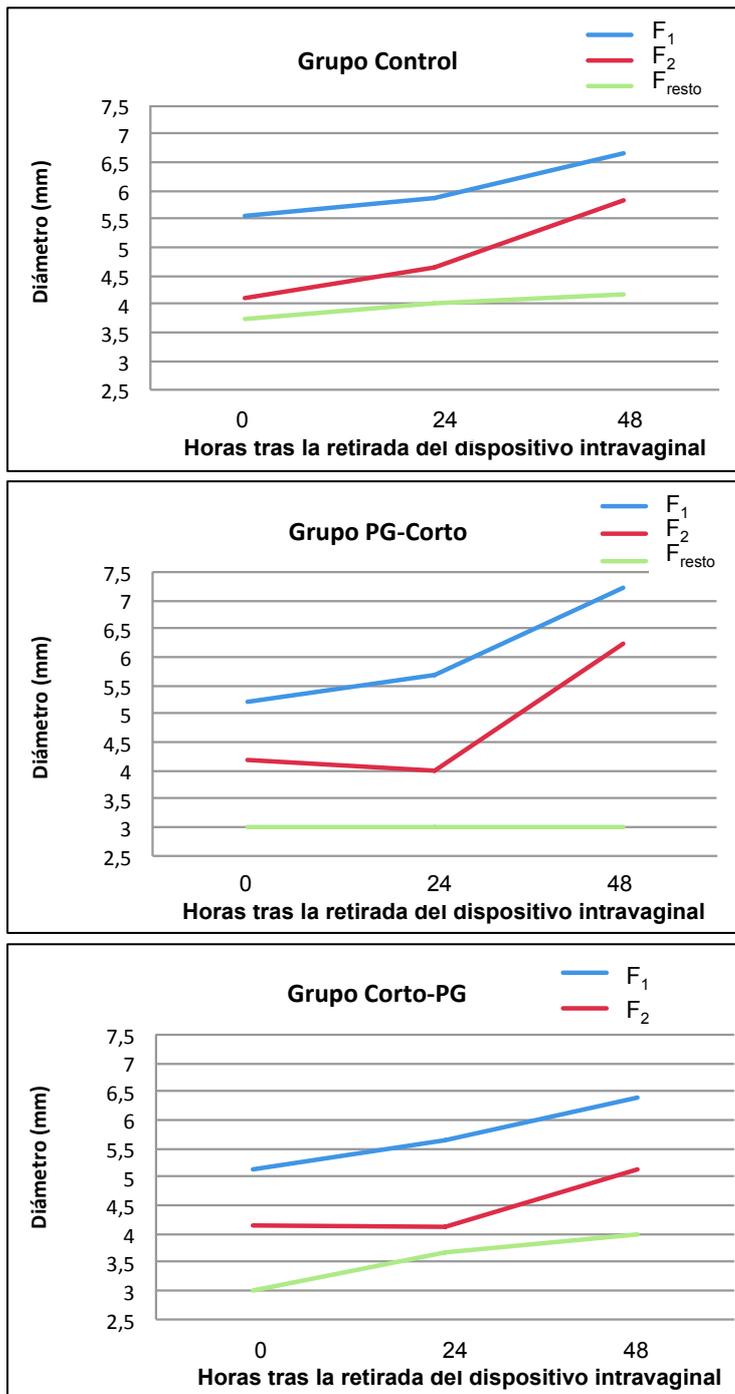


Figura 28. Diámetro medio del mayor folículo en tamaño (F₁; línea azul), del segundo mayor (F₂; línea roja) y del resto de folículos (resto; línea verde) durante la fase folicular de ovejas pertenecientes a tres grupos distintos de tratamiento (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

Sin embargo, si bien los perfiles de crecimiento de los folículos fueron similares, hubo diferencias significativas en el número de folículos entre los tres grupos. Observamos que el número de folículos medianos descendió desde el momento de retirada del progestágeno hasta 48h después en los grupos control y PG-Corto; por el contrario, en el grupo Corto-PG aumentó entre las 0h y 24h, para descender entre las 24h y 48h, aunque las diferencias no fueron significativas ($P=0,231$ y $P=0,371$, para la comparativa 0-24h y 24-48h, respectivamente). Sin embargo, a pesar de esta falta de significancia, esta diferencia numérica resultó, a las 24h, en un número de folículos medianos (4-5mm) mayor en el grupo Corto-PG que en los otros dos grupos ($P<0,05$). Estas diferencias se hicieron más evidentes al considerar sólo los folículos que se encontraban en crecimiento en cada una de las observaciones (Figura 28); ya que se observó prácticamente el triple de folículos medianos en el grupo Corto-PG respecto a los otros grupos ($P<0,05$). En cuanto a la evolución de la cantidad de folículos grandes en los diferentes momentos en cada grupo de tratamiento, observamos un aumento de los mismos de 0 a 24h en todos los grupos, sin diferencias significativas entre momentos para ninguno de los grupos ($P=0,111$; $P=0,611$ y $P=0,442$). Sin embargo, en el paso de 24 a 48h tras la retirada de los dispositivos, los grupos de tratamientos cortos mostraron tendencia y significancia estadística en la elevación del número de folículos grandes de la hora 24 a la 48 (de 0,67 a 1,67; $P=0,076$ en PG-Corto y de 1,00 a 2,62; $P=0,003$ en PG-Corto).

En la figura 28 se puede apreciar también que el número medio de folículos grandes en crecimiento a las 48h (es decir, los folículos ovulatorios) fue mayor en los grupos que recibieron un tratamiento corto (PG-Corto y Corto-PG), respecto del grupo control, en que se llevó a cabo un tratamiento largo, lo que refleja este crecimiento significativo previamente descrito de los folículos en estos grupos “cortos”.

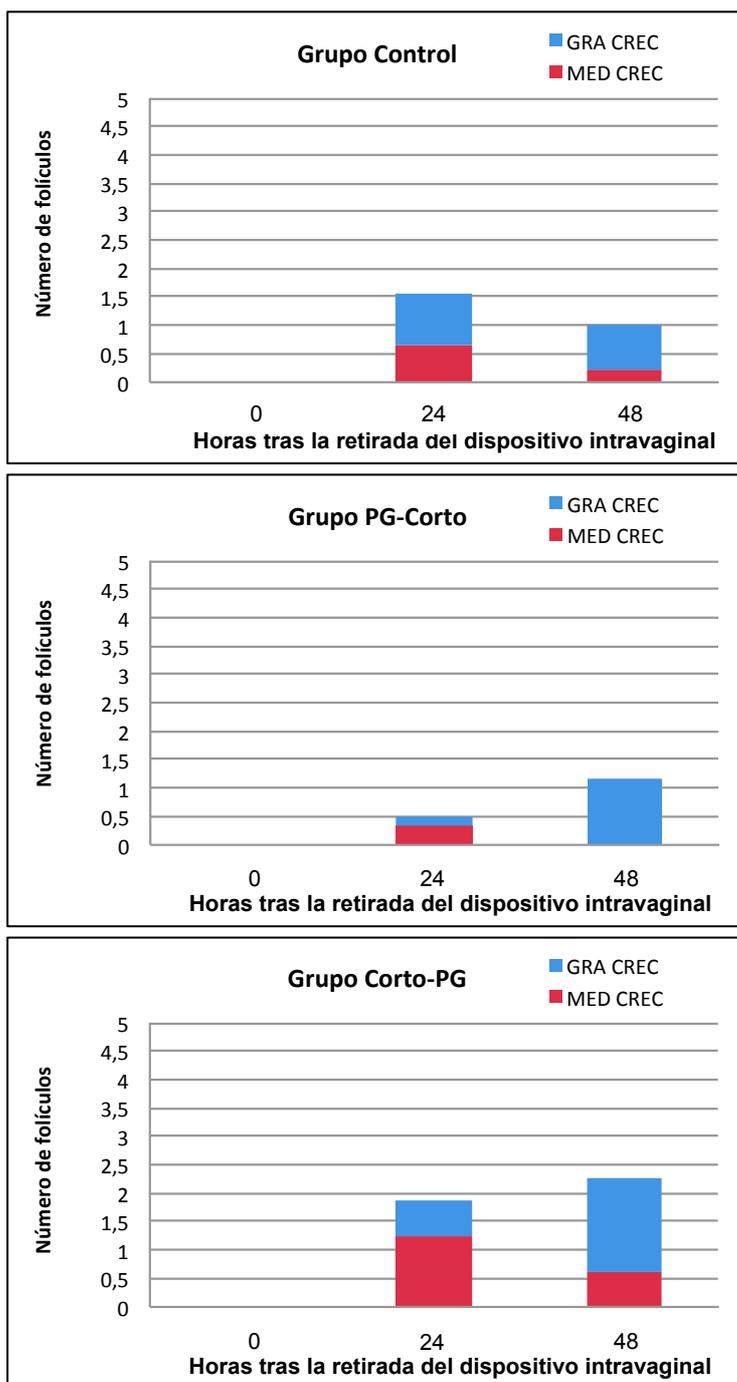


Figura 29. Número medio de folículos mayores o iguales a 4mm, divididos en medianos (4-5mm; barra roja) y grandes (≥ 6 mm; barra azul), durante la fase folicular de ovejas pertenecientes a tres grupos distintos de tratamiento (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ y eCG a la retirada)

4.2.3 Influencia del tipo de tratamiento sobre la liberación de estradiol

Los resultados de estradiol (E2) de las muestras obtenidas (en 6 momentos diferentes respecto al momento de retirada de las esponjas) mostraron

concentraciones ligeramente superiores de E2 en el momento de la retirada de las esponjas en el grupo Corto-PG (0,84 pg/ml), respecto a los grupos control y PG-Corto (0,34 pg/ml y 0,14 pg/ml, respectivamente), aunque estas diferencias no fueron significativas ($P=0,377$).

Doce horas después de la retirada de las esponjas observamos una tendencia en el grupo control para los niveles de E2 con respecto a los grupos cortos (3,16 pg/ml; 1,86 pg/ml y 2,03 pg/ml para control, PG-Corto y Corto-PG respectivamente, $P=0,066$)

En el siguiente momento (hora 24), el grupo que marcó la diferencia respecto a los otros dos fue el grupo control; que pasó a ser el grupo de menor liberación de E2 respecto a los grupos cortos (2,15 pg/ml en grupo control, frente a 3,77 pg/ml en PG-Corto y 4,12 pg/ml en Corto-PG; $P<0,0001$).

En la hora 36 los tres grupos fueron similares (grupo control: 4,30 pg/ml; grupo PG-Corto: 3,86 pg/ml; grupo corto-PG: 4,56 pg/ml), al igual que en la hora 48 (grupo control: 2,18 pg/ml; grupo PG-Corto: 1,57 pg/ml; grupo Corto-PG: 2,02 pg/ml).

Sin embargo, en última observación (hora 60) sí que observamos diferencias significativas ($P=0,002$) entre el grupo Corto-PG con mayor concentración de E2 y los grupos control y PG-Corto, con niveles de E2 de 3,44 pg/ml, 1,46 pg/ml y 1,48 pg/ml, respectivamente (figura 30).

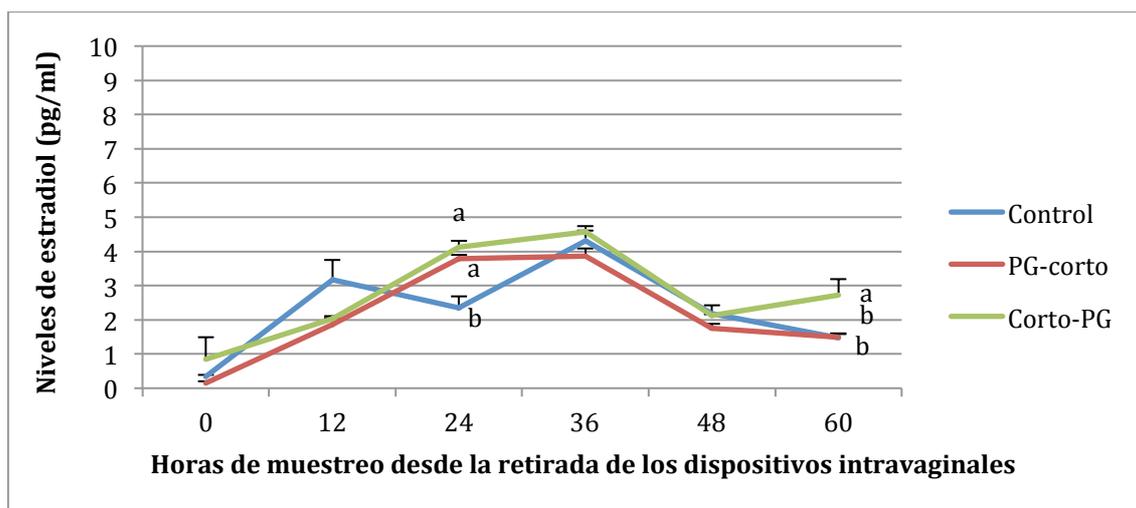


Figura 30 . Niveles de estradiol medios (pg/ml) en cada grupo de tratamiento en las horas posteriores a la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + $\text{PGF}_{2\alpha}$ al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + $\text{PGF}_{2\alpha}$ y eCG a la retirada). a, b indican diferencias significativas entre grupos en cada momento de muestreo, con $P<0,001$

4.2.4 Influencia del tipo de tratamiento sobre el momento de aparición del pico de LH y sobre la concentración máxima de LH

En relación a las concentraciones de LH observamos que en todas las hembras en celo, independientemente del grupo experimental, tuvo lugar una descarga preovulatoria de LH posterior a la retirada de los dispositivos. No observamos diferencias en el momento de aparición de la descarga de LH entre grupos (tabla 7), si bien se observó un mayor agrupamiento en el caso del grupo Corto-PG (figura 31), con aproximadamente el 90% de las hembras con descarga de LH en las 8 horas posteriores a la aparición del celo.

Tabla 7. Media y desviación típica del momento de aparición del pico de LH, en horas, y concentración máxima de LH, en ng/ml, en las ovejas pertenecientes a los distintos grupos experimentales

	Grupo Control	Grupo PG-Corto	Grupo Corto-PG
Momento aparición pico LH (h)	10,67 ± 4,90	12,00 ± 5,66	8,00 ± 3,70
Concentración máxima pico LH (ng/ml)	38,95 ± 27,66	12,40 ± 4,40	47,13 ± 30,51

(Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + PGF_{2α} al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + PGF_{2α} y eCG a la retirada)

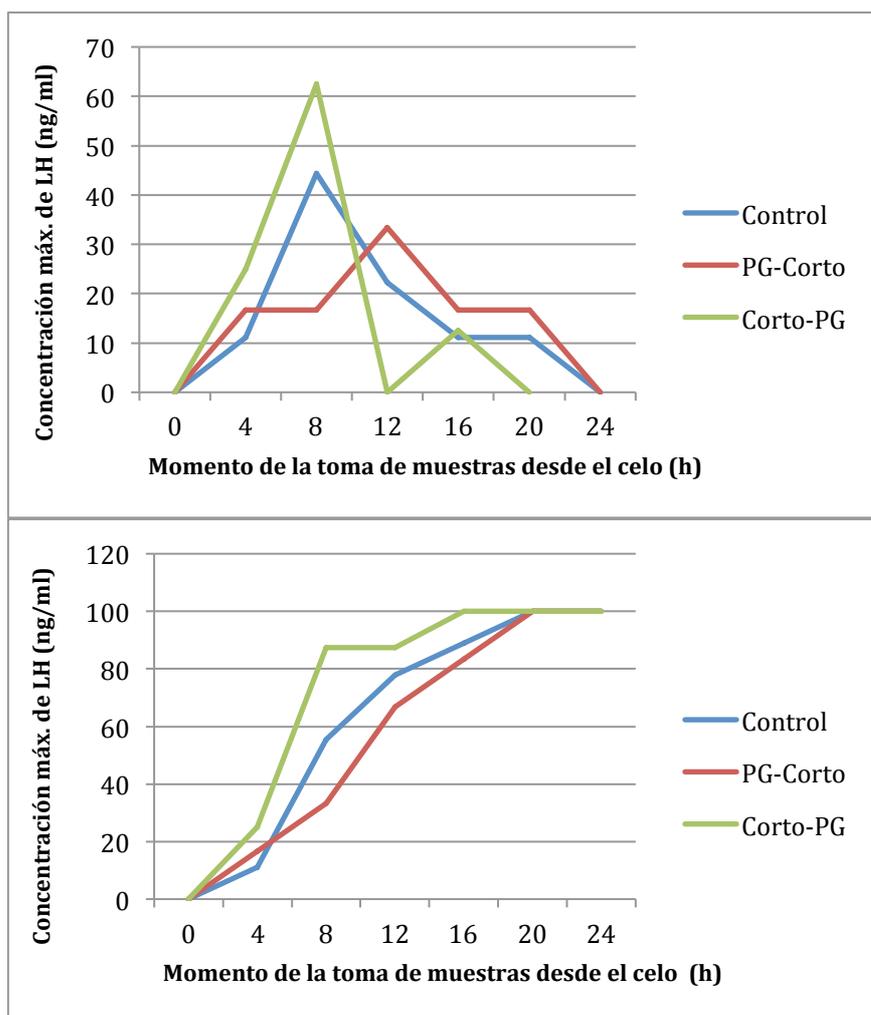


Figura 31. Porcentaje absoluto (superior) y acumulado (inferior) de ovejas que presentaron descarga prevulatoria de LH (ng/ml) en cada grupo experimental en las horas posteriores a la aparición del celo (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ y eCG a la retirada)

Finalmente, debe reseñarse que las concentraciones máximas de LH fueron significativamente menores en el grupo PG-Corto ($P < 0,05$; Tabla 7).

4.2.5 Influencia del tipo de tratamiento sobre la tasa de ovulación y funcionalidad de cuerpos lúteos

La evaluación y funcionalidad de la fase luteal se realizó sólo en las hembras que habían salido en celo hasta la hora 60 tras la retirada de las esponjas. Se valoró, por una parte, mediante el número de CL por ecografía transrectal, y por otra, mediante las concentraciones de P4 en sangre circulante once días después de la retirada de las esponjas.

El número de CL fue muy similar en los tres grupos, con una media de $2,56 \pm 0,88$ CL/oveja en el grupo control, $2,43 \pm 0,53$ en el grupo PG-Corto y $2,57 \pm 0,53$ en el grupo Corto-PG. Sin embargo, la distribución de animales con 2, 3 ó 4 CL agrupando los grupos de tratamientos cortos respecto al grupo largo mostró una tendencia significativa ($P=0,1$) con más hembras con 3 CL en los grupos cortos (11.1% en control, 57,1% en Corto-PG y 43.5% en PG-Corto). Por otro lado, sólo se observaron hembras con 4 CL en el grupo control (0 versus 22.2%; $P=0,027$).

En relación a la funcionalidad de los CL, los niveles de P4 más elevados se obtuvieron en el grupo control, con $4,02 \pm 3,65$ ng/ml, seguidas del grupo Corto-PG, con valores medios de $3,09 \pm 1,84$ ng/ml. El grupo PG-Corto fue el que presentó niveles más bajos de P4, al igual que en número medio de CL, con una media de $2,14 \pm 1,49$ ng/ml. No hubo diferencias significativas en los niveles de progesterona en sangre observados en los distintos grupos ($P=0,398$; Figura 33).

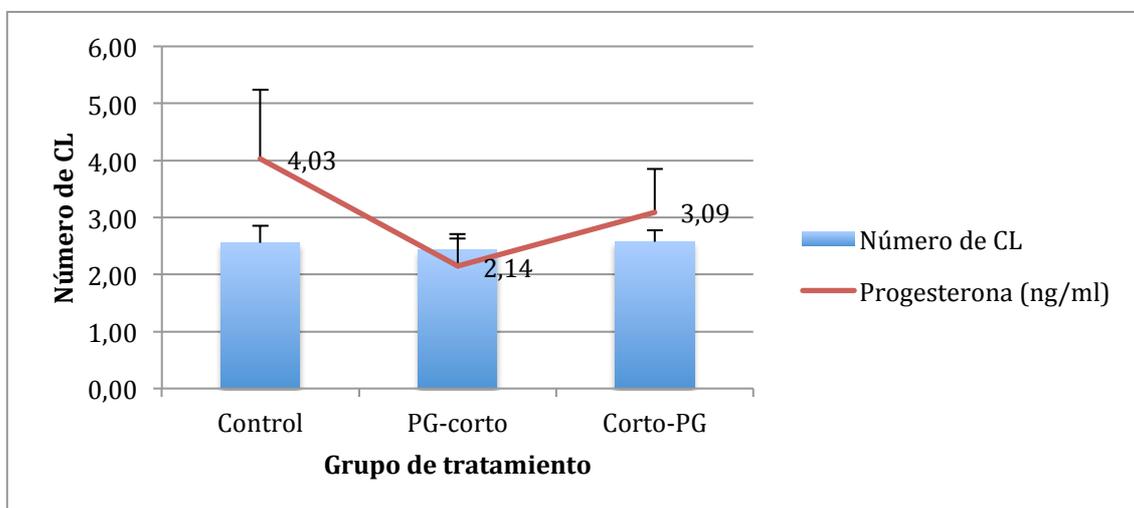


Figura 32 . Número de CL y niveles medios de progesterona (ng/ml) en los distintos grupos de tratamiento 11 días después de la retirada de las esponjas. (Grupo control: tratamiento "largo" de 14 días + eCG a la retirada, Grupo PG-Corto: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ al inicio + eCG a la retirada, Grupo Corto-PG: tratamiento 7 días + $PGF_{2\alpha}$ y eCG a la retirada)

4.3 Fase experimental 3. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre el porcentaje de gestación en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos largo (14 días) en fotoperiodo creciente

En esta fase experimental se profundizó en la utilización de un nuevo dispositivo intravaginal con progesterona natural (CIDR®) en comparación con las esponjas de progestágenos habituales en base a FGA, que se utilizaron en las fases experimentales previas, 1 y 2.

