



# Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en ovinos: nuevas alternativas para incrementar su adopción

Foto: Laboratorio de Producción Animal FVet

## Julio Olivera Muzante

Dr. (PhD) Profesor Adjunto G° 3. Departamento de Salud en los Sistemas Pecuarios. Laboratorio de Reproducción Animal. Facultad de Veterinaria. EEMAC. Paysandú, Uruguay. [joliveramuz@gmail.com](mailto:joliveramuz@gmail.com)

## Sergio Fierro Fernández

Dr. (MSc) Área de Transferencia de Tecnología. Secretariado Uruguayo de la Lana. Montevideo, Uruguay.

## 1. INTRODUCCIÓN

La Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (sin detección de celos o estros, IATF) es una técnica que permite sincronizar las actividades del ciclo productivo posibilitando vincular en forma más precisa otras biotecnologías de insumo -como la nutrición "focalizada"-, en aquellos momentos considerados claves para mejorar los indicadores reproductivos en ovinos (Martin et al., 2004). Sin embargo, tan solo el 8,5% de los servicios de ovejas en nuestro país se hace por Inseminación Artificial (IA), siendo por IATF menos de un tercio de las mismas (CGA, 2011). Entre los motivos que frenan a los productores a realizar una mayor adopción de la IATF en ovinos, destacan una mayor inversión económica y aspectos prácticos del uso de dispositivos vaginales con progesterona validados para ello, tales como adherencias y/o pérdidas, vaginitis, uso de antibióticos para evitarlas, tiempos de espera por residuos en carne y/o leche (Fierro et al.,

2013). El uso de análogos sintéticos de prostaglandina F<sub>2α</sub> (PG) para la sincronización de estros permitiría levantar varias de las restricciones antes mencionadas. Son mucho más económicos (menos del 25% de inversión/oveja), prácticos de aplicar, no tienen impacto sobre el animal y/o el medio ambiente, y no tienen tiempos de espera ni residuos para el consumo de alimentos. Los protocolos más empleados tradicionalmente con PG (de 9 a 12 días de separación entre dosis) han evidenciado una alta dispersión y/o una baja fertilidad de los estros inducidos, siendo desaconsejados por algunos autores para su uso en IATF de ovinos (Menchaca y Rubianes, 2004). Una nueva alternativa que disminuye la separación entre dosis de PG a tan solo 7 días (Menchaca y Rubianes, 2004), mejoró la sincronía de los estros y ovulaciones. Sin embargo, la fertilidad del estro inducido con este protocolo ha sido siempre inferior a la observada en IATF con el protocolo en base a progesterona y eCG (P4-eCG; Olivera-Muzante et al., 2011a; Viñoles et al., 2011), pese a las diferentes alternativas propuestas para mejorar este protocolo "corto" en base a PG (Olivera-Muzante et al., 2013a; Fierro et al., 2014). Estudios básicos (Fierro et al., 2011) y una profunda revisión en el tema (Fierro et al., 2013), llevaron a plantear como hipótesis que una separación mayor a los 12 días entre las dosis de PG sería necesaria para generar un "ambiente hormonal adecuado" previo a la ovulación, y de esa forma incrementar los resultados al servicio de IATF. No se conoce sin embargo la respuesta y/o dispersión de los estros de esta mayor separación entre dosis de PG, la hora de ovulación e inseminación a emplear, la fertilidad posible de alcanzar en IATF, y los resultados en comparación con el protocolo en base a P4-eCG.

Este nota resume los principales avances generados en el tema por el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Veterinaria en el Norte (EEMAC), con la finalidad de validar alternativas de IATF más sencillas, con bajo impacto animal-ambiental, y que sean biológica y económicamente aceptables, para de esta forma aumentar su adopción.

## 2. METODOLOGÍA

Para responder a las interrogantes planteadas se implementaron cuatro experimentos durante la estación reproductiva (marzo a mayo), involucrando un total de 1.136 ovejas adultas de raza Corriedale, manejadas sobre pastoreo de campo natural, en dos años consecutivos de trabajo.

En el primer año se desarrollaron tres experimentos comparando diferentes intervalos de separación entre dosis de PG (7, 10, 12, 14 y 16 días; PG7, PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente; 160 µg intramuscular de Delprostenate por dosis de PG). El Experimento I se desarrolló en la Estación Experimental "Dr. Mario A. Cassinoni" (n=24 ovejas, peso vivo -PV-: 52,5±6,6 kg y estado corporal -EC-: 3,1±0,4, escala 1 al 5), con el fin de medir los niveles plasmáticos de progesterona y estradiol previos y posteriores a la segunda dosis de PG (muestreo cada 24 o cada 12 horas respectivamente), y estimar la hora de ovulación una vez aplicada ésta (ultrasonografía seriada de ovarios vía transrectal cada 12 horas desde la segunda dosis de PG).

El Experimento II, al igual que el resto, tuvo lugar en la UTU Escuela Agraria "La Carolina" (n=132 ovejas, PV: 51,5±6,2 kg y EC: 3,2±0,4), con la finalidad de observar la respuesta acumulada y la dispersión de los estros anterior y posterior a la segunda dosis de PG en estos intervalos (6 capones androgenizados pintados cada 100 ovejas, con detección y aparte de ovejas en estro cada 12 horas).

El Experimento III se llevó a cabo para cuantificar la tasa de preñez (gestantes/total de ovejas; %), la prolificidad (fetos/oveja



Seguimiento de dinámica mediante ecografía vía transrectal

gestante) y la tasa de fecundidad (fetos/total de ovejas; %) a los 60 días (ecografía abdominal) de un servicio de IATF realizado por vía cervical con semen fresco pool de 6 carneros, diluido en leche UHT, con dosis de 160 millones de espermatozoides/oveja (n=370 ovejas, PV: 55±6,3 kg y EC: 3,2±0,4), incluyendo en la comparación el intervalo de 7 días de separación entre dosis de PG como grupo control (PG7; IATF a 48±1,5 horas).

Al siguiente año se desarrolló en la misma escuela agraria la última experiencia, el Experimento IV, con el fin de comparar la tasa de preñez, la prolificidad y la tasa de fecundidad a los 60 días de un servicio de IATF vía cervical con semen fresco pool de 9 carneros, diluido en leche UHT (n=610 ovejas, PV: 53,2±5,7 kg y EC: 3,1±0,4), comparando diferentes intervalos de separación entre dosis de PG (PG12, PG13, PG14, PG15 y PG16 respectivamente) y el protocolo en base a P4-eCG (esponjas vaginales con medroxiprogesterona 60 mg por 14 días y 380 UI de eCG a su retirada, IATF a las 50±1,5 horas). Un mayor detalle de manejo y/o metodología de estos experimentos puede ser consultado en comunicaciones científicas reportadas con anterioridad (Olivera-Muzante et al., 2013b; Fierro et al., 2016 a, b).