El tratamiento de sincronización aplicado para la comparación fue el más ampliamente difundido en la actualidad: el tratamiento de 14 días de mantenimiento de los dispositivos intravaginalmente y administración de 400 UI de eCG i.m. a la retirada de los mismos. El fotoperiodo en el que se efectuó este experimento fue el decreciente.

Inicialmente, los grupos experimentales FGA y CIDR estaban formados por 186 y 117 ovejas, respectivamente, y de ellas se perdieron 7 animales en el primer grupo y 12 en el segundo. Estas bajas fueron provocadas por eliminación, por error de separación de lotes en el momento de colocar los dispositivos y por mortalidad. Debido a estas pérdidas en ambos grupos, FGA y CIDR, se insertaron 179 y 105 dispositivos, respectivamente.

Estos animales se distribuyeron aleatoriamente, quedando los animales repartidos homogéneamente entre los dos grupos en lo que a edad y condición corporal se refiere.

Tal y como se detalla en el apartado de material y métodos del presente experimento, las pérdidas de dispositivo vaginal observadas en los dos grupos experimentales fueron del 4,469% (8/179) en el grupo FGA y del 1,905% (2/105) en el grupo CIDR. Estos diferentes porcentajes numéricos no fueron estadísticamente significativos ($P=0,332$).

Por lo tanto, en el momento de la retirada de los dispositivos, el grupo FGA había quedado reducido a 171 animales y el grupo CIDR a 103 animales. 40 días después, en el momento de hacer el diagnóstico de gestación, otras 4 ovejas habían desaparecido del grupo FGA, bien por eliminación, por error de cambio a otro lote o por mortalidad. Por estas mismas razones desaparecieron 8 animales del grupo CIDR.

Finalmente, en el estudio de fertilidad, quedaron 262 ovejas; 167 se sincronizaron y diagnosticaron con esponjas FGA mientras que 95 se

sincronizaron y diagnosticaron, con los dispositivos CIDR. La edad media de esta población fue de $3,1 \pm 1,55$ años y $3,0 \pm 1,93$ lactaciones. La condición corporal media (CC) fue de $2,4 \pm 0,51$. La distribución de edad, número de lactaciones/oveja y CC no varió de manera estadísticamente significativa ($P > 0,05$) entre los grupos de tratamiento, tal y como se ve en la tabla 8.

Tabla 8. Número de animales de raza Lacaune de aptitud lechera que se incluyeron en cada grupo de tratamiento, valores medios de la edad, condición corporal y número de lactaciones

Grupo	N	Edad	CC	Nº lactaciones
FGA	167	$3,1 \pm 1,31$	$2,4 \pm 0,50$	$3,0 \pm 1,70$
CIDR	95	$2,9 \pm 1,90$	$2,4 \pm 0,56$	$2,9 \pm 2,31$
Valor de P		0,361	0,837	0,864

(Grupo FGA: tratamiento "largo" de 14 días con esponja de FGA + eCG a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento "largo" de 14 días con dispositivo de progesterona + eCG a la retirada)

Las variables que se analizaron para evaluar la respuesta al tratamiento, fueron directamente el porcentaje de gestación y la prolificidad estimada, determinadas ambas por ecografía transabdominal a día 40 post-montas.

No se observaron diferencias significativas entre el grupo FGA y el grupo CIDR, ni en el porcentaje de gestación (61,7% vs. 51,6%, respectivamente; $P=0,120$) ni en la prolificidad estimada ($1,62 \pm 0,55$ vs. $1,52 \pm 0,50$, respectivamente; $P=0,317$), tal y como se refleja en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentaje de ovejas gestantes y prolificidad media en cada grupo experimental dependiendo del tipo de tratamiento administrado

	FGA	CIDR
Gestación	61,7% (103/167)	51,6% (49/95)
Prolificidad	$1,62 \pm 0,56$	$1,52 \pm 0,50$

(Grupo FGA: tratamiento "largo" de 14 días con esponja de FGA + eCG a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento "largo" de 14 días con dispositivo de progesterona + eCG a la retirada)

La última observación recogida de manera sistemática fue la cantidad de dispositivos intravaginales con olor desagradable en el momento de su retirada, en cada grupo. Así pues, solamente un 1% (1/103) de los CIDR presentaron olor desagradable, frente al 76% (130/171) de esponjas con esta característica, y aunque era un signo subjetivo, la intensidad del olor en el caso de los CIDR era mucho menor a la de los dispositivos FGA.

4.4 Fase experimental 4. Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos corto (7 días) e influencia de la época reproductiva

En esta fase experimental 4 se abordaron los experimentos 4.1 y 4.2, comparando dos tratamientos de sincronización de celos mediante progesterona natural (dispositivos CIDR) y progestágenos sintéticos (esponjas FGA) durante 7 días y administración de PGF_{2α} a la retirada de los mismos (lo que corresponde con el protocolo Corto-PG de las fases experimentales previas 1 y 2).

4.4.1 Experimento 4.1 Fotoperiodo creciente

La condición corporal fue similar en ambos grupos donde la media y la desviación típica fueron $3,89 \pm 0,20$ en el caso del grupo FGA y $3,77 \pm 0,33$ en el grupo CIDR ($P=0,125$). La edad media de los animales resultó similar en ambos grupos, siendo la media en el grupo FGA de $3,45 \pm 0,84$ años y en el grupo CIDR de $3,50 \pm 1,40$ años ($P=0,901$).

Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de presentación de celo, momento de aparición del celo u agrupación de los celos

La respuesta global al tratamiento expresada como presentación de celo en los animales fue del 100% en ambos grupos antes de las 40 horas tras la retirada de los dispositivos vaginales, por lo que no hubo diferencias entre grupos experimentales.

El momento de aparición de celo fue más temprano en el grupo FGA; concretamente a las 16h. En el grupo CIDR, tardaron un poco más, alcanzando el mínimo en 24h. El máximo fue 40h para los dos grupos (figura 34). En base a ello, el tiempo (T) medio de salida en celo en el grupo FGA fue de $32,00 \pm 6,01$ h, no existiendo diferencias significativas con el grupo CIDR, donde las ovejas tardaron en salir en celo, de media, $33,76 \pm 4,01$ h ($P=0,233$).

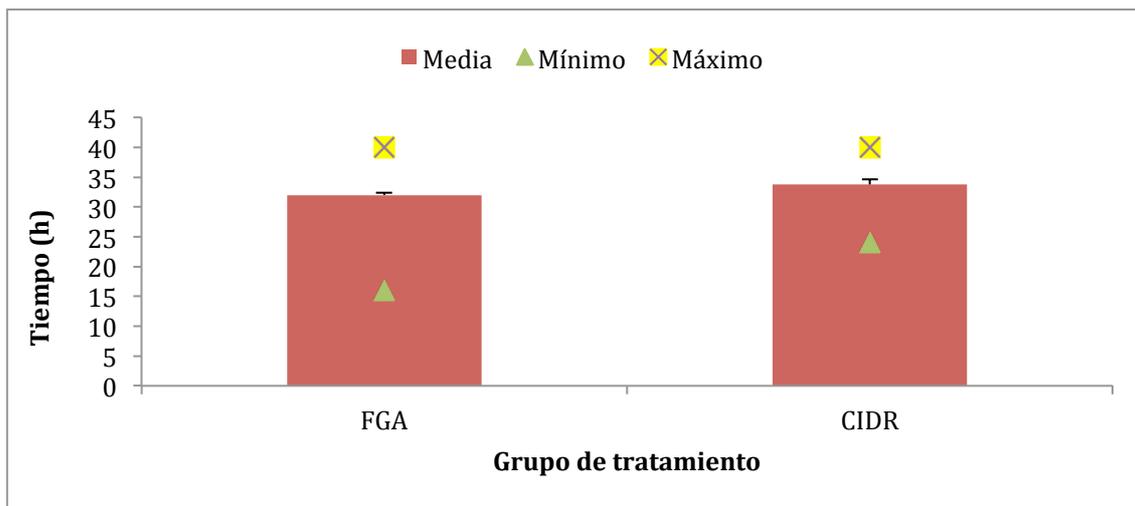


Figura 33. Tiempo medio (en horas) transcurrido entre la retirada de los dispositivos intravaginales y el momento en que salieron en celo las ovejas pertenecientes a los distintos grupos de tratamiento (grupo FGA, grupo CIDR), con los máximos y mínimos observados en cada grupo. Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)

Además, se analizó la agrupación de las hembras que salían en celo según el porcentaje de hembras que en cada observación (cada 4h) mostraba celo, desde la hora 12 tras la retirada del dispositivo, y mediante el cálculo del intervalo de tiempo total que requerían las ovejas para presentar celo. Este intervalo, en el grupo FGA fue de 24h desde la retirada de las esponjas, mientras que en el grupo CIDR las ovejas que mostraron celo salieron en un intervalo de tiempo menor (16h, $P > 0,05$, figura 35).

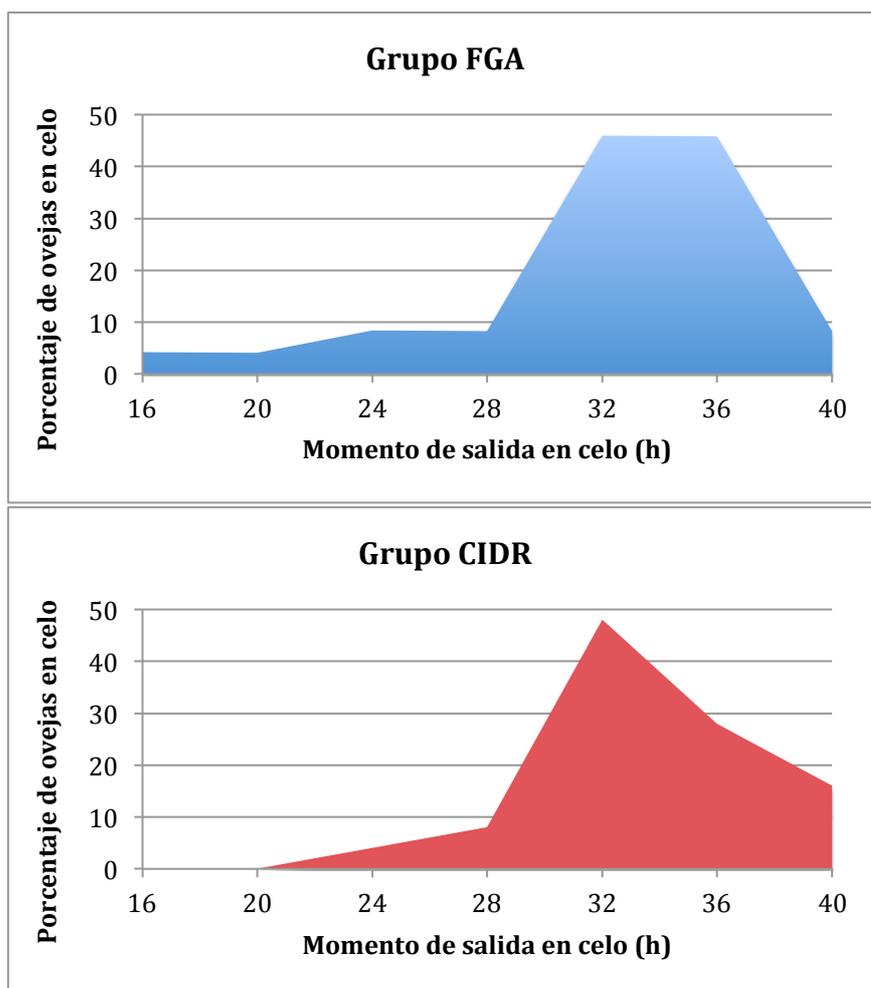


Figura 34. Porcentaje de ovejas de cada grupo que presentaron celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)

La primera oveja, como se ha descrito anteriormente, empezó a mostrar signos de celo a las 16h después de la retirada del tratamiento, y pertenecía al grupo FGA. En la siguiente observación, las ovejas del grupo CIDR seguían sin mostrar signos de celo, mientras que en el grupo FGA otra oveja más lo presentó. Fue en la hora 24 cuando el primer animal del grupo CIDR mostró signos de celo, lo que supuso un 4,0% del total, frente al 16,7% de animales que ya habían mostrado signos de celo en el grupo FGA, pero sin diferencias significativas entre los dos grupos ($P=0,143$).

En la hora 28 los porcentajes de animales en celo en el grupo FGA y CIDR fueron de 25,0% y 12,0%, respectivamente ($P=0,240$), y en la hora 32 la mitad de los animales en ambos grupos habían mostrado celo (54,2% en el grupo FGA y 56,0% en el grupo CIDR; $P=0,897$).

En la hora 36 el porcentaje de ovejas en celo en el grupo FGA ya era del 91,7% y en el grupo CIDR de 84,0% ($P=0,413$), alcanzándose la totalidad de

animales en celo en ambos grupos en la hora 40. Todos estos resultados se resumen gráficamente en la figura 36.

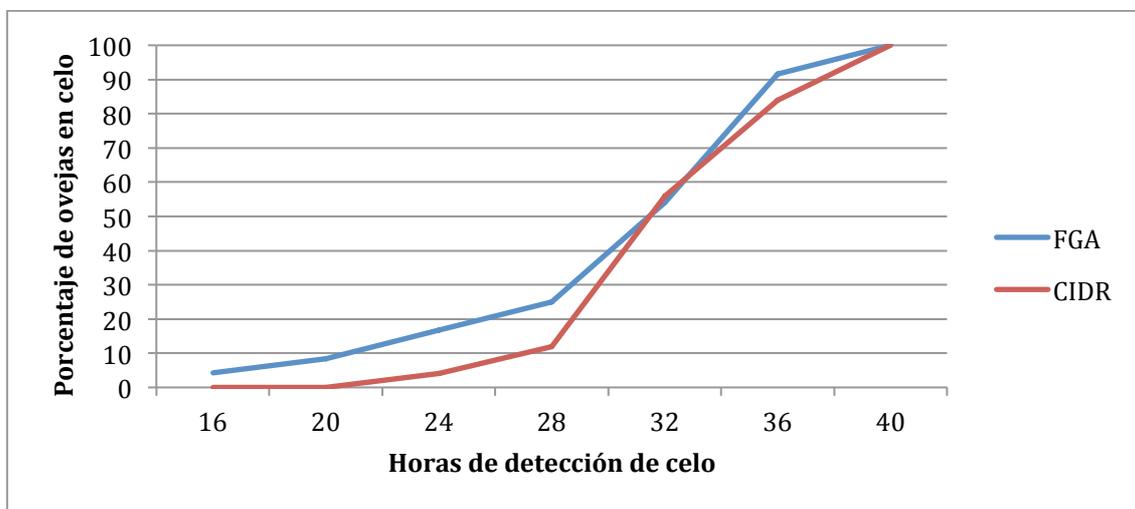


Figura 35. Porcentaje de ovejas de cada grupo que presentaron celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)

Influencia del tipo de tratamiento sobre el momento de aparición del pico de LH y concentración máxima de LH

Los resultados referentes a la funcionalidad hipofisaria mostraron que todos los animales presentaron una descarga preovulatoria de LH posteriormente al inicio del celo, sin diferencias entre grupos en el momento medio de aparición de dicha descarga ($5,12 \pm 2,16$ h en el grupo FGA vs. $5,83 \pm 3,33$ h en el grupo CIDR), con agrupamientos similares, ya que en ambos grupos las primeras descargas preovulatorias se iniciaron a las 4 horas de la salida en celo y el 100% de los animales habían presentado descarga preovulatoria de LH a las 12 (Grupo FGA) o a las 16 horas (Grupo CIDR; Figura 37).

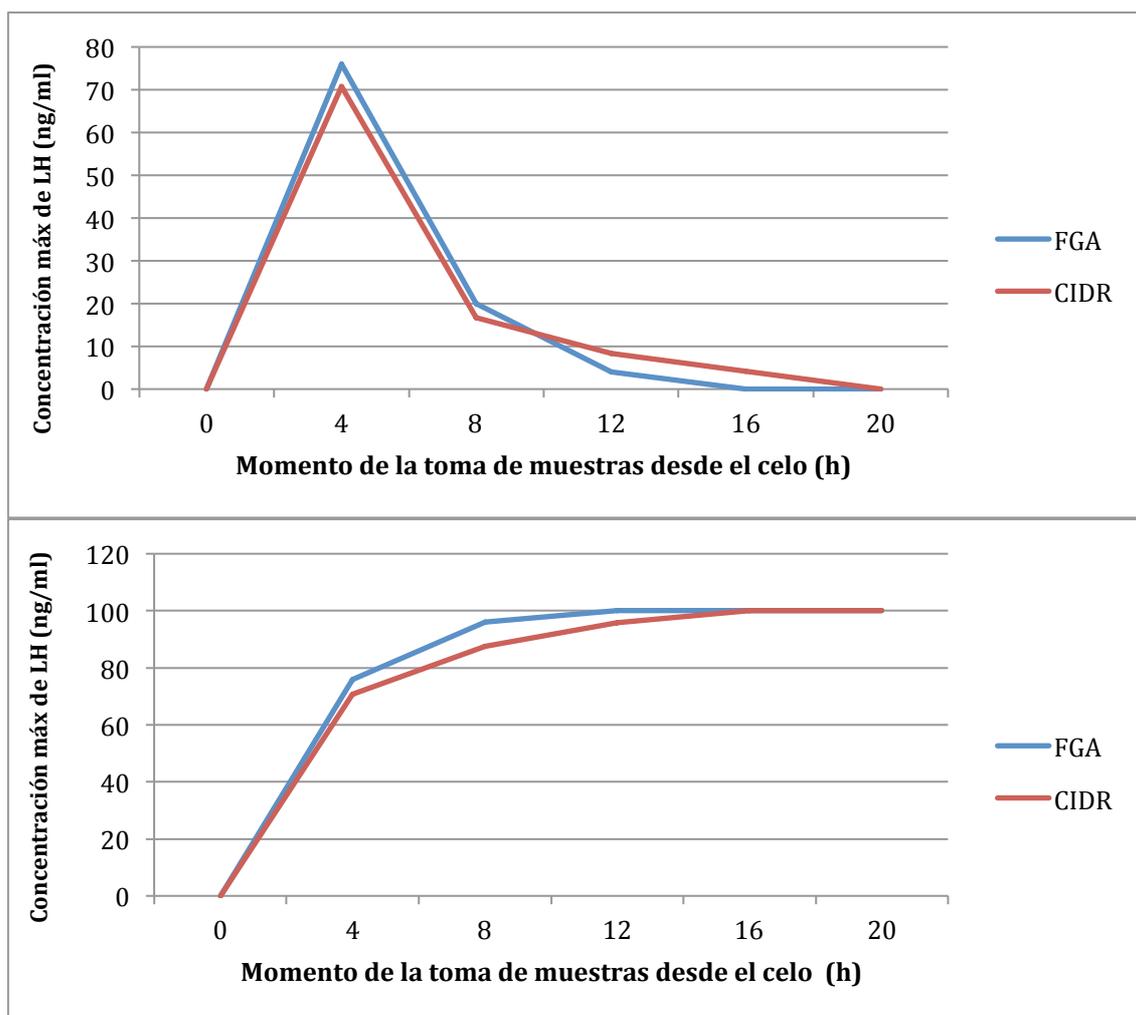


Figura 36. Porcentaje absoluto (superior) y acumulativo (inferior) de ovejas que presentaron descarga proovulatoria de LH (ng/ml) en cada grupo de tratamiento en las horas posteriores a la aparición del celo (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)

Influencia del tipo de tratamiento sobre la liberación de estradiol

Al igual que en la fase experimental 2, se valoró la funcionalidad ovárica durante la fase folicular, mediante la capacidad por parte de los folículos para producir y liberar E2 a sangre circulante. Así pues, los resultados de las muestras obtenidas (en 6 momentos diferentes respecto al momento de retirada de las esponjas) reflejan resultados similares en los dos grupos. En el momento de la retirada del tratamiento intravaginal en el grupo FGA los niveles fueron de $3,20 \pm 2,50$ pg/ml, y en el grupo CIDR de $2,86 \pm 0,72$ pg/ml ($P=0,543$).

Doce horas después aumentaron los niveles de E2 medios en los animales de ambos grupos, pero siendo significativamente más elevados ($P<0,0001$) en el grupo FGA, con unos niveles de $7,83 \pm 4,58$ pg/ml, frente a $3,85 \pm 1,12$ pg/ml en el grupo CIDR.

En el siguiente momento (hora 24) se perdió la significancia estadística ($P=0,131$), siendo los niveles de $6,85 \pm 5,39$ pg/ml en el grupo FGA y de $5,12 \pm 1,54$ pg/ml en el grupo CIDR. En cambio, en la hora 36 las diferencias se volvieron a acercar a la significancia mostrando tendencia estadística ($P=0,085$) con $6,49 \pm 3,99$ pg/ml en el grupo FGA y $4,97 \pm 1,60$ pg/ml en el grupo CIDR, igualándose a las 48h ($4,91 \pm 3,88$ pg/ml grupo FGA y $3,81 \pm 1,13$ pg/ml en grupo CIDR, $P=0,181$) al igual que en la última observación a las 60h ($5,36 \pm 4,36$ pg/ml grupo FGA y $4,11 \pm 1,05$ pg/ml en el grupo CIDR, Figura 38).

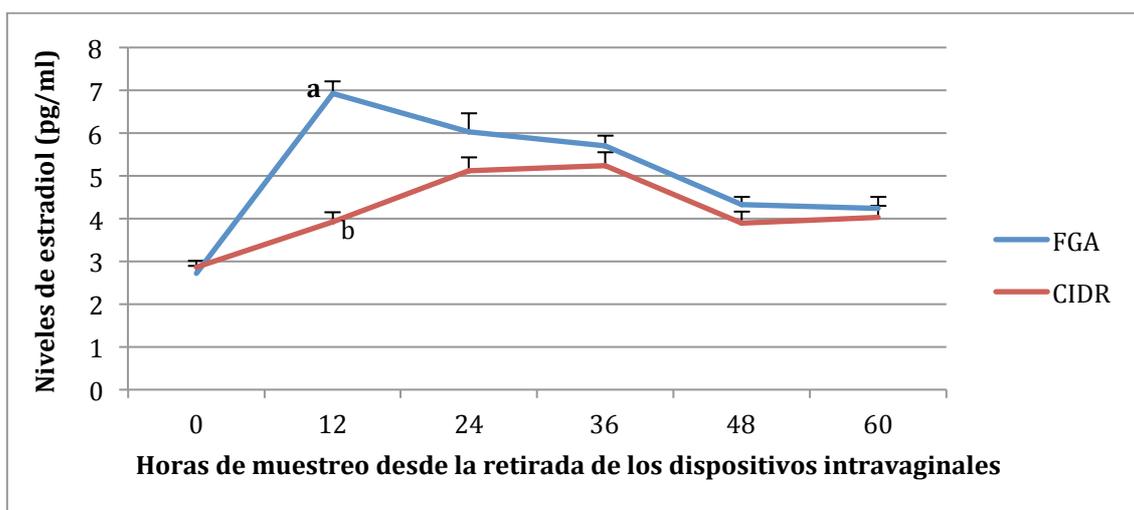


Figura 37. Niveles de estradiol medios (pg/ml) en cada grupo de tratamiento en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada); a y b indican diferencias significativas entre grupos en cada momento de muestreo, con $P<0,0001$

Influencia del tipo de tratamiento sobre la tasa de ovulación y funcionalidad de cuerpos lúteos

En cuanto a las tasas de ovulación determinadas mediante el número de CL en cada ovario, y de liberación de progesterona en la fase luteal, 11 días después de la retirada de los dispositivos intravaginales observamos que la cantidad de cuerpos lúteos medios por oveja no difirió significativamente entre grupos experimentales ($2,21 \pm 1,062$ y $2,00 \pm 1,00$, para los grupos FGA y CIDR, respectivamente; $P=0,483$).

Los niveles de P4 se relacionaron con el número de CL observados, con diferencias significativas entre los dos grupos ($P<0,0001$). El valor más alto lo alcanzó las ovejas del grupo FGA, con unos niveles en plasma de $5,94 \pm 1,42$ ng/ml y en el grupo CIDR, se observaron valores medios de $4,34 \pm 1,96$ ng/ml. Figura 39.

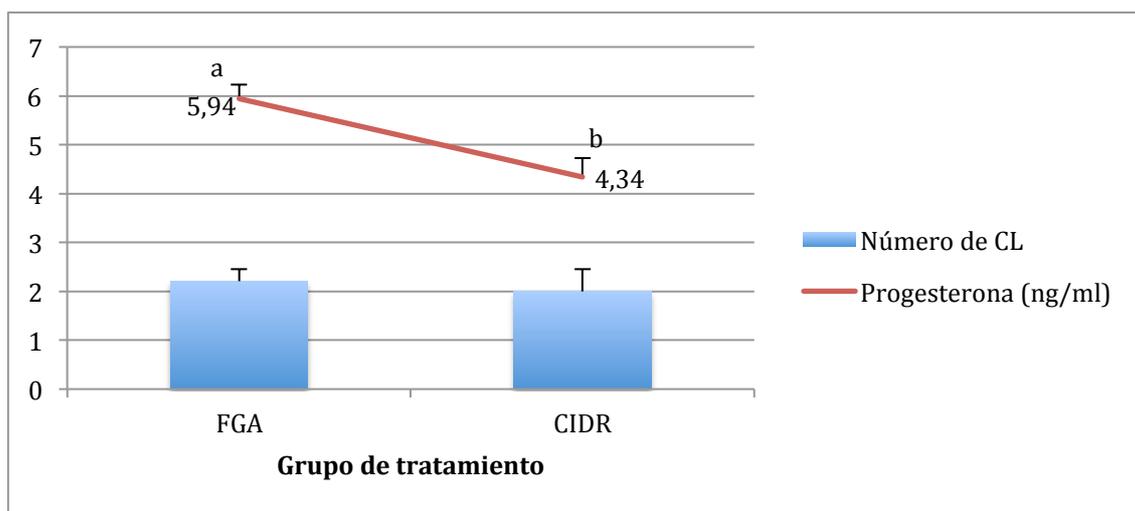


Figura 38. Número de CL y niveles medios de progesterona (ng/ml) en los distintos grupos de tratamiento 11 días después de la retirada de los dispositivos intravaginales. (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada); a y b indican diferencias significativas entre los dos grupos ($P < 0,0001$)

4.4.2 Experimento 4.2 Fotoperiodo decreciente

Este segundo experimento se realizó en época reproductiva sobre los mismos 49 animales, pero en esta prueba, las 25 ovejas que habían formado parte del grupo CIDR en la prueba anterior pasaron al grupo FGA y las otras 24 se incluyeron en el grupo CIDR.

Influencia del tipo de tratamiento sobre el porcentaje de presentación de celo, momento de aparición del celo y agrupación de los celos

Al igual que en el experimento anterior, comprobamos que no existió diferencia entre ambos grupos en los factores de confusión condición corporal, donde las medias y la desviaciones típicas fueron $3,77 \pm 0,33$ en el caso del grupo FGA y $3,89 \pm 0,20$ en el grupo CIDR ($P=0,125$). La edad media fue también similar en ambos grupos siendo la media en el grupo FGA de $3,50 \pm 1,40$ años y en el grupo CIDR de $3,45 \pm 0,84$ años ($P=0,901$).

La respuesta global al tratamiento expresada como presentación de celo en los animales en las 72h siguientes a la retirada de los dispositivos fue del 88,0% en el grupo FGA y del 79,20% en el grupo CIDR, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P=0,403$).

El tiempo (T) medio de salida en celo en el grupo FGA fue de $38,18 \pm 9,46$ h, no existiendo diferencias significativas con el grupo CIDR, donde las ovejas tardaron en salir en celo, de media, $33,89 \pm 15,62$ h ($P=0,287$). En este fotoperiodo decreciente, a diferencia de lo que ocurría en el anterior, fue el grupo CIDR el grupo en que los animales empezaron antes a mostrar el celo, siendo el mínimo momento el de la hora 12. En el grupo FGA el primer animal que mostró celo fue a las 20h. El máximo fue de 72h para los dos grupos (figura 40).

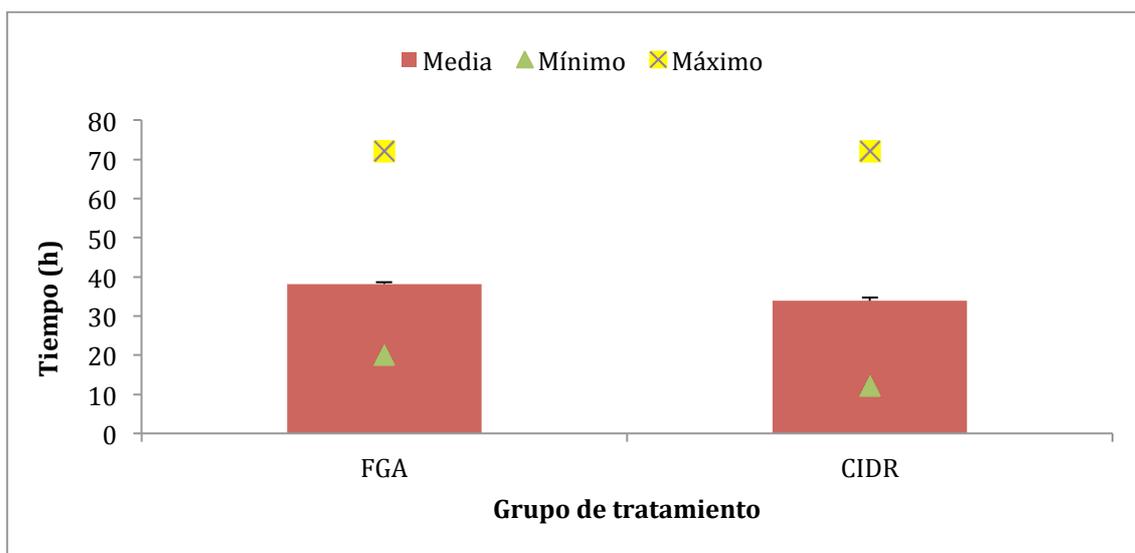


Figura 39. Tiempo medio transcurrido entre la retirada de los dispositivos intravaginales y el momento de presentación de celo en ovejas pertenecientes a los distintos grupos experimentales (grupo FGA, grupo CIDR), con los máximos y mínimos observados en cada grupo (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)

En lo que respecta al análisis de la agrupación de los animales para presentar celo, a diferencia del fotoperiodo creciente, las ovejas del grupo FGA requirieron 40h para salir en celo durante el fotoperiodo decreciente, mientras que los animales del grupo CIDR fueron saliendo en celo en un intervalo de 60h ($P>0,05$; Figura 41).

La descripción de las ovejas que salían en celo a cada momento de observación (cada 4 h a partir de las 12 h tras la retirada de los dispositivos), se recoge en la figura 42. En resumen, a las 12h salió en celo la primera oveja, perteneciente al grupo CIDR y hasta la hora 20 no hubo más animales que mostrasen celo (siendo ésta nueva oveja del grupo FGA), alcanzando en este momento el grupo CIDR un 15,8% de los animales. En la hora 24, había más porcentaje de ovejas en celo en el grupo CIDR (31,6%), frente a un 9,1% de ovejas que lo habían mostrado en el grupo FGA ($P=0,70$). En la hora 28 estas diferencias ya se hicieron significativas ($P=0,002$), con un 52,6% de ovejas en celo en el grupo CIDR y solamente un 9,1% en el grupo FGA. En la hora 32 seguía habiendo más ovejas en celo en el grupo CIDR (68,4%) que en el grupo FGA (31,8%; $P=0,019$). En las hora 36 el grupo FGA alcanzó un 54,5% de ovejas en celo, desapareciendo la significancia estadística de la diferencia entre grupos ($P=0,205$). En la hora 40 la diferencia entre ambos grupos se fue reduciendo (77,3% vs. 78,9%; $P=0,897$).

Estos porcentajes siguieron aumentando en la hora 44, donde el grupo FGA ya presentó un 86,4% de ovejas en celo frente al grupo CIDR (84,2%; $P=0,846$). Este porcentaje en el grupo CIDR se mantuvo estable en la siguiente observación (hora 48) y aumentó a un 90,9% en el grupo FGA ($P=0,513$). En la hora 52 fue el

grupo CIDR donde aparecieron más ovejas en celo (89,5%), manteniéndose estable el grupo FGA ($P=0,877$) y no fue hasta la hora 60 cuando volvieron a salir más animales en celo, alcanzando el grupo FGA la totalidad de las ovejas en celo (100% vs. 89,5%; $P=0,119$). Esta diferencia se redujo en la hora 68 ($P=0,276$), donde el grupo CIDR alcanzó el 94,7%, para lograr el 100% de ovejas en celo en la hora 72.

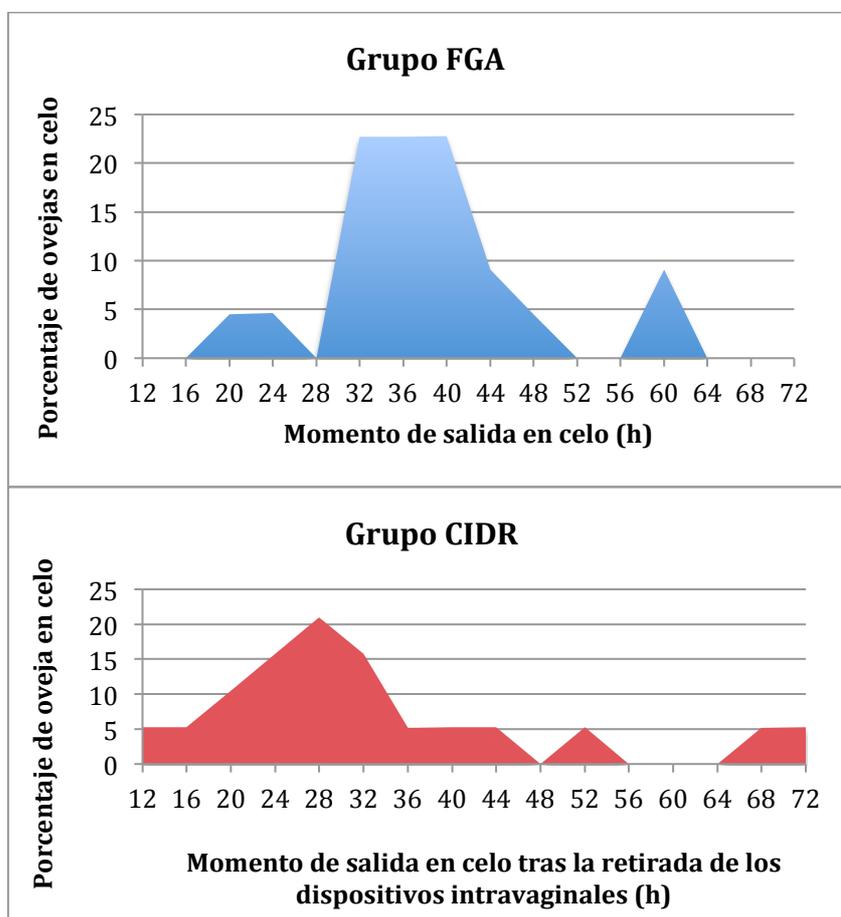


Figura 40. Porcentaje de ovejas de cada grupo que mostró celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada)

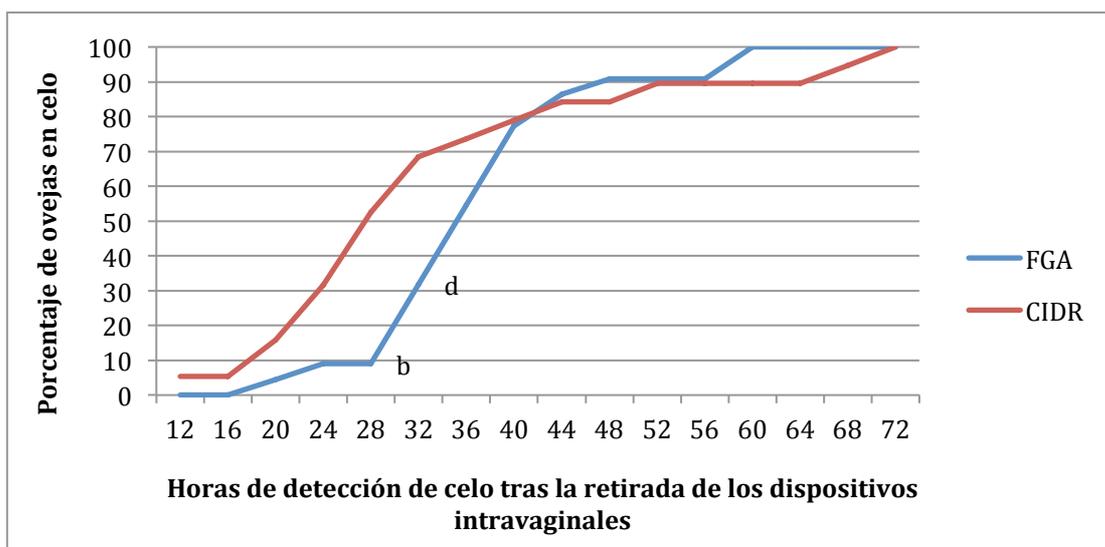


Figura 41. Porcentaje de ovejas de cada grupo que mostró celo en las horas posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales (Grupo FGA: tratamiento de 7 días con esponjas de FGA+ eCG + PGF_{2α} a la retirada, Grupo CIDR: tratamiento de 7 días con dispositivo de progesterona+ eCG + PGF_{2α} a la retirada); a y b indican diferencias significativas entre los dos grupos con $P=0,002$; c y d indican diferencias significativas entre los dos grupos con $P=0,019$

Influencia del fotoperiodo sobre el porcentaje de presentación de celo, momento de aparición del celo y agrupación de los celos

Al analizar la influencia del fotoperiodo en la respuesta al tratamiento y en el tiempo transcurrido desde la finalización y la presentación del celo en los distintos grupos, se observó que el fotoperiodo, en esta fase experimental, sí afectó significativamente al tiempo que tardaban las ovejas en salir en celo ($32,90 \pm 5,11$ h en fotoperiodo creciente frente a $36,20 \pm 12,71$ h en fotoperiodo decreciente, con $P=0,1$), así como al porcentaje total de hembras que respondieron al tratamiento (100% en fotoperiodo creciente frente a 84% en fotoperiodo decreciente, con $P=0,003$).

De la misma manera, se observó una interacción estadísticamente significativa fotoperiodo-tratamiento, de manera que en los tratamientos con FGA la diferencia de salida en celo fue significativa (88 vs. 100%; para el fotoperiodo decreciente y creciente, respectivamente; $P<0,001$): El tiempo medio en horas para salir en celo no difirió entre fotoperiodos en este grupo de tratamiento ($P=0,134$).

En el grupo CIDR ambas variables difirieron según fotoperiodo de manera estadísticamente significativa ($P<0,0001$ para ambos), con un 79 vs. 100% de porcentaje de salida en celo y $33,89 \pm 15,62$ h vs. $33,76 \pm 4,013$ h, para el fotoperiodo decreciente y creciente, respectivamente.

DISCUSIÓN

5 Discusión

5.1 Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos e influencia de la época reproductiva y de la raza ovina

En esta primera fase experimental evaluamos el efecto de la reducción en el tiempo de tratamiento con progestágenos, concretamente, de 14 a 7 días, y además evaluamos las posibles diferencias debidas al fotoperiodo y a la raza. El estudio se hizo en forma de réplicas, una durante el fotoperiodo decreciente (experimento 1.1) y otra durante el fotoperiodo creciente (experimento 1.2), analizándose todo por separado, y a continuación agrupando las variables que así lo permitían.

La reducción general del uso de hormonas en producción animal es una tendencia clara en todo el mundo, y en especial en Europa (Abecia *et al.*, 2012). Por otro lado, el bienestar animal es cada vez más un objetivo primordial en las explotaciones animales, ya no sólo desde el punto de vista del cumplimiento de la legislación², sino como medio para alcanzar la optimización de la eficiencia productiva, y por la inquietud y exigencia de los consumidores (Martin *et al.*, 2004). Ligado a este ámbito debemos comentar que uno de los efectos secundarios más habituales tras la aplicación de las esponjas vaginales en el ovino, es la inducción de vaginitis. En muchos casos, al extraer las esponjas se verifica un alto porcentaje de éstas con restos hemorrágicos y/o de exudado purulento indicadores de esta patología, que puede llegar al 70% (Swelum *et al.*, 2015; Manes *et al.*, 2016). Además, sabemos que la vaginitis es un proceso ligado, cuanto menos, a la incomodidad de los animales o “discomfort”; (Martin & Kadokawa, 2006), y en algunos casos también se han descrito pérdidas de eficiencia reproductiva en el ganado ovino por esta razón (Manes *et al.*, 2016). Por lo tanto, el acortamiento del protocolo de sincronización en base a dispositivos vaginales, estará ligado a beneficios inmediatos como consecuencia de la reducción de la incidencia de vaginitis inducida por el dispositivo *per se*, aparte de los que pueda haber en cuanto a la eficiencia reproductiva, específicamente. Finalmente, es importante comentar que la duración del tratamiento de sincronización implica un trastorno en el manejo de los animales fundamentalmente en sistemas de explotación en extensivo y/o semiextensivo con pastoreo (Delgadillo & Martin, 2015). La reducción de los días de tratamiento y la flexibilidad que esta reducción implica se traduce en una mayor facilidad de manejo, lo que, en producción animal, siempre se traduce en mayor eficiencia productiva. Por lo tanto, éstos son todos

² COMMISSION REGULATION (EC) No 1911/2005 of 23 November 2005

argumentos para considerar especialmente interesante profundizar en el conocimiento de los denominados “tratamientos cortos”.

Desde el punto de vista fisiológico, sería esperable que una reducción en la duración del tratamiento con progestágenos atenuara la caída en los niveles plasmáticos de progesterona sistémicos, con lo que se evitaría la producción de folículos envejecidos (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005), lo que implicaría, a su vez, una mejora en la fertilidad tras los tratamientos cortos. Hasta ahora, según bibliografía, el acortamiento planteado en los tratamientos de sincronización de celos basados en los dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos oscila en tratamientos de 5, 6, 7 ó 9 días respecto de los tratamientos clásicos de 14 días (Ungerfeld & Rubianes, 2002; Letelier *et al.*, 2009; Martemucci & D'Alessandro, 2011; Ozyurtlu *et al.*, 2011).

La aplicación menos prolongada de los dispositivos vaginales debe incluir la aplicación de prostaglandinas, ya que un intervalo de aplicación de 6-7 días es menor que la duración de la vida media de un cuerpo lúteo (Acritopoulou & Haresign, 1980). Los primeros protocolos cortos descritos incluyen la aplicación de la prostaglandina simultáneamente a la inserción del dispositivo, aunque, también se puede aplicar a su retirada (Titi *et al.*, 2010; Martemucci & D'Alessandro, 2011), habiendo disparidad de evidencias científicas en la bibliografía revisada en cuanto a los resultados obtenidos. Por ello, ésta es la variación de tratamiento corto incluida en el presente trabajo donde denominamos como grupo “Corto-PG” y “PG-Corto”, según se aplicara la PGF_{2α} al principio o al final del protocolo de sincronización.

Por otro lado, en la especie ovina, sabemos que hay muchos factores que influyen de manera determinante en la eficiencia reproductiva de los animales, como la estación en la que se aplique el tratamiento (Martinez-Tinajero *et al.*, 2011), factor que se debe controlar a la hora de diseñar estudios. El fotoperiodo, componente esencial en la estacionalidad, es un factor determinante en la eficiencia reproductiva de los pequeños rumiantes que ha sido ampliamente estudiado (Karsch *et al.*, 1980; Kennaway *et al.*, 1983; Robinson & Karsch, 1987). Así que fue el primer factor a controlar en este trabajo, planteándose los experimentos en fotoperiodos separados, y sólo en el caso de que los resultados estadísticos y los criterios metodológicos y fisiológicos lo permitieran, se agregaron grupos experimentales para un estudio conjunto.

En el caso de la variable “porcentaje de gestación” y considerando la fertilidad global de los animales incluidos en este estudio, tan sólo observamos una diferencia numérica ($P=0,184$) en las diferentes estaciones reproductivas y fue en favor del fotoperiodo decreciente (82,2% vs. 73,7%). Esta “reducida estacionalidad” ya ha sido observada por otros autores en el caso de las latitudes en las que se ha efectuado el experimento (latitud 40,70°) o en ovejas que habitan

más cerca del ecuador (Folch & Alabart, 2000). En el caso de países de la cuenca del Mediterráneo la duración del anestro estacional es mucho menor, variando de 51 a 131 días (Tabla 10), por lo que la variación de tasas de gestación en una estación respecto a otra varía también en menor medida.

Tabla 10. Duración del anestro en distintas razas ovinas pertenecientes a países de la Cuenca del Mediterráneo

Especie	Duración del anestro	Referencia
Préalpes du Sud	131	(Thimonier & Mauleon, 1969)
Rasa Aragonesa	91	(Abecia, 1992)
Chios	101	(Avdi <i>et al.</i> , 1988)
Barbarina	123	(Khaldi, 1984)
Tadmit	51	(Ammar-Khodja & Brudieux, 1982)

El efecto de la raza sobre el porcentaje de gestación ha sido demostrado en otros trabajos. También se ha demostrado en otros trabajos un efecto de la raza sobre el porcentaje de gestación. Sin embargo, este efecto no puede, ni debe, considerarse por separado de la latitud geográfica, ya que en un alto porcentaje, la producción ovina se realiza con razas autóctonas adaptadas a un medio determinado (López-Sebastián *et al.*, 1993). En un estudio comparativo de la duración del anestro estacional realizado por López Sebastián a finales de la década de los 80 se puede apreciar cómo las ovejas de raza islándica, o el grupo racial “black face” en Escocia, presentan una época de reproducción que abarca tan sólo de noviembre a marzo, mientras que en las condiciones más meridionales, las ovejas de raza yankasa de Nigeria o las peulh de Níger, no parecen presentar variaciones de la actividad ovárica a lo largo del año (López Sebastián, 1989). En el caso de España, las ovejas tienen actividad cíclica desde junio-julio hasta mediados de febrero. De hecho, según Alonso de Miguel (1980), más del 50 por ciento de las ovejas pertenecientes a la raza rasa aragonesa presentan una ciclicidad ovárica durante la primavera (Alonso de Miguel & Cognié, 1980). También la raza lacaune, la romanov, y los cruces de éstas, que son las razas predominantes en el presente estudio son animales poco estacionales, con una duración de la época reproductiva que comprende desde principios de julio hasta la primera mitad de febrero, tal y como demuestran los estudios realizados por Robic y colaboradores en 1992, con ovejas romanov y Fleisch y colaboradores, en 2015, con ovejas lacaune (Robic *et al.*, 1992; Fleisch *et al.*, 2015). De hecho, en esta primera fase experimental, que se realizó en una explotación comercial incluyendo diferentes razas y cruces industriales F1 realizados en la misma explotación que reportan mayores

resultados productivos y con unas tasas de gestación en general óptimas, tal y como describe Owen (1987) no observamos diferencias raciales en los porcentajes de gestación (Owen, 1987). En otros trabajos, tampoco se observan diferencias entre razas como la suffolk, la merina, la caussenarde, la limousine y algunos de sus cruces (Haresign *et al.*, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Staples *et al.*, 1992). En realidad, otros factores tales como la condición corporal (Forcada *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 2005; Sosa *et al.*, 2010), el nivel higiénico-sanitario (Fragkou *et al.*, 2010), el manejo reproductivo (Anel *et al.*, 2005) o incluso el estrés térmico (Ortavant & Loir, 1978; Sawyer, 1983) parecen ser mucho más determinantes en las tasas de gestación tras protocolos de sincronización, que la raza misma.

Sin embargo, al evaluar la prolificidad, la diferencia entre razas sí fue significativa en nuestro trabajo ($P=0.050$), siendo la raza segureña la de menor prolificidad, en comparación con la lacaune, que resultó ser la más prolífica. Estos resultados son semejantes también a los publicados por otros autores que han trabajado con estas razas y cruces raciales (Sierra, 1986; Sierra, 1989; Perret *et al.*, 1995). Al ser la raza un factor influyente en la prolificidad, el factor se controló distribuyendo de manera homogénea las razas en todos los grupos experimentales tal y como queda reflejado en el apartado de material y métodos. Debido a todo esto es importante, en la medida de lo posible, incluir razas determinadas en los estudios científicos, sobre todo cuando éstas son relevantes en sistemas productivos de determinadas regiones (López-Sebastián *et al.*, 1993), y además, es muy importante, asegurar una homogeneidad de razas en los grupos experimentales a comparar, tal y como ha sido el caso en el presente estudio.

Finalmente, otro factor que influye de manera determinante en la eficiencia reproductiva del ovino es la edad, el sistema de manejo y muy ligada a éste, la condición corporal (Downing & Scaramuzzi, 1991; Forcada *et al.*, 1992; Vinales *et al.*, 2005; Moeini *et al.*, 2009; Yadi *et al.*, 2011). Por esta razón se comprobó que tanto el estado corporal medio, como la edad media de los animales dentro de los grupos experimentales en cada comparativa fuera homogéneo entre grupos experimentales en cada réplica.

Una vez controlados todos los posibles factores de confusión pudimos comprobar el efecto en el porcentaje de gestación y prolificidad del acortamiento del protocolo de sincronización con progestágenos intravaginales (tratamiento largo frente a tratamientos cortos), previamente descritos en la literatura (Ungerfeld & Rubianes, 1999; Knights *et al.*, 2001; Letelier *et al.*, 2009). Nuestros resultados durante el fotoperiodo decreciente (experimento 1.1) no muestran diferencias significativas en el porcentaje de respuesta al tratamiento de sincronización por el hecho de reducir el tiempo de mantenimiento de los dispositivos intravaginales a 7 días respecto a 14. El porcentaje de gestación fue similar para el grupo Control o de tratamiento "largo" (78,3%) y para los grupos

con tratamiento corto de progestágenos independientemente del momento en el que se administra la prostaglandina grupo PG-Corto: 79,6% y grupo Corto-PG: 76,9% $P=0.996$).

El experimento 1.2 se realizó en fotoperiodo creciente o fase de anestro reproductivo. Las tasas de gestación no difirieron tampoco estadísticamente entre el grupo de tratamiento “largo” (grupo Control; 80%) y los grupos con tratamientos cortos PG-Corto: 79,2% y grupo Corto-PG: 59,1% $P=0,182$). A pesar de que las diferencias no alcanzaron significancia estadística, es cierto que numérica y clínicamente sí las podemos considerar relevantes, ya que diferencias de 30 puntos de porcentaje de gestación suponen una diferencia productiva sustancial; conseguir un mayor número de partos por oveja es básico para mejorar los resultados económicos, siendo el incremento de los ingresos por venta de corderos capaz de compensar los mayores costes, sobre todo de alimentación, que supone la intensificación reproductiva. De hecho, según Pardos (2007) las explotaciones capaces de conseguir más de 1,2 partos por hembra presente y año tienen márgenes brutos por oveja superiores a 25,00 € (Pardos & Fantova, 2007). Sin embargo, hay otros trabajos que también reportan diferencias numéricas en tasas de gestación de 30 puntos tras la aplicación de diferentes protocolos de sincronización, sin ser éstas estadísticamente significativas (60% en tratamientos largos vs. 86,7% y 92,3% con $\text{PGF}_{2\alpha}$ al inicio y al final respectivamente, $P>0,05$) (Martemucci & D'Alessandro, 2011). Además, en nuestro trabajo observamos que la diferencia en el porcentaje de gestación en este protocolo Corto-PG entre fotoperiodo decreciente y creciente sí era estadísticamente significativo indicando una interacción significativa fotoperiodo-tratamiento de sincronización, de manera que durante el fotoperiodo decreciente, el porcentaje de gestación fue del 90% (27/30) mientras que en el fotoperiodo creciente resultó ser del 59,1% (13/22), lo que sí resultó significativo ($P=0,009$). Es sorprendente que en el fotoperiodo creciente o en contraestación, cuando precisamente no se observan cuerpos lúteos por el anestro estacional de los animales (Hansel & Convey, 1983a), fuera donde un tratamiento corto con inclusión de prostaglandina funcionara peor. Una posible explicación es que realmente sí se mantuviera un gran porcentaje de animales en estro, por la poca estacionalidad ya previamente comentada de las razas incluidas (Daza & Blanco, 1990), y dado que la CC era óptima, tampoco se veía agravado el anestro estacional (Sosa *et al.*, 2010). Asumiendo que sí hubiera CL al principio del tratamiento, está demostrado que altos niveles de P4 durante la fase folicular acarrea efectos negativos sobre el folículo dominante (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005), lo que podría explicar estas diferencias entre tratamientos. Sin embargo, sería de esperar este mismo efecto también durante el fotoperiodo decreciente, en donde podemos contar de manera segura con CLs en los ovarios, y es un efecto que no hemos observado, al igual que en otros trabajos, que no observaron una bajada de fertilidad tras los tratamientos cortos con prostaglandina al principio y al final

(Moradi Kor *et al.*, 2012). Por lo tanto, es un resultado pendiente de investigar más a fondo, atendiendo a detalles fisiológicos y de dinámica folicular.

Los resultados generales obtenidos en nuestro estudio respecto a los porcentajes de gestación, coinciden con lo reportado por Martemucci y D'Alessandro (2011) en la raza italiana altamura. Estos investigadores no observaron diferencias significativas al comparar un tratamiento de 14 días con esponjas impregnadas con FGA con un tratamiento corto de esponjas durante 5 días con PGF_{2α} al inicio o al final del mismo (Martemucci & D'Alessandro, 2011). El porcentaje de gestación observado no fue diferente entre el grupo largo (60%) y cualquiera de los cortos (86,7% y 92,3% con PGF_{2α} al inicio y al final respectivamente, $P>0,05$). Del mismo modo, Ungerfeld y Rubianes (1999) tampoco observaron diferencias significativas ($P>0,05$) en los porcentajes de gestación observados en tres grupos de ovejas a las que se les administró tres tratamientos de progestágenos combinados con eCG (Ungerfeld & Rubianes, 1999). A los tres grupos se les insertaron esponjas intravaginales impregnadas en MPA durante 6, 9 ó 13 días, con administración de eCG a la retirada, obteniendo porcentajes de gestación de 66,7%, 75,0% y 63,0%, respectivamente. Los resultados obtenidos en el presente trabajo son igualmente comparables a los observados en cabras por Pietroski *et al.* (2013), que midieron el porcentaje de gestación en tres grupos distintos de animales tratados con esponjas impregnadas en MAP insertadas intravaginalmente durante 6, 9 ó 12 días, obteniendo exactamente el mismo porcentaje de gestación en los grupos tratados a 6 y 9 días (60,0%) y mayor en el grupo tratado a 12 días (66,7%), pero sin diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) (Pietroski *et al.*, 2013). Las diferencias específicas en los porcentajes de gestación concretos entre los que reportan estos autores y las de nuestro trabajo se podrían explicar por el componente racial y la diferente región geográfica.

La prolificidad, otro índice reproductivo esencial en la eficiencia reproductiva del ovino, evaluada en cada fotoperiodo fue también similar entre los grupos experimentales en ambas estaciones. En el fotoperiodo decreciente en el grupo de tratamiento largo se obtuvieron $2,51\pm 1,057$ corderos nacidos/oveja respecto de los grupos de tratamientos cortos (PG-Corto; $2,76\pm 1,052$ y Corto-PG $2,96\pm 1,067$ corderos/oveja parida; $P=0,929$). En el fotoperiodo creciente los resultados fueron $2,41\pm 1,100$ corderos nacidos/oveja para el grupo de tratamiento largo, con respecto a los grupos de tratamientos cortos (PG-Corto; $2,53\pm 1,124$ y Corto-PG $2,15\pm 1,144$ corderos/oveja parida; $P=0,904$). En otros trabajos tampoco se vio influenciada la prolificidad en función del tipo de tratamientos, ya fueran tratamientos largos o cortos de sincronización, tal y como recogen los autores Martemucci y D'Alessandro (2011), donde obtuvieron tasas de prolificidad de 1,55 corderos/parto con un tratamiento de 14 días con esponjas impregnadas en FGA, 1,46 corderos/parto y 1,66 corderos/parto con dos tratamiento de 5 días con

esponjas y PGF_{2α} al final y al inicio del mismo, respectivamente (Martemucci & D'Alessandro, 2011). Estos mismos tipos de tratamiento con esponjas impregnadas en FGA a 14 días respecto de otros con 5 días con PGF_{2α} al final y al inicio los compararon Moradi Kor y colaboradores en 2012 sin observar diferencias significativas entre los porcentajes de gestación (62,5%, 87,5% y 93,3%, respectivamente) ni en la prolificidad (1,55, 1,46 y 1,61 corderos/parto, respectivamente) (Moradi Kor *et al.*, 2012). De hecho, como ya comentamos previamente, la raza es uno de los factores más determinantes de la prolificidad en el ovino (Abdoli *et al.*, 2016; McNatty *et al.*, 2016) y no tanto así el protocolo de sincronización utilizado.

Si bien es cierto que una posible limitación de nuestro trabajo en esta fase experimental a la hora de valorar el porcentaje de gestación, pudiera ser el tamaño muestral utilizado, algo limitado como para detectar estadísticamente una diferencia en porcentaje de gestación, pero que sí pudiera ser achacable a los tratamientos. Sin embargo, es de reseñar, que numéricamente, el porcentaje de animales gestantes fue el mismo, 78,3% (47/60), en el caso del tratamiento largo, respecto de un 78,3% (83/106) en el grupo de los tratamientos cortos y que, por otro lado, los porcentajes medios de gestación son semejantes a los otros trabajos previamente citados.

En definitiva, no observamos diferencias en el porcentaje de gestación ni en la prolificidad según el tratamiento de sincronización hormonal utilizado en un sistema productivo ovino español con razas autóctonas, foráneas y cruces industriales de las mismas, por lo que podemos concluir que los tratamientos cortos se pueden considerar como elegibles en estas explotaciones ganaderas en nuestras latitudes, ya que suman las ventajas de la reducción del tratamiento hormonal (menos tiempo recibiendo progestágenos) y de una mejora de bienestar animal (reducción del porcentaje de vaginitis asociadas a la presencia de la esponja en la vagina de los animales), tal y como refieren Swelum y colaboradores (2015), Manes y colaboradores (2016) y Martin y Kadokawa (2006).

Una vez comprobado este resultado global de gestación y prolificidad, quisimos profundizar más en la fisiología que sustenta estos resultados, no descrita ya en tantos trabajos. Así pues, para recabar información más específica en cuanto al efecto de estos tratamientos cortos sobre la dinámica folicular, funcionalidad hipofisaria y la fase luteal posterior, se planteó la siguiente fase experimental del trabajo.

5.2 Efecto de la duración del tratamiento de sincronización de celos con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas, en fotoperiodo decreciente

En esta fase se compararon los mismos métodos de sincronización de celos que en la fase experimental 1 pero con un objetivo diferente que fue el profundizar en aspectos más fisiológicos referentes a la funcionalidad ovárica, hipofisaria y respuesta al tratamiento de sincronización tras la implementación de los distintos protocolos hormonales. Así, nos centramos exclusivamente en la época reproductiva favorable (fotoperiodo decreciente). Los factores edad y condición corporal se controlaron presentando éstos una distribución homogénea entre grupos experimentales.

Los resultados nos muestran que si bien, no hubo diferencias significativas en la respuesta al tratamiento de sincronización en lo que se refiere al porcentaje de animales que salieron en celo en las primeras 72h tras la retirada del dispositivo vaginal, observándose los porcentajes del 100% (9/9), vs. 63,6% (7/11) vs. 90,0% (10/11) para el grupo Control o largo, frente a los grupos de tratamiento cortos (PG-Corto y Corto-PG, respectivamente), realmente, la relevancia clínica y en producción de casi 30 puntos entre el tratamiento PG-Corto y los otros dos (Control y Corto-PG) sí lo consideramos importantes. De hecho, la diferencia entre los dos tratamientos cortos mostró una tendencia estadísticamente significativa ($P=0,065$). El tiempo medio de salida en celo medido en horas sí fue semejante entre los grupos (35,1h vs. 43,4h y 48h tras la retirada de los dispositivos vaginales).

En otros estudios publicados, como el de Viñoles y colaboradores (1999) donde se comparaban tratamientos en ovejas de razas tropicales con esponjas impregnadas en MPA y eCG a la retirada durante 12 y 6 días tampoco se observaron diferencias significativas a favor de ninguno de los tratamientos, con porcentajes de gestación del 67 y 58%, respectivamente (Viñoles *et al.*, 1999). Sin embargo, los resultados de respuesta al tratamiento fueron en general inferiores a los obtenidos en este trabajo, sobre todo, si los comparamos con nuestro grupo Control o el grupo Corto-PG y comparables a lo observado en nuestro grupo PG-Corto, aunque en el presente estudio no reflejábamos porcentaje de gestación sino de salida en celo. Estas diferencias pueden deberse a la raza y las diferentes condiciones de manejo entre los distintos sistemas.

Del mismo modo Ungerfeld y Rubianes (2002) establecieron que, en términos de fertilidad, el tratamiento corto de 6 días de esponjas impregnadas en MPA o FGA es tan efectivo como el tratamiento de 14 días, y sugieren que esta

flexibilidad puede resultar ventajosa en condiciones de campo, especialmente en sistemas extensivos o semiextensivos de ovino (Ungerfeld & Rubianes, 2002). Por el contrario, otro estudio realizado en ovejas observó diferencias significativas entre un tratamiento largo de 14 días y uno corto de 7 días con esponjas impregnadas en FGA. Este experimento se desarrolló al inicio de la estación reproductiva, en una latitud similar a la nuestra (40°N) y en ovejas de razas locales turcas, observando que un 94,6% de las mismas que habían sido tratadas con el protocolo largo salieron en celo, frente a un 81,1% de las que habían recibido un tratamiento corto (Koyuncu & Altıncekic, 2016). Se sabe que la fisiología ovárica puede variar entre razas, pero hay otros muchos factores que son determinantes, como la estación en la que se aplique el tratamiento y el tipo de progesterona utilizada, así como la forma de administración (Martinez-Tinajero *et al.*, 2011), el uso de eCG y el momento de administración (Gungor *et al.*, 2007), la presencia de machos o no en el rebaño en el momento de la retirada de los dispositivos (Moeini *et al.*, 2009), la condición corporal, el sistema de manejo (Yadi *et al.*, 2011) y la latitud (Martinez-Tinajero *et al.*, 2011). Muchos de estos factores resultan muy diferentes en los estudios respecto del descrito en esta tesis doctoral, lo que limita las comparaciones entre unos y otros estudios.

En ovejas de raza awassi hay trabajos que reflejan una peor respuesta en tratamientos cortos frente a los largos. Ustuner y colaboradores obtuvieron en 2007 diferencias en relación a los tratamientos largos (12 días) y cortos (6 días) en hembras tratadas con esponjas impregnadas en FGA, donde apreciaron un 100% y un 77,1% de respuesta al tratamiento determinada mediante el porcentaje de animales en celo ($P < 0,05$) (Ustuner *et al.*, 2007). En cambio, Ozyurtlu y colaboradores no observaron diferencias significativas entre dos grupos de hembras tratadas con esponjas impregnadas en FGA e insertadas durante 7 y 14 días (66,7% y 58,3%, respectivamente) en el año 2011, en esta misma raza awassi y sistemas de producción similares (Ozyurtlu *et al.*, 2011). Esta diferencia de resultados entre los dos trabajos en la misma raza, y en condiciones semejantes podía ser debida a que fue realizada en fotoperiodos distintos, por lo que, en el primer caso, los autores aducen que la diferencia entre grupos fue, probablemente, debida a un retraso en la regresión del CL en algunas ovejas cíclicas, ya que el experimento se realizó en época reproductiva pero no incluyó $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el tratamiento. En el segundo trabajo, en principio, no había ovejas cíclicas, debido a que el experimento se realizó en “contraestación”, en el periodo comprendido entre la segunda mitad de abril y la primera semana de mayo.

De manera similar, Ataman y colaboradores reportan idénticos resultados en ovejas F1 cruzadas de merino tratadas con esponjas impregnadas en FGA en época reproductiva durante 12 y 7 días, determinando como respuesta al tratamiento el porcentaje de animales que presentaban celo a la retirada de los dispositivos, con un 100% de los animales en ambos grupos. En este trabajo sí se incluía la administración de análogos de la prostaglandina, siendo concretamente

triaprost trometamina, a la retirada de las esponjas en el tratamiento corto (Ataman *et al.*, 2006).

Otro dato importante a la hora de valorar los protocolos de sincronización es el grado de agrupación de los animales que salen en celo. Los tratamientos que mejor agrupan los celos suponen una ventaja de manejo y económica al unificar en menos tiempo, a su vez, los partos. De esta manera se facilita el manejo y garantiza una oferta homogénea de corderos (Parraguez *et al.*, 2000) al permitir la planificación de inseminación artificial a tiempo fijo (Godfrey *et al.*, 1999) aun cuando los resultados de gestación sean semejantes. En nuestro estudio hemos podido comprobar que a las 48h tras la retirada del dispositivo intravaginal la cantidad de ovejas en celo era semejante en los grupos Control y PG-Corto, respecto al grupo Corto-PG. Sin embargo, en este experimento, el rango de tiempos en el que las ovejas salían en celo (indicador de agrupación) era menor en el grupo Corto-PG (48h) con respecto al grupo PG-Corto (62h), mientras que el protocolo de sincronización que más agrupaba las salidas en celos fue el largo (16h). Otros autores como Martemucci y D'Alessandro (2011) en un trabajo similar al presente, no encontraron diferencias significativas en el grado de agrupación de celos en cabras pertenecientes a la raza autóctona italiana ionica, en un sistema de explotación semiextensivo, tratadas con FGA durante 11 días y aplicación de PGF_{2α} el día 9 y dos grupos de tratamientos cortos a 5 días con aplicación de PGF_{2α} al principio o al final con un intervalo de tiempo de agrupación de salida en celos en los tres grupos de $34,7 \pm 6,7$ h, $32,7 \pm 7,8$ h y $31,9 \pm 8,6$ h ($P < 0,05$), respectivamente (Martemucci & D'Alessandro, 2011).

Por otro lado, en lo referente al grado de agrupación de presentación de celos, Viñoles y colaboradores (2001) observaron, de manera similar a nuestro trabajo, que el grado de respuesta al tratamiento en época reproductiva hasta las 96 horas desde la retirada de las esponjas fue significativamente más alto en las ovejas tratadas con protocolos largos de 12 días respecto a tratamientos de 6 días ($49,0 \pm 3,0$ h y $84,8 \pm 7,1$ h; $P > 0,05$, respectivamente) (Viñoles *et al.*, 2001). Los autores atribuyen este bajo grado de sincronización en los tratamientos cortos a la presencia de un CL funcional al final del tratamiento en la mayoría de las ovejas, ya que no incluía el uso de PGF_{2α}, pero este factor no puede aplicarse en nuestro trabajo. A pesar de ello, a las 144 h tras la retirada de las esponjas, el número de ovejas que habían mostrado celo era similar en ambos grupos, lo que es muy semejante a lo obtenido en el presente estudio, donde la respuesta final al tratamiento no fue significativa entre grupos. Por otro lado, Ungerfeld y Rubianes (1999) durante la época de anestro, observaron que el intervalo de tiempo desde la retirada de los dispositivos hasta el inicio del celo fue significativamente más corto en las ovejas tratadas durante 6 días que en las ovejas tratadas durante 12 días, pero en este caso ningún CL estaba interfiriendo con la fase final de crecimiento del folículo ovulatorio debido a la inclusión de prostaglandina en los

protocolos (Ungerfeld & Rubianes, 1999). Del mismo modo, Sareminejad y colaboradores en 2014 no encontraron diferencias significativas en época de anestro en dos grupos distintos de ovejas tratadas con MPA durante 14 y 6 días, sin aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$, y en los que los intervalos de respuesta al tratamiento fueron de $91,0 \pm 0,74$ y $93,33 \pm 1,03$ h, respectivamente (Sareminejad *et al.*, 2014).

Estos trabajos, junto con nuestros resultados, demuestran que, en ausencia de cuerpo lúteo, ya sea por aplicación de la prostaglandina, ya por realizarlo en hembras en anestro, el acortamiento del tratamiento de sincronización no supondría diferencias significativas finales en los porcentajes de respuesta al protocolo de sincronización. No obstante, en nuestro estudio, la capacidad de agrupación del celo permaneció mejor en los tratamientos largos. A pesar de ello, hay que valorar las ventajas que aporta la gran flexibilidad a la hora de sincronizar los animales con protocolos cortos, situación que se hace más ventajosa aún en sistemas de producción ovina extensiva y semiextensiva ligada al pastoreo.

Otra de las ventajas claras de los tratamientos cortos respecto de los largos es el evitar la inducción de vaginitis al mantener los dispositivos menos tiempo en la vagina de los animales (Manes *et al.*, 2015). Finalmente, debemos considerar como beneficiosa la reducción de la administración de hormonas, lo que se alinea más con las producciones consideradas “limpias”, en respuesta a las demandas de la sociedad, tal y como proponen en sus trabajos Martin y colaboradores (2004) o Martin y Kadokawa (2006) (Martin *et al.*, 2004; Martin & Kadokawa, 2006).

Aunque la aplicación de los tratamientos cortos de esponjas impregnadas en progestágenos ofrece las ventajas citadas, tienen el inconveniente de que hay que administrar $\text{PGF}_{2\alpha}$ para lisar posibles CL presentes en las hembras con objeto de evitar una disminución del porcentaje de gestación (Vinoles *et al.*, 1999). A la hora de valorar estos tratamientos cortos hay que tener en cuenta, que el precio de los mismos se eleva debido a esta inclusión obligada de la prostaglandina, ya sea al principio (Letelier *et al.*, 2009), ya sea al final de protocolo (Vinoles *et al.*, 1999). También hay que valorar el aumento del trabajo asociado al aplicar la misma, de forma que en un marco productivo hay que hacer un balance económico de este efecto y valorarlo teniendo en cuenta las ventajas previamente comentadas.

En cuanto a la comparativa entre los distintos tratamientos de sincronización cortos, en el presente trabajo realizado en ovejas autóctonas españolas y F1 de cruces industriales, aunque las diferencias fueron sólo numéricas, las ovejas que mejor respondieron a la sincronización fueron las que recibieron la $\text{PGF}_{2\alpha}$ a la retirada de los dispositivos, frente a las que se les administró en el momento de su colocación. La presencia de un CL activo altera la funcionalidad y la maduración final de los folículos preovulatorios y la luteogénesis normal, debido a que las concentraciones de P4 elevadas durante la fase luteal disminuyen la secreción de LH, hormona esencial para el crecimiento y

maduración final de los folículos preovulatorios (Campbell *et al.*, 1995; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004). Es por ello que algunos autores recomiendan la aplicación de una dosis de PGF_{2α} o sus análogos en el momento de la inserción de la esponja. Es bien conocida la capacidad de sincronización del estro posterior a la administración de PGF_{2α} entre los días 5 y 14 del ciclo estral ovino, que induce luteolisis, seguida de estro y ovulación (Acritopoulou *et al.*, 1977; Acritopoulou & Haresign, 1980). Para asegurar una adecuada respuesta a los tratamientos de sincronización cortos basados en progestágenos se recomienda la inclusión de la misma al comienzo de dicho protocolo (Letelier *et al.*, 2009). Por el contrario, en otros trabajos se recomienda la aplicación de PGF_{2α} en el momento de la retirada de la esponja, durante el fotoperiodo decreciente (Vinoles *et al.*, 1999). Varios autores también corroboran la necesidad de aplicar la PGF_{2α} en el momento de la retirada de la esponja (Greyling *et al.*, 1979). Estos últimos autores obtuvieron porcentajes de sincronización del 100% en tratamientos cortos de 8 días con PGF_{2α} al final del mismo. Fitzgerald y colaboradores (1985) obtuvieron resultados similares de sincronización con tratamientos de 7 días con PGF_{2α} también al final (Fitzgerald *et al.*, 1985). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio en el que, tras un protocolo semejante (Corto-PG), en ovejas autóctonas españolas y F1 de cruces industriales, se observó que el mayor porcentaje de presentación de celo durante la época reproductiva (fotoperiodo decreciente) es en el grupo que recibe la PGF_{2α} a la retirada de los dispositivos (90,9% vs. 63,6%). Por lo tanto, parece que dentro de los tratamientos de sincronización cortos, aplicados durante el fotoperiodo decreciente, con nuestras razas y en nuestras latitudes, el protocolo de sincronización "Corto-PG" podría ser más apropiado que el tratamiento "PG-Corto", e igualmente adecuado respecto de los tratamientos largos.

En relación a las determinaciones hormonales, los picos de liberación de LH preovulatorios aparecieron en momentos muy similares, sin embargo, estos picos se observaron más agrupados en el grupo Corto-PG que en el grupo PG-Corto. Los picos de LH más agrupados son muy buscados en los protocolos ligados a inseminación artificial, ya que permiten ajustar más adecuadamente el momento de la misma y mejorar la fertilidad (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004). De esta forma, a la hora de elegir entre los dos protocolos cortos, parece que el tratamiento Corto-PG tendría ventajas sobre el PG-Corto. Además, este grupo Corto-PG presenta niveles de LH muy similares a los del grupo de tratamiento largo (mientras que el tratamiento PG-Corto presentaba niveles inferiores al grupo control), y son estos tratamientos con inserción de dispositivos vaginales durante 14 días ya plenamente demostrados como de una fertilidad adecuada (Vinoles *et al.*, 2001; Evans *et al.*, 2004), por lo que ratifica que este tratamiento, que hemos denominado Corto-PG, puede ser tan adecuado como el largo.

En cuanto al grado de agrupación de los animales que salen en celo dentro de los tratamientos cortos comparados en nuestro trabajo, pudimos comprobar que el rango de tiempo en el que las ovejas salían en celo (indicador de agrupación) era menor en el tratamiento Corto-PG (48h) respecto del tratamiento PG-Corto (62h). De manera, que entre los dos tratamientos cortos ratificamos otra ventaja adicional en el protocolo Corto-PG sobre el PG-Corto.

Al evaluar la dinámica folicular, observamos principalmente, que el grupo de tratamiento Corto-PG daba lugar a un mayor reclutamiento y desarrollo folicular dando como resultado más folículos medianos al final de la fase folicular, en comparación con el otro grupo de tratamiento corto (PG-Corto). Esto es otra evidencia que nos hace preferir el tratamiento corto con la prostaglandina al final, respecto del tratamiento PG-Corto, ya que es conocido que los folículos ovulatorios más jóvenes se correlacionan con una mejor fertilidad (Evans, 2003). Por otro lado, esta diferencia de dinámica folicular también quedó reflejada en una mayor liberación de E2 por parte de este grupo Corto-PG respecto del resto, relación ya encontrada en otros trabajos publicados (Campbell *et al.*, 1995). De hecho, estos mismos autores ratifican que la determinación de niveles de estradiol es una manera indirecta de estudiar la dinámica folicular (Letelier *et al.*, 2009). En el presente trabajo, en lo referente a la liberación de estradiol, pudimos observar una diferente producción estrogénica por parte de los folículos según el momento del ciclo y el grupo de tratamiento: así en el primer día (momento 12h) las ovejas del grupo control mostraron una mayor producción de esta hormona ovárica. Sin embargo, a partir ya de las 24h tras la retirada de los dispositivos, fue en este grupo control donde observamos una producción estrogénica inferior estadísticamente significativa en los momentos 24h y 60h y menor, aunque sólo numéricamente, en el resto de momentos. En el caso del momento final (60h) el grupo Corto-PG es el grupo que presenta la mayor producción de E2. Resultados sobre liberación de E2 los observamos en los trabajos de Letelier y colaboradores (2011), donde la funcionalidad de los folículos preovulatorios se confirmó por un incremento en las concentraciones de estradiol en plasma durante la fase folicular en dos grupos de tratamiento distintos, uno de ellos con FGA a 14 días y el otro usando tres inyecciones de PGF_{2α} separadas por un periodo de 10 días (Letelier *et al.*, 2011). Las concentraciones de E2 fueron similares a las obtenidas previamente por otros autores en ovejas de raza manchega (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005; Gonzalez-Anover *et al.*, 2007) y a las del presente estudio, corroborando la “normalidad” funcional de nuestros animales. Sin embargo, no hemos encontrado estudios en la especie ovina que demuestren niveles de estradiol durante la fase folicular de manera comparada entre diferentes tratamientos de sincronización basados en la aplicación de progestágenos. Sí hay estudios comparando tratamientos de sincronización basados en prostaglandinas (Fierro *et al.*, 2016) o comparando tratamientos de sincronización respecto del celo natural (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005). En general, podemos argumentar que una mayor liberación de

E2 se corresponde con una mejor “salud folicular”, tal y como demuestran Gonzalez-Bulnes y colaboradores, (2005) viendo que existe una correlación significativa entre el nivel de liberación de E2 y la posterior capacidad luteotrófica de los CL, y además, estos niveles de P4 están positivamente correlacionados con la cantidad y calidad de embriones recuperados. Asimismo, los niveles de E2 durante la fase folicular se correlacionan negativamente con el número de oocitos no fertilizados (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005). Por otro lado, el nivel de E2 liberado, dentro de folículos no quísticos ni persistentes, está correlacionado directa y positivamente con las tasas de gestación, ya que estos niveles son esenciales para el desarrollo embrionario temprano (Murray *et al.*, 1992; Watson *et al.*, 1994; Nancarrow & Hill, 1995; Fierro *et al.*, 2016). De hecho, Swelum y colaboradores (2015) observaron mejores tasas de fertilidad y prolificidad en el grupo experimental que liberaba mayores niveles de E2 y por lo tanto de P4 en un estudio comparativo de protocolos de sincronización entre esponjas y dispositivos CIDR (Swelum *et al.*, 2015). En definitiva, parece lógico esperar unos resultados de gestación buenos, o incluso mejores tras los tratamientos cortos, y dentro de ellos, tras el tratamiento Corto-PG, basados en estos mayores niveles de liberación de E2 durante la fase folicular. Si bien, una vez alcanzado un nivel de estradiol adecuado, y que induzca un pico, lo que parece jugar también un papel relevante es el intervalo entre el pico de E2 y el de LH, observándose que un retraso en la relación pico de E2-pico de LH se puede relacionar con menor fertilidad (Veiga-Lopez *et al.*, 2014). En nuestro trabajo no hemos estudiado el intervalo pico de E2-pico de LH entre grupos, lo que podría ser interesante para futuros estudios.

Al estudiar la fase luteal y el porcentaje de ovulación no se observaron diferencias estadísticas en cuanto al número medio de CL/oveja, aunque la distribución del número de cuerpos lúteos sí que varió significativamente entre grupos, con más animales con 3 CL entre los grupos cortos (57,1% en Corto-PG y 43,5% en PG-Corto) respecto del grupo Control (11,1%); a cambio, se observaron menos animales con 4 CL en los grupos de protocolos cortos (0 *versus* 22,2%). El número de CL refleja el número de ovulaciones y, en producción animal, los partos dobles y triples se consideran productivos, especialmente en la producción de aptitud cárnica, a pesar de la elevación en las tasas de distocia por malposición. Sin embargo, la aparición de partos cuádruples en una explotación supone un grave problema de manejo, ya que la madre no puede mantenerlos y algunos de los corderos deben ahijarse con otras ovejas o criarse con lactancia artificial. Por otro lado está demostrada la relación entre el tamaño de camada y la dificultad para mamar por parte de los corderos nacidos de partos múltiples (Dwyer & Bungler, 2012), así como mayor desgaste metabólico en las ovejas gestantes de varios fetos, respecto de las de gestaciones simples (Gonzalez-Garcia *et al.*, 2015) y la elevación de la mortalidad de los corderos según aumenta el tamaño de la camada (Holmoy & Waage, 2015).

Finalmente, la producción media de P4 tampoco difirió entre grupos, lo que ratificaría la idoneidad adicional de los tratamientos cortos. En otros trabajos realizados durante la época reproductiva, (Greyling *et al.*, 1979), comparando tres tratamientos con esponjas de MPA durante 8 días con administración de tres dosis distintas de cloprostenol a la retirada, y midiendo concentraciones de P4 en plasma, no observaron diferencias significativas entre los tres grupos. Ozyurtluy y colaboradores. (2011) tampoco encontraron diferencias significativas en los niveles de P4 entre grupos de animales tratados con esponjas de FGA a 14 y 7 días durante las 2 y 3 semanas posteriores a la retirada de los dispositivos (Ozyurtlu *et al.*, 2011). Sin embargo, el tratamiento corto mostró niveles más altos de P4 en el momento de retirar el dispositivo, debido, posiblemente, a la presencia de un CL, ya que el tratamiento de sincronización no incluía la administración de PGF_{2α}, a diferencia de los protocolos aplicados en nuestros trabajos.

Por otro lado, Amer y Hazzaa (2009), en ovejas tratadas con FGA y eCG a 6 y 12 días observaron niveles basales de P4 en los días -12, -4 (previos al estro) y 0 (estro) demostrando anestro estacional al comienzo de los protocolos de sincronización. Después del día 0 las concentraciones permanecieron bajas, hasta el día 5, consiguiendo que todas las ovejas ovularan durante este periodo. Las concentraciones de P4 postovulación se incrementaron gradualmente desde el día 5 hasta el día 20 y alcanzaron su máximo a partir del día 11, pero sin observar diferencias significativas entre los dos grupos (Amer & Hazzaa, 2009), de manera semejante a lo encontrado en el presente trabajo. Sin embargo, en nuestro estudio, es importante recalcar, que numéricamente sí observamos una menor concentración de P4 en el grupo PG-Corto ($1,02 \pm 1,06$ ng/ml) respecto de los niveles observados en el grupo Corto-PG ($2,11 \pm 2,82$ ng/ml) o grupo Control o tratamiento largo ($2,01 \pm 1,82$ ng/ml). Probablemente la presencia de CL durante la sincronización en las ovejas del grupo Corto-PG dio lugar a niveles de progesterona altos, lo que se relaciona con una menor secreción de LH (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005). Esta situación hace que los folículos dominantes presentes en ese momento entren en regresión y desaparezcan, apareciendo a continuación folículos nuevos en crecimiento (los de tamaño mediano, observados en el estudio de la dinámica folicular). Estos folículos más jóvenes serían los responsables de una mayor liberación de E2. En general, los resultados de liberación de P4, se corresponden con folículos con menor actividad previa, reflejada con la liberación de E2, relación también corroborada previamente en la bibliografía (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005; Fierro *et al.*, 2016) además de con los resultados de liberación de E2 del presente trabajo. Finalmente, es notable remarcar que niveles menores de P4 se ven correlacionados en otros trabajos con una menor fertilidad (Swelum *et al.*, 2015).

De manera que en base a estos resultados y a pesar de la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos, tanto en el número medio de CL/oveja como en los niveles medios de P4, podemos esperar semejantes

resultados de eficiencia reproductiva y productiva en las ovejas protocolizadas con tratamiento largo o con el tratamiento Corto-PG, que podrían ser usados indistintamente en granjas, elevando la flexibilidad de manejo y protocolización reproductiva. Por otro lado, recordar que una menor duración de los tratamientos con dispositivo intravaginal se relaciona, con una menor aparición de vaginitis, hemorragias y adherencias (Manes *et al.*, 2010), lo que supone una mayor limpieza de la vagina, facilitando la visualización del cérvix, lo cual es muy relevante si se decide aplicar inseminación transcervical (Windsor, 1995). Esto serían argumentos para preferir la utilización del tratamiento Corto-PG, respecto del largos, una vez demostrada una eficacia reproductiva semejante.

5.3 Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre el porcentaje de gestación en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos largo (14 días) en fotoperiodo decreciente

En esta fase experimental 3 se valoraron dos métodos de sincronización de celo “largos” usando dos dispositivos diferentes con progestativos (progestágenos en esponjas impregnadas en FGA y progesterona en dispositivos tipo CIDR) basados en el protocolo clásico de 14 días, con administración de eCG a la retirada de los mismos. El objetivo fue comparar el porcentaje de gestación y la prolificidad, estimada por ecografía transabdominal a día 40 post-monta, durante fotoperiodo decreciente. También se valoraron otros factores como el porcentaje de pérdidas de dispositivos y el porcentaje de dispositivos con olor desagradable en el momento de la retirada. Los factores edad, número de lactación medio /oveja y condición corporal se controlaron presentando éstos una distribución homogénea entre grupos experimentales.

Los porcentajes de gestación obtenidos fueron del 61,7% en el grupo FGA y del 51,6% en el grupo CIDR ($P=0,120$). La prolificidad estimada también fue ligeramente mayor en el grupo FGA ($1,62 \pm 0,55$) que en el grupo CIDR ($1,52 \pm 0,50$), con $P=0,317$.

Puesto que el FGA es un agente progestágeno más potente que la progesterona natural y, por lo tanto, puede ser usado a dosis más bajas, los resultados obtenidos, muestran que los dispositivos CIDR, que contienen 300 mg de progesterona natural son tan efectivos como método de sincronización del estro en ovejas como 20 mg de FGA impregnado en esponjas intravaginales, bajo las condiciones de manejo descritas en el presente trabajo, que son las típicas de explotación ovina intensiva (Reynolds, 1996).

Nuestros resultados muestran que no hubo diferencias significativas en el porcentaje de gestación tal y como ya obtuvieron a finales de los años 80 Rhodes y Nathanielsz, comparando los mismos dispositivos basados en progesterona natural, durante 14 días, vs. dispositivos de MPA, en lugar de FGA. Estos autores obtuvieron además, unos porcentajes de gestación muy semejantes a los nuestros, del 56,6% en el grupo tratado con esponjas de MPA y de un 57,7% en el grupo tratado con CIDR.

Porcentajes de gestación un poco más elevados que en el trabajo actual, pero similares entre ellos ($P>0,05$) a pesar de una diferencia numérica, como en nuestro caso de 10 puntos porcentuales, fueron los obtenidos por Hamra y colaboradores (1989) al comparar el tratamiento de CIDR impregnados en progesterona (71%) con el de esponjas impregnadas en cronolona (85%),

seguidos todos ellos de la administración de eCG a la retirada de los dispositivos, de manera semejante al presente trabajo (Hamra *et al.*, 1989). Aunque la fertilidad media tras la aplicación del CIDR en nuestro trabajo no es muy elevada, sí está en consonancia con otros trabajos publicados previamente, como el de Moeini y colaboradores (2013) (Moeini *et al.*, 2013). Estos autores compararon distintos tratamientos con esponjas y CIDR en ovejas de raza lori durante 13 días en estación no reproductiva, pero con distintas dosis de eCG en los distintos grupos. A pesar de que las gonadotropinas mejoran la tasa de ovulación (Gungor *et al.*, 2007) observaron que los animales a los que se les administró una dosis menor de eCG (350 UI) presentaron porcentajes de gestación mayores que a aquellos a los que se les administraron 500 UI tras la retirada de los dispositivos. Los resultados con 350 UI fueron de 54,5% en el grupo tratado con esponjas de FGA, frente a 45,4% en el grupo tratado con CIDR. En cambio, en los tratamientos que incluían una dosis de 500 UI de gonadotropina se observaron porcentajes de gestación de 38,8% en el grupo tratado con esponjas frente al 32,8% observado en el grupo tratado con CIDR.

Resultados similares a los nuestros, obtuvieron Zonturlu y colaboradores (2008) con ovejas de raza awassi, una duración de los tratamientos de 12 días y la administración de 300 UI de eCG, con unos porcentajes de gestación de 52,63% en el grupo tratado con esponjas y de 60,0% en el grupo tratado con CIDR (Zonturlu *et al.*, 2008). El porcentaje de gestación en el grupo tratado con CIDR es comparable igualmente al 63% obtenido por Ungerfeld y Rubianes (2002) (Ungerfeld & Rubianes, 2002). En cambio, los resultados obtenidos por estos mismos autores en los grupos tratados con FGA fueron más altos. En otros estudios revisados, los porcentajes de gestación obtenidos en tratamientos en los que se ha usado CIDR han variado entre el 44,40% y el 55,60% (Fukui *et al.*, 1999; Godfrey *et al.*, 1999; Daniel *et al.*, 2001), lo que vuelve a concordar con nuestras cifras de porcentaje de gestación.

Estos dos dispositivos también han sido comparados con distintas dosis de eCG (350 UI, 500 UI y 600 UI) por Moradi Kor y colaboradores (2012) y los grupos tratados con FGA + 600 UI de eCG y CIDR +350 UI de eCG obtuvieron idénticos resultados en lo que a porcentaje de gestación se refiere (79,78%), siendo, además, significativamente más altos que en el resto de grupos (Moradi Kor *et al.*, 2012).

Swelum y colaboradores (2015), en cambio, obtuvieron porcentajes de gestación mayores, y significativamente distintos, en ovejas tratadas con CIDR (77,86%) que en aquellas tratadas con esponjas de FGA (62,41%). También la prolificidad fue mayor en las ovejas tratadas con CIDR frente a aquellas tratadas con FGA (1,34 vs. 1,19) (Swelum *et al.*, 2015).

Yadi y colaboradores (2011) obtuvieron porcentajes de preñez más altos en ovejas de raza Kalkuhi tratadas con MPA, que en ovejas tratadas con CIDR (45% vs.

35%), en cambio la prolificidad fue más elevada en el caso de los CIDR, ya que el porcentaje de gestaciones gemelares frente a gestaciones simples fue mayor en el grupo CIDR (14%) que en el grupo MPA (11%). En este trabajo la duración del tratamiento fue de 14 días para la esponja intravaginal impregnada en MPA y de 12 días para el CIDR, con administración de 500 UI de eCG en el momento de la retirada. Las diferencias podrían ser debidas a la raza, edad, factores nutricionales, o manejo reproductivo (Yadi *et al.*, 2011). Por otro lado, en el caso de la especie caprina, Romano (2004) obtuvo resultados exactamente iguales con cabras nubianas en cuanto a porcentajes de gestación en los grupos CIDR y FGA (63%) y un poco más altos en el grupo MPA (65%), no observando ninguna pérdida de dispositivo en ninguno de los tres grupos (Romano, 2004). Crosby y colaboradores (1991) obtuvieron resultados, sólo numéricamente más elevados en ovejas tratadas con CIDR (76%) que con progestágenos sintéticos (67% con FGA y 66% con MAP) en anestro. En cambio, estos resultados se invirtieron en época reproductiva, donde el porcentaje de gestación obtenido en animales tratados con CIDR (56%) fue inferior al obtenido en los otros dos grupos (88% en el grupo FGA y 80% en el grupo MAP) (Crosby *et al.*, 1991). Estudios posteriores en cabras nadooshan tratadas con CIDR durante 18 días reflejan porcentajes de gestación del 91,3%, mucho mayores a los obtenidos en este trabajo con ese mismo dispositivo en ovejas lacaune (Shahneh *et al.*, 2008).

La diferencia de fertilidad entre los resultados observados en nuestro trabajo y los citados en otros trabajos podrían explicarse si tenemos en cuenta que la gran mayoría de las ovejas del presente estudio estaban en lactación, ya que, por una parte, actividades fisiológicas tales como el movimiento, la lactación o la reproducción pueden inducir niveles bajos de energía, y por otra, niveles bajos de energía provocan una menor liberación de GnRH, y por tanto de LH y FSH en la circulación (Downing & Scaramuzzi, 1991). Por otro lado, hay oscilaciones de los valores concretos de fertilidad según lotes, también observadas en los rebaños nuestros, que, aunque dan lugar a una media anual de fertilidad mantenida del 75% anual, en determinados lotes de montas, llega a ser menor. Aun así, esta circunstancia no afecta a la comparativa estudiada en el trabajo, ya que en cada réplica siempre se han incluido animales en grupo CIDR y en grupo FGA, para controlar este factor, y por otro lado, y como ha quedado patente, también hay numerosos trabajos que obtienen cifras de porcentaje de gestación semejantes a las nuestras.

En cuanto a las otras variables evaluadas, como porcentaje de pérdidas y porcentaje de dispositivos con olor desagradable, el porcentaje de pérdidas de dispositivos fue mayor en el caso de las esponjas, donde un 4,46% de los animales las perdieron, frente a un 1,90% de pérdidas observadas en el caso de los CIDR ($P=0,332$). En el momento de la retirada de los dispositivos solamente un 1% de los CIDR presentaron olor desagradable, frente al 76% de esponjas con esta característica.

Omontese y colaboradores (2010) compararon tratamientos con CIDR frente a esponjas de FGA durante 21 días y sin administración de eCG a la retirada en la raza ovina red sokoto. En este caso no se valoró porcentaje de gestación, sino porcentaje de animales que salieron en celo, siendo éste significativamente inferior en los animales tratados con FGA (20%) que en los tratados con CIDR (55,6%) (Omontese *et al.*, 2010). Estos resultados podrían deberse a estros silenciosos, bajos niveles de actividad ovárica (Wheaton *et al.*, 1993), efecto de la estación o condiciones climatológicas y causas iatrogénicas (Freitas *et al.*, 1997). Sin embargo, los autores del trabajo argumentaban que estos resultados podrían explicarse por el hecho de que el dispositivo había estado 21 días insertado en la vagina, lo cual habría podido provocar una vaginitis y por tanto, que los animales no saliesen en celo. Algunos autores (Alifakiotist *et al.*, 1982), por su experiencia previa con el uso de CIDR en ovejas, indican que las técnicas empleadas para insertar las esponjas y factores tales como la textura y consistencia de las mismas podrían tener alguna influencia en la retención de la esponja en la vagina frente al CIDR, fabricado a partir de un elastómero de silicona. Tal y como ya reseñamos en la revisión bibliográfica, a diferencia de lo que ocurre con el CIDR, el contacto que mantienen las esponjas vaginales con el cérvix predispone a un incremento de la microbiota bacteriana que puede provocar vaginitis y formar adherencias que causen problemas reproductivos en el rebaño (Amiridis & Cseh, 2012).

De hecho, y ligado a esta circunstancia, en nuestro trabajo observamos un menor porcentaje de dispositivos CIDR con olor desagradable (lo que se liga a secreciones anormales de la mucosa vaginal y vaginitis), respecto del porcentaje apreciado en los dispositivos FGA. Estos mismos autores previamente citados, también notaron una mayor pérdida de dispositivos en el caso de las esponjas, comparativamente con los CIDR, hecho que relacionan directamente a la tasa de irritación vaginal. Los porcentajes de pérdidas descritos son muchísimo mayores que los observados en nuestro trabajo (40% vs. 10% en el estudio citado y 4% vs. 1% en el nuestro). La diferencia tan marcada de las medias de pérdidas entre este estudio y el nuestro, podría deberse al mayor tiempo de permanencia del dispositivo en la vagina (21 días frente a 14). Además los dispositivos de FGA llevan un hilo más largo y de color más llamativo que el del CIDR, que es transparente y mucho más corto, de forma que las ovejas tienen mayor dificultad para quitarse este último.

Otros autores como Swelum y colaboradores (2015), también documentan que la descarga vaginal maloliente, considerada como una respuesta de la mucosa vaginal a la presencia de un cuerpo extraño, también fue mucho mayor en el momento de la retirada de las esponjas (98,58%) que en el de los CIDR (51,91%) (Swelum *et al.*, 2015).

En el caso del trabajo previamente citado el porcentaje de pérdidas fue mayor en el caso de los CIDR (8,2%) que en el de las esponjas (4%) y también mayor que en nuestro experimento (Rhodes & Nathaniel, 1988). Las razones de estos hechos no las podemos explicar en base a lo descrito en los trabajos, pero podría también depender en parte de la experiencia de aplicación por parte del personal encargado del mismo. De hecho, y a diferencia de nuestra experiencia, algunos autores sí describen algunas desventajas en el uso de los dispositivos CIDR, que nosotros no encontramos, como la dificultad para insertarlos en la vagina de las ovejas (Greyling & Brink, 1987).

Concluyendo, nuestros resultados reflejan porcentajes similares respecto a fertilidad y prolificidad, no observando diferencias significativas entre los dispositivos comparados, por lo que los CIDR, cuando estén disponibles en Europa, serían una alternativa, con ventajas en lo que se refiere al porcentaje de pérdidas y reducción de vaginitis, lo que equivale a una mejora en bienestar animal. Además, estos dispositivos tienen la posibilidad de ser reutilizados, previa esterilización dos o incluso hasta tres veces (Cox *et al.*, 2012; Vilarino *et al.*, 2013).

5.4 Efecto del tipo de dispositivo progestativo intravaginal (progesterona natural o CIDR versus progestágeno sintético o FGA) sobre la funcionalidad hipofisaria y ovárica en ovejas tratadas con un protocolo de sincronización de celos corto (7 días) e influencia de la época reproductiva

En la fase experimental 4 se valoraron posibles diferencias en la respuesta a dos dispositivos diferentes con progestativos (progestágenos en esponjas intravaginales con FGA y progesterona en CIDR) basados en el protocolo corto considerado como el de mejor resultado en las fases experimentales anteriores (protocolo Corto-PG).

Habiendo comprobado en la fase experimental 1 que este tratamiento Corto-PG daba lugar a diferencias en el porcentaje de gestación según el fotoperiodo, se llevaron a cabo dos réplicas en distinta estación. Así, el experimento 4.1 se realizó en fotoperiodo creciente, y el experimento 4.2, en fotoperiodo decreciente

En esta parte, los factores de confusión a controlar fueron la condición corporal y la edad de los animales, que resultaron homogéneos entre grupos en ambas réplicas.

En época de fotoperiodo creciente se comprobó que no hubo ninguna variación según tratamiento, en lo que respecta al número medio de cuerpos lúteos/animal, al tiempo medio en salir en celo ni a la respuesta total al tratamiento (esto es, el salir o no en celo), ya que en los dos grupos el 100% de los animales mostraron celo. El análisis por momentos de detección de celos tampoco reveló ninguna variación entre los grupos en cuanto al ritmo y agrupación de los animales en esta respuesta, demostrándose la misma eficacia en la sincronización de celos de los dispositivos CIDR respecto de las tradicionales esponjas.

Durante el fotoperiodo decreciente no observamos diferencias en el porcentaje de ovejas que salieron en celo, ni en el tiempo medio en mostrarlo. Sin embargo, sí observamos un agrupamiento mayor en la salida en celo en el grupo tratado con el dispositivo CIDR, de manera que a las 28h y 32h había más del doble de ovejas en celo en este grupo respecto del grupo FGA. Posteriormente, con el tiempo de observación de celos, esta diferencia se iguala, y no llega a ser significativa.

En otros trabajos se ha demostrado que el dispositivo CIDR con progesterona natural es igualmente eficaz en comparación con las esponjas de FGA (Ungerfeld & Rubianes, 2002; Moeini *et al.*, 2013; Swelum *et al.*, 2015), resultados

similares a los del presente estudio, observados en la estación desfavorable, en donde precisamente se espera que la adición de un progestativo externo ayude de manera eficaz a los animales en anestro, o a punto de salir del mismo (Ungerfeld & Rubianes, 1999; Vinales *et al.*, 2001). De hecho, los resultados de respuesta que observamos son comparables a los resultados citados en otros trabajos con este tipo de protocolos cortos en estación favorable (Vilarino *et al.*, 2013) o desfavorable (Moradi Kor *et al.*, 2012; Swelum *et al.*, 2015). Por otro lado, en el presente trabajo, corroboramos incluso mejores tasas de presentación de celo en la estación desfavorable, respecto de la estación reproductiva (79,20% en el grupo CIDR frente al 88,00% en esponjas en fotoperiodo decreciente, respecto del 100% en ambos grupos en el fotoperiodo creciente).

Los resultados en la respuesta al tratamiento obtenidos por Yadi *et al.* (2011) en fotoperiodo creciente no muestran diferencias significativas entre el grupo tratado con esponjas de FGA y el grupo tratado con CIDR, con unos porcentajes de salida en celo de las ovejas de 45% y 35%, respectivamente, aunque inferiores a los obtenidos en nuestro trabajo en el mismo fotoperiodo (100%) (Yadi *et al.*, 2011).

Resultados similares en cuanto a respuesta al tratamiento en fotoperiodo creciente fueron obtenidos por Ungerfeld y Rubianes (2002), donde obtuvieron porcentajes de respuesta al tratamiento de 91,5% y 95,9% en ovejas tratadas con esponjas de FGA y CIDR, respectivamente. Estos autores también observaron tiempos medios de inicio de celo semejantes entre grupos, y por debajo de 40 horas, pero ligeramente más altos que los nuestros ($38,8 \pm 1,6$ y $39,9 \pm 2,1$ h en los grupos FGA y CIDR, frente a los $32,00\% \pm 6,01$ y $33,76\% \pm 4,01$ obtenidos en nuestro trabajo en los mismos grupos). Sin embargo, el tiempo obtenido en el grupo tratado con esponjas de FGA ($38,8 \pm 1,6$ h) fue muy similar por el observado por nosotros en el mismo grupo pero en fotoperiodo decreciente ($38,18 \pm 9,46$ h) (Ungerfeld & Rubianes, 2002).

De nuevo, en el trabajo de Moradi Kor *et al.* (2012), también en fotoperiodo creciente, se describen resultados muy similares a los nuestros en el tiempo medio de salida en celo, con $31,10 \pm 1,6$ h en el grupo CIDR y $32,65 \pm 1,80$ h en el grupo FGA, y, aunque los porcentajes de respuesta al tratamiento fueron elevados, sí que hubo diferencias significativas entre la respuesta observada en el grupo CIDR (82,45%) y el grupo FGA (92,89%) (Moradi Kor *et al.*, 2012). Por el contrario, Romano (2004), utilizando cabras nubianas en distinto fotoperiodo (decreciente), observó diferencias significativas en el tiempo medio de salida en celo ($32,90 \pm 9,7$ horas en las cabras tratadas con esponjas de FGA, frente a $40,2 \pm 10,5$ horas en las cabras tratadas con CIDR). En cuanto a la salida en celo, los resultados sí fueron idénticos a los obtenidos en nuestro trabajo en fotoperiodo creciente, con una respuesta del 100% de los animales en ambos grupos (Romano, 2004).

Estas diferencias en los resultados entre estudios podrían deberse a los distintos protocolos utilizados (Cam & Kuran, 2003; Gomez-Brunet *et al.*, 2007). Sin embargo, otros estudios afirman que esta discrepancia entre distintos autores puede ser explicada por la falta de homogeneidad en la condición corporal, la raza, el sistema de manejo o el estado fisiológico y nutricional (Yadi *et al.*, 2011; Moeini *et al.*, 2013). Por ello, es importante ratificar la eficiencia de los diferentes protocolos y productos hormonales en las razas y en sistemas de producción concretos. De hecho, una aportación muy novedosa del presente trabajo es la verificación de la eficacia en razas utilizadas de manera habitual en explotaciones de ovino de carne, y en las latitudes españolas. Hasta ahora, la mayoría de los trabajos realizados con ovejas de razas españolas utilizaban animales de raza merina, la raza española más internacionalmente conocida (Gardón *et al.*, 2015).

En lo que respecta a la funcionalidad ovárica durante la fase folicular, reflejada en base a los análisis de niveles de E2, se observó una semejanza en dicha funcionalidad entre ambos tipos de progestativos, excepto en la hora 12, donde estas diferencias sí se hicieron significativas ($P < 0,0001$). Lo mismo ocurrió con la P4, donde los niveles en plasma observados fueron algo más altos en el grupo FGA pero clínicamente no se pueden considerar relevantes ($5,94 \pm 1,42$ ng/ml frente a $4,34 \pm 1,96$ ng/ml, respectivamente). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo difieren de los publicados por Swelum *et al.* (2015), donde los niveles de E2 apenas variaron en las horas 0, 24 y 48 posteriores a la retirada de los dispositivos intravaginales, siendo significativamente más altos ($P < 0,05$) en el grupo de animales a los que se les insertó CIDR que en aquéllos que llevaban esponja de FGA, al igual que los niveles de P4, más altos en el grupo CIDR (Swelum *et al.*, 2015). Igualmente Hamra *et al.* (1989) y Naderipour *et al.* (2012) observaron que los animales tratados con CIDR producían niveles más elevados que aquellos tratados con esponjas. Las diferencias entre nuestros protocolos y los de los autores referenciados radican posiblemente en el tiempo de permanencia de los dispositivos intravaginales, ya que los suyos fueron tratamientos “largos” (Hamra *et al.*, 1989; Naderipour *et al.*, 2012).

Una vez demostrada semejanza en la eficacia de sincronización (o, según algunos trabajos, superioridad), la utilización de los CIDR respecto de las esponjas podría ser de elección por la diferencia en las tasas de vaginitis inducidas, incluso en los tratamientos cortos, ya que la superficie de contacto con la mucosa vaginal es mucho menor, lo que da lugar a una menor irritación, y consiguiente inflamación. La naturaleza de la textura de las esponjas absorbe muchas más secreciones vaginales, comparado con la silicona no absorbente del CIDR, lo que permite el crecimiento y la multiplicación de microorganismos, lo que provoca que desprendan mal olor y además una reacción inflamatoria de la mucosa vaginal, aunque sea leve. Swelum *et al.* (2015) observaron un 9,22% de esponjas adheridas a la mucosa vaginal, causando un mayor porcentaje de lesiones tras su retirada,

que los tratamientos con CIDR, en los que no se observó ninguna adherencia (Swelum *et al.*, 2015). De hecho, Manes *et al.* (2010) ya reportaron que las esponjas intravaginales utilizadas para inducir y sincronizar el estro en ovejas generaban una respuesta inflamatoria con cambios histológicos y citológicos en la pared de la vagina (Manes *et al.*, 2010). Estas observaciones confirman la hipótesis de que el uso de estos dispositivos intravaginales producen, no sólo un cambio en la microbiota vaginal, sino también un proceso de inflamación subaguda en la pared de la vagina (Manes *et al.*, 2014). Así mismo, en este trabajo se demostró que el flujo presente en las ovejas después de un tratamiento con esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos tiene efectos negativos en la calidad y funcionalidad del semen del morueco (Manes *et al.*, 2015).

Otra de las ventajas del CIDR es su posible reutilización (tras esterilización química o tratamiento por autoclave) de al menos, dos veces (Cox *et al.*, 2012), o incluso tres (Vilarino *et al.*, 2013). Igualmente, Cox *et al.* (2012) mostraron que el tratamiento corto con CIDR combinado con PGF_{2α} en el momento de la inserción del dispositivo permitía la reutilización de los dispositivos sin que afectase a la dinámica folicular y al intervalo de salida en celo y ovulación.

En un tercer uso, Vilariño *et al.* (2013) comprobaron que CIDR usados por segunda o tercera vez fueron tan efectivos como los nuevos en lo que se refiere a dinámica folicular, sincronización del estro y ovulación. Sin embargo, hay que destacar que en los dispositivos utilizados por tercera vez se observó una disminución en los niveles de P4 y un descenso en el porcentaje de gestaciones de aproximadamente un 10% (Vilarino *et al.*, 2013).

Finalmente, otra de las ventajas de los CIDR las tasas de pérdidas de los dispositivos intravaginales comparando CIDR respecto de esponjas es también menor (6,3% *versus* 0,8% para esponjas y CIDR, respectivamente) (Hashemi *et al.*, 2006).

En definitiva, en el presente trabajo no observamos diferencias en la tasa de respuesta medida como porcentaje de presentación de celo, tras la sincronización con los dos tipos de dispositivo intravaginal de progestativos comparados (CIDR respecto de esponjas), a excepción de una mayor agrupación de las ovejas en salir en celo en el caso del grupo CIDR durante el fotoperiodo creciente (efecto positivo del grupo CIDR); a excepción también de una menor tasa de liberación de E2 en la fase folicular y de progesterona en la luteal (efecto que podría ser negativo del grupo CIDR) y una mayor celeridad del pico de LH tras el de E2 (efecto positivo del grupo CIDR). Por lo tanto, se corrobora la posibilidad de idoneidad de la utilización de ambos dispositivos hormonales en explotaciones ganaderas dentro de un protocolo corto de 7d con aplicación de prostaglandina a la retirada. Además, en el caso de los dispositivos CIDR, se suman las ventajas de la mejora en el bienestar animal (reducción del porcentaje de vaginitis asociadas a la presencia de la esponja

en la vagina de los animales), la reducción de pérdidas de los dispositivos por parte de los animales sincronizados y la posibilidad de su reutilización tras su esterilización.

CONCLUSIONES

6 Conclusiones

1. La duración del tratamiento con dispositivos intravaginales impregnados con progestágenos sintéticos durante el fotoperiodo decreciente puede ser reducida de 14 días utilizados en los tratamientos clásicos hasta 7 días, siempre que se acompañe de la administración de prostaglandina, ya que se obtienen similares porcentajes de gestación y prolificidad.
2. El estudio en profundidad de la funcionalidad ovárica e hipofisaria en fotoperiodo decreciente demostró patrones endocrinos, de crecimiento y funcionalidad folicular similares en el tratamiento largo de 14 días y en el tratamiento corto de 7 días con aplicación de prostaglandina a la retirada del progestágeno (protocolo Corto-PG) y, en ambos casos, mejores que en el tratamiento corto con aplicación de prostaglandina a la inserción del progestágeno (protocolo PG-Corto).
3. El protocolo Corto-PG se relacionó con una menor fertilidad en fotoperiodo creciente. Esta menor fertilidad podría deberse a la presencia de cuerpos lúteos con baja respuesta a prostaglandinas durante el anestro reproductivo.
4. El tratamiento Control de 14 días con los dispositivos intravaginales de progesterona (CIDR) y con las esponjas intravaginales de progestágeno (FGA) dan lugar a porcentajes de gestación similares durante el fotoperiodo decreciente.
5. El tratamiento Corto-PG presenta eficacia similar en cuanto al porcentaje de presentación de celos y funcionalidad ovárica e hipofisaria, tanto con dispositivos intravaginales de progesterona (CIDR), como con esponjas intravaginales de progestágeno (FGA), durante el fotoperiodo creciente.
6. Durante el fotoperiodo creciente, el tratamiento Corto-PG con dispositivos intravaginales tipo CIDR da lugar a una agrupación de celos mayor pero con una menor concentración de E2 al inicio de la fase folicular y una menor concentración de P4 durante la fase luteal, respecto al mismo tratamiento con esponjas (FGA), durante el fotoperiodo creciente.

BIBLIOGRAFÍA

7 Bibliografía

- Abdoli R, Zamani P, Mirhoseini SZ, Ghavi Hossein-Zadeh N, Nadri S (2016) A review on prolificacy genes in sheep. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 51, 631-637.
- Abecia A, Forcada F (2011) Bases fisiológicas de la reproducción en la oveja. En: *Manejo reproductivo en ganado ovino*, Ed. Servet. Grupo Asís Biomedica, S.L. Zaragoza, España. 216 Pp.
- Abecia JA (1992) Efecto del plano de alimentación y del nivel de reservas sobre los parámetros reproductivos en ovejas de raza Rasa Aragonesa durante el anoestro estacionario y al inicio de la época de actividad sexual. Tesis de doctorado, Univ. de Zaragoza, 309 págs.
- Abecia JA, Forcada F, Gonzalez-Bulnes A (2011) Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 27, 67-79.
- Abecia JA, Forcada F, Gonzalez-Bulnes A (2012) Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal reproduction science* 130, 173-179.
- Acritopoulou S, Haresign W (1980) Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 alpha given at different stages of the oestrous cycle. *Journal of reproduction and fertility* 58, 219-221.
- Acritopoulou S, Haresign W, Foster JP, Lamming GE (1977) Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injection of an analogue of prostaglandin F-2alpha. *Journal of reproduction and fertility* 49, 337-340.
- Adams GP (1999) Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 54, 17-32.
- Adams GP, Matteri RL, Ginther OJ (1992) Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *Journal of reproduction and fertility* 96, 627-640.
- Alifakiotist T, Michailidis I, Gavriliadis G (1982) Induced breeding in anoestrous milking ewes on dairy breed: Comparison of norgestomet medroxyprogesterone and fluorogestone in two regimes of PMSG. *Theriogenology* 17, 603-610.
- Alonso de Miguel M, Cognié Y (1980) Variaciones de la actividad sexual de la oveja «Rasa Aragonesa» durante el período del anoestro estacionario. Efecto de la edad, de las condiciones climáticas y, de la presencia de machos. IX Congreso Intern. de Reprod. Anim. e IA, Madrid, 16-20 de junio, Vol. IV: 387-392.
- Amer HA, Hazzaa AM (2009) The effect of different progesterone protocols on the reproductive efficiency of ewes during the non-breeding season. *Veterinarski arhiv* 79, 19-30.
- Amiridis GS, Cseh S (2012) Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. *Animal reproduction science* 130, 152-161.
- Ammar-Khodja F, Brudieux R (1982) Seasonal variations in the cyclic luteal ovarian activity in the Tadmit ewe in Algeria. *Journal of reproduction and fertility* 65, 305-311.

- Anel L, Kaabi M, Abroug B, Alvarez M, Anel E, Boixo JC, de la Fuente LF, de Paz P (2005) Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology* 63, 1235-1247.
- Arthur GH, Pearson DE (1989) Normal reproductive function. En: Saunders W.B. (ed) *Veterinary Reproduction and Obstetrics*: 22-24. Balliere Tindal, London.
- Ataman MB, Akoz M, Akman O (2006) Induction of synchronized oestrus in akkaraman cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons : the use of short-term and long-term progesterone treatments. *Revue Méd Vét* 157, 257-260.
- Avdi M, Vergos V, Alifakiotis T, Michailidis I, Driancourt MA, P. C (1988) Seasonal variations of oestrous behaviour and ovulation rate in Chios and Semes ewes in Greece. *Proc. 3rd World Cong on Sheep and Beef Cattle París*, Ed INRA Publ., Pars, 19-23 de junio, Vol. 2: 647-649.
- Barillet F, Marie C, Jacquin M, Lagriffoul G, Astruc JM (2001) The French Lacaune dairy sheep breed: use in France and abroad in the last 40 years. *Livestock Production Science* 71, 17-29.
- Barrett DM, Bartlewski PM, Cook SJ, Rawlings NC (2002) Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to PGF $_{2\alpha}$ given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology* 58, 1409-1424.
- Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL (2011) Reproductive cycles in sheep. *Animal reproduction science* 124, 259-268.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC (1999) An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52, 115-130.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC (2000) An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology* 54, 229-245.
- Baserga R (1985) *The biology of cell reproduction*. Harvard University Press, Cambridge, M.A.
- Blaschi W, Lunardelli PA, Marinho LS, Max MC, Santos GM, Silva-Santos KC, Melo-Sterza FA, Baldassarre H, Rigo TR, Seneda MM (2014) Effects of progestagen exposure duration on estrus synchronization and conception rates of crossbreed ewes undergoing fixed time artificial insemination. *J Vet Sci* 15, 433-437.
- Bodin L, Di Pascuale E, Fabre S, Bontoux M, Monget P, Persani L, Mulsant P (2007) A novel mutation in the bone morphogenetic proteína 15 gene causing defective protein secretion is associated with both increased ovulation rate and sterility in Lacaune sheep. *Endocrinology* 148 (1), 393-400.
- Boland MP, Gordon I, Kelleher DL (1978) The effect of treatment .by prostaglandin analogue (ICI-80996) or progestagen (SC-9880) on ovulation and fertilization in cyclic ewes. *Journal of Agricultural Science* 91, 727-730.
- Bowen-Shauver JM, Telleria CM (2003) Luteal regression: a redefinition of the terms. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* 1, 28.
- Braden AWH, Lamond R, Radford HM (1960) Control of the time of ovulation in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 11(3), 389-401.

- Buxadé C (1996) Zootecnia. Bases de Producción Animal. Producción ovina, Vol VIII. 1ª ed. Mundi-Prensa Libros, Madrid.
- Cahill LP, Mauleón P (1981) A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. *J. Reprod. Fertil.* 61: 201-206.
- Cam MA, Kuran M (2003) Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 post mating on fetal growth and reproductive performance of sheep. *Animal reproduction science* 80, 81-90.
- Camero Muñoz P (1999) Cuaderno de la explotación de ovino (Servicio Agrario de Caja Duero).
- Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Webb R (1995) Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 49, 335-350.
- Chemineau P, Bodin L, Migaud M, Thiery JC, Malpaux B (2010) Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 45 Suppl 3, 42-49.
- Chemineau P, Guillaume D, Migaud M, Thiery JC, Pellicer-Rubio MT, Malpaux B (2008) Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 43 Suppl 2, 40-47.
- Chemineau P, Vandaele E, Brice G, Jardon C (1991) Utilisation des implants de melatonine pour l'amélioration des performances de reproduction chez la brebis. *Rech. Méd Vét.*, 167(3/4): 227-239.
- Childs GV (2006) Gonadotropes and lactotropes. In: *The physiology of reproduction*, Volume 1. J.D., Neill (Ed.). Raven Press, Ltd., New York. pp. 1483-1580.
- Clarke IJ, Pompolo S (2005) Synthesis and secretion of GnRH. *Anim. Reprod. Sci.* 88: 29-55.
- Contreras-Solis I, Vasquez B, Diaz T, Letelier C, Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A (2009) Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and "male effect". *Theriogenology* 71, 1018-1025.
- Cox JF, Allende R, Lara E, Leiva A, Díaz T, Dorado J, Saravia F (2012) Follicular dynamics, interval to ovulation and fertility after AI in short-term progesterone and PGF2 α oestrous synchronization protocol in sheep. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 47, 946-951.
- Crosby TF, Boland MP, Gordon I (1991) Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrous and pregnancy rates in ewes. *Animal reproduction science* 24, 109-118.
- Daniel JA, Sterle SW, McFadin-Buff EL, Keisler DH (2001) Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. *Theriogenology* 56, 105-110.
- Daza A, Blanco PJ (1990) Producción de ganado ovino de carne en España. Razas y cruces. Su actual problemática. *Mundo Ganadero*. Madrid.
- Daza Andrada A (2002) Mejora de la productividad y planificación de explotaciones ovinas. S.A. Agrícola Española.
- Delgadillo JA, Gelez H, Ungerfeld R, Hawken PA, Martin GB (2009) The 'male effect' in sheep and goats--revisiting the dogmas. *Behav Brain Res* 200, 304-314.

- Delgadillo JA, Martin GB (2015) Alternative methods for control of reproduction in small ruminants: A focus on the needs of grazing industries. *Animal Frontiers* 5, 57-65.
- DeNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PC, Parkinson TJ (2008) Melatonin-improved reproductive performance in sheep bred out of season. *Animal reproduction science* 109, 124-133.
- Douglas RH, Ginther OJ (1973) Luteolysis following a single injection of prostaglandin F₂alpha in sheep. *Journal of animal science* 37, 990-993.
- Downing JA, Scaramuzzi RJ (1991) Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 43, 209-227.
- Driancourt MA (1991) Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*. 35: 55-79.
- Driancourt MA, Philipon P, Locatelli A, Jacques E, Webb R (1988) Are differences in FSH concentration involved in the control of ovulation rate in Romanov and Ile-de-France ewes? *J. Reprod. Fertil.* 83: 509-516.
- Dutt RH, Casida LE (1948) Alteration of the estrual cycle in sheep by use of progesterone and its effect upon subsequent ovulation and fertility. *Endocrinology* 43, 208-217.
- Dwyer CM, Bunger L (2012) Factors affecting dystocia and offspring vigour in different sheep genotypes. *Preventive veterinary medicine* 103, 257-264.
- Einer-Jensen N, Hunter R (2005) Counter-current transfer in reproductive biology. *Reproduction* 129, 9-18.
- Elvira L, Hernandez F, Cuesta P, Cano S, Gonzalez-Martin JV, Astiz S (2013) Factors affecting the lactation curves of intensively managed sheep based on a clustering approach. *The Journal of dairy research* 80, 439-447.
- Espey LL (1994) Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biology of reproduction* 50, 233-238.
- Evans AC (2003) Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 38, 240-246.
- Evans AC, Duffy P, Crosby TF, Hawken PA, Boland MP, Beard AP (2004) Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronisation and fertility during the breeding season in ewes. *Animal reproduction science* 84, 349-358.
- Evans AC, Duffy P, Hynes N, Boland MP (2000) Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 53, 699-715.
- FAOSTAT (2015) Disponible desde internet: <http://www.fao.org/statistics/databases/en/> [consulta: agosto de 2016].
- FEAGAS (2010) Razas de ganado ovino. En Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España (Federación Española Asociaciones Ganado Selecto). Disponible desde internet: <http://new.feagas.com/razas/ovino/segureno/> [consulta: julio de 2016].
- Field PA (1991) Relaxin and other luteal secretory peptides: cell localization and function in the ovary. In: *Ultrastructure of the ovary*. G. Familiari, S. Makabe and P.M. Motta (Eds.). Kluwer Academic Press, Boston. Pp. 177-198.
- Fierro S, Vinales C, Olivera-Muzante J (2016) Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized

- with different prostaglandin-based protocols. *Animal reproduction science* 167, 74-82.
- Fink G (1988) Gonadotrophin secretion and its control. In: *The physiology of reproduction*, Volume 2. J.D., Neill (Ed.). Raven Press, Ltd., New York. Pp. 1349-1377.
- Fitzgerald JA, Ruggles AJ, Stellflug JN, Hansel W (1985) A seven-day synchronization method for ewes using medroxyprogesterone acetate (MAP) and prostaglandin F2 alpha. *Journal of animal science* 61, 466-469.
- Fleisch A, Bollwein H, Piechotta M, Janett F (2015) Reproductive performance of Lacaune dairy sheep exposed to artificial long days followed by natural photoperiod without and with additional progestagen treatment during the nonbreeding season. *Theriogenology* 83, 320-325.
- Flint APF, Sheldrick EL, Theodosis DT, Wooding FBP (1986) Ovarian peptides: rol of luteal oxytocin in the control of estrous cyclicity in ruminant. *J. Anim. Sci.* 62 (Suppl. 2): 62-71.
- Flox JR, Daza A (2000) Mejora de la productividad en ganado ovino. *Revista Ganadería* ISSN 1695-1123. 0: 10-17. .
- Folch J, Alabart JL (2000) Características reproductivas de la oveja Rasa Aragonesa. *Ovis* 68, 27-36.
- Forcada F, Abecia JA, Sierra I (1992) Seasonal changes in oestrus activity and ovulation rate in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different body condition levels. *Small Ruminant Research* 8, 313-324.
- Fortune JE (2003) The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim Reprod Sci.* 78: 135-163.
- Fragkou AI, Mavrogianni SV, Fthenakis GC (2010) Diagnostic investigation of cases of deaths of newborn lambs. *Small Ruminant Research* 92(1):41-44.
- Freitas VJF, Baril G, Martin GB, Saumande J (1997) Physiological limits to further improvement in the efficiency of oestrous synchronization in goats. *Reproduction, fertility, and development* 9, 551-556.
- Fuentes FC, Sánchez JM, Gonzalo C (2000) *Manual de etnología animal: razas de rumiantes*. 1ª ed., Murcia, Diego Marín Librero editor, 494 págs: 259-262.
- Fukui Y, Ishikawa D, Ishida N, Okada M, Itagaki R, Ogiso T (1999) Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four different intravaginal devices during the breeding season. *Journal of Reproduction and Development* 45, 337-343.
- García Álvarez-Coque JM (2004) La Reforma de la PAC y el futuro de la ayudas agrarias. *Revista Valenciana de Economía y Hacienda.* 11: 164-183. .
- Gardón JC, Escribano B, Astiz S, Ruiz S (2015) Synchronization protocols in Spanish Merino Sheep: reduction in time to estrus by the addition of eCG to a progesterone-based estrus synchronization protocol. *Ann Anim Sci* 15, 409-418.
- Gerlach T, Aurich JE (2000) Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Animal reproduction science* 58, 197-213.
- Geschwind I, Dewey R (1968) Dynamics of luteinising hormone (LH) secretion in the cycling ewe: a radioimmunoassay study. *Proc Soc Exp Biol Med.* 129: 451-455.

- Gibbons JR, Wiltbank MC, Ginther OJ (1997) Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biology of reproduction* 57, 1066-1073.
- Gibbons JR, Wiltbank MC, Ginther OJ (1999) Relationship between follicular development and the decline in the follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biology of reproduction* 60, 72-77.
- Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K (2000) Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles. *Biology of reproduction* 62, 920-927.
- Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC (1995) Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43, 689-703.
- Godfrey RW, Collins JR, Hensley EL, Wheaton JE (1999) Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 51, 985-997.
- Gomez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Montoro V, Garde J, Pons P, Gonzalez-Bulnes A, Lopez-Sebastian A (2007) Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI. *Small Ruminant Research* 71, 117-122.
- Gonzalez-Anover P, Encinas T, Veiga-Lopez A, Ammoun I, Contreras I, Ros JM, Ariznavarreta C, Tresguerres JA, Gonzalez-Bulnes A (2007) Effects of breed on follicular dynamics and oestradiol secretion during the follicular phase in sheep. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 42, 29-33.
- Gonzalez-Bulnes A, García-García RM, Castellanos V, Santiago-Moreno J, Ariznavarreta C, Domínguez V, Lopez-Sebastian A, Tresguerres JA, Cocero MJ (2003) Influence of maternal environment on the number of transferable embryos obtained in response to superovulatory FSH treatments in ewes. *Reprod Nutr Dev* 43, 17-28.
- Gonzalez-Bulnes A, Souza CJ, Campbell BK, Baird DT (2004) Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Animal reproduction science* 84, 107-119.
- Gonzalez-Bulnes A, Veiga-Lopez A, Garcia P, Garcia-Garcia RM, Ariznavarreta C, Sanchez MA, Tresguerres JA, Cocero MJ, Flores JM (2005) Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology* 63, 2523-2534.
- Gonzalez-Garcia E, Tesniere A, Camous S, Bocquier F, Barillet F, Hassoun P (2015) The effects of parity, litter size, physiological state, and milking frequency on the metabolic profile of Lacaune dairy ewes. *Domestic animal endocrinology* 50, 32-44.
- Goodman AL, Hodgen GD (1983) The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent progress in hormone research* 39, 1-73.
- Goodman RL (1994) Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. En: Knobil E., Neill J.D. (eds) *The physiology of reproduction*: 659-709. Raven Press Ltd.
- Gordon I (1996) *Controlled Reproduction in Sheep and Goats*. (1^a edn), Controlled reproduction in farm animals.

- Gore-Langton RE, Armstrong DT (1994) Follicular steroidogenesis and its control. En: The physiology of reproduction, Volume 1. J.D., Neill (Ed.). Raven Press, Ltd., New York. Pp. 331-385.
- Greyling JPC, Brink WCJ (1987) Synchronization of oestrus in sheep: The use of controlled internal drug release (CIDR) dispensers. *South African Journal of Animal Science* 17, 128-132.
- Greyling JPC, Westhuysen JM, Van der and Neikerk CH (1979) The synchronization of oestrus in sheep. 1. Dosage and time of prostaglandin administration following progestagen pretreatment. . *South African Journal of Animal Science* 9, 185-192.
- Gungor O, Cenesiz M, Pancarci SM, Yildiz S, Kaya M, Kacar C, Ozyurtlu N, Gurbulak K (2007) Effects of different progesterone releasing intravaginal devices on estrous synchronization and LH surge in fat-tailed ewes during non-breeding season. . *Medycyna Weterynaria* 63, 1316-1319.
- Gutierrez-A N (1985) Economic constraints on sheep and goat production in developing countries. In *FAO Small ruminant production in the developing countries*, Timon, V.M., Hanrahan, J.P., eds. (Sofia, Bulgaria, FAO).
- Hamra AH, McNalley JW, Marcek JM, Carlson KM, Wheaton JE (1989) Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrous ewes. *Animal reproduction science* 18, 219-226.
- Hansel W, Convey EM (1983a) Physiology of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 57 (Suppl. 2): 404-424.
- Hansel W, Convey EM (1983b) Physiology of the estrous cycle. *Journal of animal science* 57 Suppl 2, 404-424.
- Haresign W (1981) The influence of nutrition on reproduction in the ewe 1. Effects on ovulation rate, follicle development and luteinizing hormone release. *Animal Production* 32, 197-202.
- Haresign W, Peters AR, Staples LD (1990) The effect of melatonin implants on breeding activity and litter size in commercial sheep flocks in the UK. *Anim Prod.*, 50: 111-121.
- Hashemi M, Safdarian M, Kafi M (2006) Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research* 65, 279-283.
- Hawken PA, Beard AP, Esmaili T, Kadokawa H, Evans AC, Blache D, Martin GB (2007) The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH secretion in cyclic ewes during the breeding season. *Theriogenology*. 68: 56-66.
- Henderson DC, Robinson JJ (2007) The reproductive cycle and its manipulation. En: *Diseases of sheep*. Edited by I. D. Aitken. 4th ed. Blackwell Publishing Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK. Pp 43-53.
- Hernandez F, Elvira L, Gonzalez-Martin JV, Gonzalez-Bulnes A, Astiz S (2011) Influence of age at first lambing on reproductive and productive performance of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *The Journal of dairy research* 78, 160-167.
- Holmoy IH, Waage S (2015) Time trends and epidemiological patterns of perinatal lamb mortality in Norway. *Acta veterinaria Scandinavica* 57, 65.
- Hsueh AJW, Adashi EY, Jones PBC, Welsh TH (1984) Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cell. *Endocrine Rev.* 5: 76- 127.

- Jablonka-Shariff A, Grazul-Bilska AT, Redmer DA, Reynolds LP (1993) Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Endocrinology* 133, 1871-1879.
- Jounou R, Molina E, Villalba D, Boleda J (2004) Crecimiento en corderos de raza Lacaune cárnica: adaptación a las condiciones productivas de la zona de Lleida. *SEOC*. XXIX: 59-60.
- Juengel JL, Niswender GD (1999) Molecular regulation of luteal progesterone synthesis in domestic ruminants. *J. Reprod. Fertil.* 54 (Suppl.): 193-205.
- Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE (1984) Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent progress in hormone research* 40, 185-232.
- Karsch RJ, Goodman RL, S.L. L (1980) Feed-back basis of seasonal breeding: test of an hypothesis. *J. Reprod. Fert.*, 58: 521-531.
- Kennaway DJ, Dunstan EA, Staples LD (1987) Photoperiodic control of the onset of breeding activity and fecundity in ewes. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 34, 187-199.
- Kennaway DJ, Sanford LM, Godfrey B, Friesen HG (1983) Patterns of progesterone, melatonin and prolactin secretion in ewes maintained in four different photoperiods. *The Journal of endocrinology* 97, 229-242.
- Keyes P, Wiltbank C (1988) Endocrine regulation of the corpus luteum. *Annual Reviews Physiology.* 50: 465-482.
- Khalidi G (1984) Variations saisonnières de l'activité ovarienne, du comportement d'œstrus et de la durée de l'anœstrus post-partum des femelles ovines de la race Barbarine: influences du niveau alimentaire et de la présence du male. Tesis de Doctorado, Univ. des Sci. et Tech. du Languedoc, Montpellier, 168 pgs.
- Knickerbocker JJ, Wiltbank MC, Niswender GD (1988) Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. *Dom. Anim. Endocrinol.* 5: 91-107.
- Knights M, Maze TD, Bridges PJ, Lewis PE, Inskoop EK (2001) Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrous ewes. *Theriogenology* 55, 1181-1191.
- Koyuncu M, Altıncekic SO (2016) The Effects of Short-Medium and Long-Term Applications of Fluorogestone Acetate (FGA) on Reproductive Performance of Kivircik Ewes at The Onset of The Breeding Season. *J Agr Sci* 26, 360-365.
- Lahoz B, Alabart JL, Folch J, Calvo JH, Martínez-Royo A, Fantova E (2010) Genes mayores para el incremento de la prolificidad. *Albéitar.* 136: 20-21. .
- Legan SJ, Karsch FJ (1979) Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biology of reproduction* 20, 74-85.
- Legan SJ, Karsch FJ (1980) Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: modulation of the negative feedback action of estradiol. *Biology of reproduction* 23, 1061-1068.
- Letelier CA, Contreras-Solis I, Garcia-Fernandez RA, Ariznavarreta C, Tresguerres JA, Flores JM, Gonzalez-Bulnes A (2009) Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology* 71, 676-682.

- Letelier CA, Contreras-Solis I, Garcia-Fernandez RA, Sanchez MA, Garcia-Palencia P, Sanchez B, Ariznavarreta C, Tresguerres JA, Flores JM, Gonzalez-Bulnes A (2011) Effects of oestrus induction with progestagens or prostaglandin analogues on ovarian and pituitary function in sheep. *Animal reproduction science* 126, 61-69.
- Leyva V, Buckrell BC, Walton JS (1998) Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50, 395-416.
- López Sebastián A (1989) Estacionalidad de la reproducción. *OVIS Núm 1*: 59-73..
- Lopez-Sebastian A, Gonzalez de Bulnes A, Santiago Moreno J, Gomez-Brunet A, Townsend EC, Inskeep EK (1997) Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Paris ewes. *Animal reproduction science* 48, 279-291.
- López-Sebastián A, Santiago-Moreno J, González-Bulnes A, García López M (1993) Aspectos característicos de la fisiología reproductiva de la oveja. *Revista científica*, Vol III. Núm 2. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid, España.
- Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL, Thatcher WW (1992) Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70: 3615-3626.
- Macri A, Purificato I, Tollis M (2006) Availability of veterinary medicinal products for food producing minor animal species in the Mediterranean area. *Annali dell'Istituto superiore di sanita* 42, 422-426.
- MAGRAMA (2015) Requisitos y condicionantes de la producción ganadera. Disponible desde internet: <http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/requisitos-y-condicionantes-de-la-produccion-ganadera/ganaderia-y-medio-ambiente/> [consulta: julio de 2016].
- Malpoux B, Thiery JC, Chemineau P (1999) Melatonin and the seasonal control of reproduction. *Reprod Nutr Dev* 39, 355-366.
- Malpoux B, Viguie C, Skinner DC, Thiery JC, Chemineau P (1997) Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain research bulletin* 44, 431-438.
- Malpoux B, Viguie C, Skinner DC, Thiéry JC, Pelletier J, Chemineau P (1996) Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science* 42, 109-117.
- Manes J, Campero C, Hozbor F, Alberio R, Ungerfeld R (2015) Vaginal histological changes after using intravaginal sponges for oestrous synchronization in anoestrous ewes. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 50, 270-274.
- Manes J, Fiorentino MA, Kaiser G, Hozbor F, Alberio R, Sanchez E, Paolicchi F (2010) Changes in the vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Ruminant Research* 94, 201-204.
- Manes J, Hozbor F, Alberio R, Ungerfeld R (2014) Intravaginal placebo sponge affect negatively the conception rate in sheep. *Small Ruminant Research* 120, 108-111.
- Manes J, Rios G, Fiorentino MA, Ungerfeld R (2016) Vaginal mucus from ewes treated with progestogen sponges affects quality of ram spermatozoa. *Theriogenology* 85, 856-861.

- Martemucci G, D'Alessandro AG (2011) Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF(2alpha), GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal reproduction science* 123, 32-39.
- Martin GB, Kadokawa H (2006) "Clean, green and ethical" animal production. Case study: reproductive efficiency in small ruminants. *J Reprod Dev* 52, 145-152.
- Martin GB, Milton JT, Davidson RH, Banchero Hunzicker GE, Lindsay DR, Blache D (2004) Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal reproduction science* 82-83, 231-245.
- Martin GB, Price CA, Thiery JC, Webb R (1988) Interactions between inhibin, oestradiol and progesterone in the control of gonadotrophin secretion in the ewe. *Journal of reproduction and fertility* 82, 319-328.
- Martinez-Tinajero JJ, Ruiz-Herluer I, Montanez-Valdez G, Martinez-Priego G, Velasco-Zebadua ME, Izaguirre F (2011) Reproductive performance in Dorper ewes synchronized at estrus during non-breeding season in tropical conditions. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10, 221-223.
- McCracken JA, Carlson JC, Glew ME, Goding JR, Baird DT, Green K, Samuelsson B (1972) Prostaglandin F₂ identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nat New Biol* 238, 129-134.
- McCracken JA, Glew ME, Scaramuzzi RJ (1970) Corpus Luteum Regression Induced by Prostaglandin F₂α. *JOURNAL OF CLINICAL ENDOCRINOLOGY & METABOLISM* 30(4):544-6.
- McNatty KP, Heath DA, Clark Z, Reader KL, Juengel JL, Pitman J (2016) Ovarian follicular characteristics in sheep with multiple fecundity genes. *Reproduction*.
- McNeilly AS (1984) Changes in FSH and the pulsatile secretion of LH during the delay in oestrus induced by treatment of ewes with bovine follicular fluid. *Journal of reproduction and fertility* 72, 165-172.
- Menassol JB, Collet A, Chesneau D, Malpaux B, Scaramuzzi RJ (2012) The interaction between photoperiod and nutrition and its effects on seasonal rhythms of reproduction in the ewe. *Biology of reproduction* 86, 52.
- Menchaca A, Vilarino M, Crispo M, de Castro T, Rubianes E (2010) New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants. *Reproduction, fertility, and development* 22, 113-118.
- Meuret M (2006) Les pratiques pastorales entre temps court de l'alimentation des troupeaux et temps long des ressources et des milieux. In *Actualité et modernité du pastoralisme* (Séance, CR Académie d'agriculture).
- Moeini MM, Alipour F, Sanjabi MR (2013) Efficacy of CIDR or FGA sponges with hCG treatments on the conception rate and prolificacy in Lori ewes out of the breeding season. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 3, 521-525.
- Moeini MM, Karami H, Mikaeili E (2009) Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. *Animal reproduction science* 114, 109-114.
- Mollard A, Chatelier, V., Codron, J.M., Dupraz, P., Jaccquet, F. (2002) Vers une gestion intégrée agriculture-environnement. Diagnostic, solutions, perspectives. In *Agriculture, territoire, environnement dans les politiques européennes*(ATEPE) (Dossier de l'INRA)..

- Monget P, Monniaux D (1995) Growth factors and the control of folliculogenesis. *J Reprod Fertil* 49 (Suppl.), 321-333.
- Moradi Kor N, Khanghah KM, Veisi A (2012) Efficiency of short time protocols based on combined FGA, PGF2 α , GnRH and eCG treatments on oestrus synchronization and reproductive performance of kermani ewes during the breeding season. *Int J Biol Med Res.*; 3(3): 1966-1970.
- Murray JF, Downing JA, Evans G, Findlay JK, Scaramuzzi RJ (1992) Epidermal growth factor acts directly on the ovary in vivo to inhibit oestradiol-17P and inhibin secretion and enhance progesterone secretion. *Journal of Endocrinology* 137, 253-264.
- Naderipour H, Yadi J, Shad AG, Sirjani MA (2012) The effects of three methods of synchronization on estrus induction and hormonal profile in Kalkuhi ewes: A comparison study. *African Journal of Biotechnology* 11, 530-533.
- Naim PC, M.; Gibbons, A. (2009) Timed artificial insemination with ram chilled semen. *Archivos de Zootecnia*, v.58, p.435-440.
- Nancarrow CD, Hill JL (1995) Oviduct proteins in fertilization and early embryo development. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 49, 3-13.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW (2000) Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev* 80, 1-29.
- Niswender GD, Suter DE, Sawyer HR (1981) Factors regulating receptors for LH on ovine luteal cells. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 30, 183-189.
- O'Callaghan D, Donovan A, Sunderland SJ, Boland MP, Roche JF (1994) Effect of the presence of male and female flockmates on reproductive activity in ewes. *Journal of reproduction and fertility* 100, 497-503.
- O'Mary CC, Pope AL, Casida LE (1950) The use of progesterone in the synchronization of the estrual periods in a group of ewes and the effect on their subsequent lambing records. *Journal of animal science* 9, 499-503.
- Omontese BO, Rekwot PI, Makun HJ, Obidi JA, Rwuaan JS, Chiezey NP (2010) Evaluation of EAZI-BreedTM CIDR and FGA-30 intravaginal sponges as synchronizing agents in prepartum Red Sokoto does. *J Vet Res* 3, 64-69.
- Ortavant R, Loir M (1978) The environment as a factor in reproduction in farm animals. 4th World Cong. of Anim Prod., Buenos Aires, 20-26 de abril, Vol. 1, 423-451.
- Owen JB (1987) Group breeding schemes and simplified recording in sheep improvement. En: *New techniques in sheep production*. Fayez I.; Marai M.; Owen, JB. Ed. Butterworth & Co. (Publishers) Ltd. 302 pgs: 157-162.
- Ozyurtlu N, Ay Serhan S, Kucukaslan I, Gungor O, Aslan S (2011) Effect of subsequent two short-term, short-term, and long-term progestagen treatments on fertility of Awassi ewes out of the breeding season. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.* 58, 105-109.
- Padmanabhan VK, F.J.; Lee, J.S. (2002) Hypothalamic, pituitary and gonadal regulation of FSH. *Reproduction*. 59: 67-82.
- Pardos L, Fantova E (2007) Importancia del control de gestión técnico-económico en las ganaderías de ovino de carne. Influencia de los diferentes factores productivos en los resultados económicos. En: *Producción de ovino de carne en medio semiárido*. Edita Gobierno de Aragón. Pp. 17-29.

- Parraguez VH, Blank O, Muñoz C, Latorre E (2000) Inseminación artificial en ovinos. . Monografías de Medicina Veterinaria 20, Disponible en: <<http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/5019/4903%3E>. Fecha de acceso: 5017 dic. 2016.
- Peralta JGS, M.T.; García, E.O. (2007) Oestrus synchronization of ewes, using norgestomet combined with PGF 2α and hCG in the reproductive season. *Research Journal of Animal Sciences*; 1:44-48.
- Perret G, Mercadier M, Bodin L (1995) Organization of sheep breeding in France – suckling breeds-. III. The Lacaune meat programme. *Options Méditerranéennes*. 11: 49-59.
- Phillips DJ, de Kretser DM (1998) Follistatin: a multifunctional regulatory protein. *Frontiers in neuroendocrinology* 19, 287-322.
- Picton HM, Tsonis CG, McNeilly AS (1990) FSH causes a time-dependent stimulation of preovulatory follicle growth in the absence of pulsatile LH secretion in ewes chronically treated with gonadotrophin-releasing hormone agonist. *The Journal of endocrinology* 126, 297-307.
- Pietroski ACCA, Brandão FZ, Souza JMG, Fonseca JF (2013) Short, medium or long-term hormonal treatments for induction of synchronized estrus and ovulation in Saanen goats during the nonbreeding season. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42, 168-173.
- Pineda MH (1989) Sistema reproductor de la hembra. En: *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. L.E. McDonald (Ed.). 4ta. Edición, Interamericana Mc Growth-Hill S.A. México D.F., México. Pp. 294-344.
- Piper PJ, Vane JR, Wyllie JH (1970) Inactivation of prostaglandins by the lungs. *Nature* 225, 600-604.
- Pope WF, Cárdenas H (2004) Sensitivity of sheep to exogenous prostaglandin F 2 α early in the estrous cycle. *Small Ruminant Research* 55(1), 245-248.
- Poux X, Beaufoy G, Bignal E, B. R (2009) Les systèmes ovins et caprins de l'Union européenne: implications pour l'environnement. *Options Mediterraneennes Serie A* 91, 113-123.
- Powell MR, Kaps M, Lamberson WR, Keisler DH (1996) Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. *Journal of animal science* 74, 2292-2302.
- Price CA, Webb R (1989) Ovarian responses to hCG treatment during the estrous cycle in heifers. *J Reprod Fertil* 86, 303-308.
- Rawlings NC, Cook SJ (1993) LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Anim Reprod Sci* 30, 289-299.
- Reynolds JEF (1996) *Martindale, the extra pharmacopoeia*. (31st edn), Royal Pharmaceutical Society, London. Royal Pharmaceutical Society.
- Reynolds LP, Grazul-Bilska AT, Killilea SD, Redmer DA (1994) Mitogenic factors of corpora lutea. *Progress in growth factor research* 5, 159-175.
- Reynolds LP, Redmer DA (1999) Growth and development of the corpus luteum. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 54, 181-191.
- Rhodes L, Nathaniel PW (1988) Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal medrox- yprogesterone sponges for estrus synchronization in ewes. . *Theriogenology* 30, 831-836.
- Robertson DM (1992) Follistatin/activin-binding protein. *Trends Endocrinol Metab* 3, 65-68.

- Robic Z, Liker B, Rupic V (1992) Duration of anestrus in Pramenka and Romanov ewes in Yugoslavia. *Journal of animal science* 70, 13-17.
- Robinson JE, Karsch FJ (1987) Photoperiodic history and a changing melatonin pattern can determine the neuroendocrine response of the ewe to daylength. *Journal of reproduction and fertility* 80, 159-165.
- Robinson TJ (1965) Use of Progestagen-Impregnated Sponges Inserted Intravaginally or Subcutaneously for the Control of the Oestrous Cycle in the Sheep. *Nature* 206, 39-41.
- Romano JE (2004) Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research* 55, 15-19.
- Romero-González LJ, Muñoz-Hurtado B, Fontaneda-López I, López-Díaz MC (2008) Lengua Azul: Situación de la enfermedad en España y Europa. *SEOC. XXXIII*: 29-39.
- Romeu A, Molina I, Tresguerres JA, Pla M, Peinado JA (1995) Effect of recombinant human luteinizing hormone versus human chorionic gonadotrophin: effects on ovulation, embryo quality and transport, steroid balance and implantation in rabbits. *Human reproduction* 10, 1290-1296.
- Rosa HJD, Bryant MJ (2003) Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research* 48, 155-171.
- Rowland MT, T.N. (1989) *Clinical pharmacokinetics: concepts and application*. Lea and Febiger.
- Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B (2003) Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2alpha. *Animal reproduction science* 78, 47-55.
- Sánchez-Rodríguez M (2011) Sector ovino lechero. In *Máster oficial de la Universidad de Córdoba en zootecnia y gestión sostenible: ganadería ecológica e integrada*.
- Santamaría C, Gárriz I, Rodríguez A, Díez de Ulzurrun C, Ochoa J (1998) Ovino de carne: Resultados económicos de diferentes sistemas de producción. *SEOC. XXIII*: 259-263. .
- Sareminejad P, Tabatabaei S, Mamouei M, Mirzadeh K, Boujarpour M (2014) The Effect of Short and Long Term Medroxy Progesterone Acetate (MAP) Sponge Treatment on Reproductive Performance during the Non Breeding Season of Arabia Ewes. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 4, 747-751.
- Sawyer GJ (1983) The influence of radiant heat load on reproduction in the Merino ewe. *Les Colloques de l'INRA, N° 20, Ed. INRA Publ., Paris*, 225-235. .
- Scaramuzzi RJ, Adams NR, Baird DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GB, McNatty KP, McNeilly AS, et al. (1993) A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, fertility, and development* 5, 459-478.
- Schrick FN, Surface RA, Pritchard JY, Dailey RA, Townsend EC, Inskeep EK (1993) Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biology of reproduction* 49, 1133-1140.
- Seeburg PH, Mason AJ, Stewart TA, Nikolics K (1987) The mammalian GnRH gene and its pivotal role in reproduction. *Recent Prog. Horm. Res.* 43: 69-98.

- Senger PL (2003) Reproductive cyclicity. Terminology and basic concepts. En: Pullman W.A. (ed) Pathways to Pregnancy and Parturition, 2a Ed: 144-163. Current Conceptions, Inc.
- Senger PL (2005) Pathways to pregnancy and parturition. (2nd revised edn).
- Shahneh AZ, Sadeghipanah H, Javaheri H, Emami-mibody MA (2008) Effects of equine chorionic gonadotropin (eCG) administration and flushing on reproductive performance in Nadooshan goats of Iran. *African Journal of Biotechnology* 7, 3373-3379.
- Sierra I (1986) La raza sintética Salz. Monografía ONE. Ovino. 2ª edición. 53-60. .
- Sierra I (1989) Cruzamiento de la especie ovina. *Ovis*. 4: 47-73.
- Smith MF, McIntush EW, Smith GW (1994) Mechanisms associated with corpus luteum development. *Journal of animal science* 72, 1857-1872.
- Sosa C, Gonzalez-Bulnes A, Abecia JA, Forcada F, Meikle A (2010) Short-term undernutrition affects final development of ovulatory follicles in sheep synchronized for ovulation. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 45, 1033-1038.
- Southcott WH, Braden AW, Moule GR (1962) Synchronization of oestrus in sheep by orally active progesterone derivative. *Australian Journal of Agricultural Research* 13, 901-906.
- Souza CJ, Campbell BK, Baird DT (1997) Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology of reproduction* 56, 483-488.
- Staples LD, McPhee S, Reeve J, Williams AH (1992) Practical applications for controlled release melatonin implants in sheep. En *Advances in pineal research*, Vol. 6A, A. Foldes, R.I. Reiter, eds., John Libbey, Londres.
- Stellflug JN, Weems YS, Weems CW (1997) Clinical reproductive physiology of ewes. En: *Current therapy in large animal theriogenology*, Youngquist, RS (Ed) WB Saunders Co Philadelphia, Pennsylvania Pp 594-598.
- Suárez IM (2010) Comparación de la efectividad de tres protocolos de sincronización de celo en ovejas de raza merina [Tesis]. Córdoba: Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria.
- Swelum AA, Alowaimer AN, Abouheif MA (2015) Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology* 84, 498-503.
- Thatcher WW, Meyer MD, Danet-Desnoyers G (1995) Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl.* 49:15-28.
- Thimonier J (1981) Control of seasonal reproduction in sheep and goats by light and hormones. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 30, 33-45.
- Thimonier J, Mauleon P (1969) Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. *Ann. Biol. Anim Biochim. Biophys.*, 9: 233-250.
- Titi HH, Kridli RT, Alnimer MA (2010) Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GnRH, progestagen and prostaglandin F2alpha. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* 45, 594-599.
- Tondello LDS, P.C.; Gaudêncio, S.; Pereira, L.; Bertolini, M.; Diniz, A.; Mezzalira, A. (2010) Microbiological and functional evaluation of an alternative device (OB (R)) for estrous synchronization in ewes. *Ciência Rural*; 40(2):389-395.

- Ungerfeld R, Rubianes E (1999) Effectiveness of short-term progestagen primings for the induction of fertile estrus with eCG in ewes during late seasonal anestrus. *Animal Science* 68, 349-353.
- Ungerfeld R, Rubianes E (2002) Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP , FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rumin. Res.* 46: 63-66.
- Ustuner B, Gunay U, Nur Z, Ustuner H (2007) Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. *Acta Vet Brno* 76, 391-397.
- Veiga-Lopez A, Beckett EM, Abi Salloum B, Ye W, Padmanabhan V (2014) Developmental programming: prenatal BPA treatment disrupts timing of LH surge and ovarian follicular wave dynamics in adult sheep. *Toxicology and applied pharmacology* 279, 119-128.
- Velle W, Helle O (1979) Experiences with estrus synchronization in sheep over a twelve-year period using oral MAP treatment for ten days. *Journal of animal science* 48, 1015-1019.
- Vilarino M, Rubianes E, Menchaca A (2013) Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology* 79, 206-210.
- Vinoles C, Forsberg M, Banchero G, Rubianes E (2001) Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55, 993-1004.
- Vinoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajarville C, Repetto J, Meikle A (2005) Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction* 129, 299-309.
- Vinoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E (1999) The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51, 1351-1361.
- Wathes DC, Lamming GE (1995) The oxytocin receptor, luteolysis and the maintenance of pregnancy. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 49, 53-67.
- Watson AJ, Watson PH, Arcellana-Panlilio M, Warnes D, Walker SK, Schultz GA, Armstrong DT, Seamark RF (1994) A growth factor phenotype map for ovine preimplantation development. *Biology Reproduction* 50, 725-733.
- Webb R, Engeland BG (1982) Identification of the ovulatory follicle in the ewe: associated changes in the follicular size, thecal and granulosa cell luteinizing hormone receptors, antral fluid steroids, and circulating hormones during the preovulatory period. *Endocrinol.* 110: 873-881.
- Webb R, Gosden RG, Telfer EE, Moor RM (1999) Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Anim Sci* 68, 257-284.
- Welch RAS, Andrewes WD, Barnes DR, Bremner K, Harvey TG (1984) CIDR dispensers for oestrus and ovulation control in sheep. *Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction & Artificial Insemination, vol 3, Urbana, IL, USA, pp 354-355.*
- Wheaton JE, Carlson KM, Windels HF, Johnston LJ (1993) CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal reproduction science* 33 (1-4), 127-141.

- Whitley NC, Jackson DJ (2004) An update on estrus synchronization in goats: a minor species. *Journal of animal science* 82 E-Suppl, E270-276.
- Windsor DP (1995) Factors influencing the success of transcervical insemination in Merino ewes. *Theriogenology* 43, 1009-1018.
- Yadi J, Moghaddam MF, Khalajzadeh S (2011) Comparison of Estrus Synchronization by PGF2 α , CIDR and Sponge with PMSG in Kalkuhi Ewes on Early Anoestrous Season, International Conference on Asia Agriculture and Animal, IPCBEE, vol.13, pp. 61-65.
- Ying SY (1988) Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone-Review. *Endocr. Rev.* 9: 267-293.
- Zhang S, Blache D, Blackberry MA, Martin GB (2005) Body reserves affect the reproductive endocrine responses to an acute change in nutrition in mature male sheep. *Animal reproduction science* 88, 257-269.
- Zonturlu AK, Aral F, Ozyurtlu N, Yavuzer U (2008) Synchronization of estrus using FGA and CIDR intravaginal pessaries during the transition period in Awassi ewes. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 7, 1093-1096.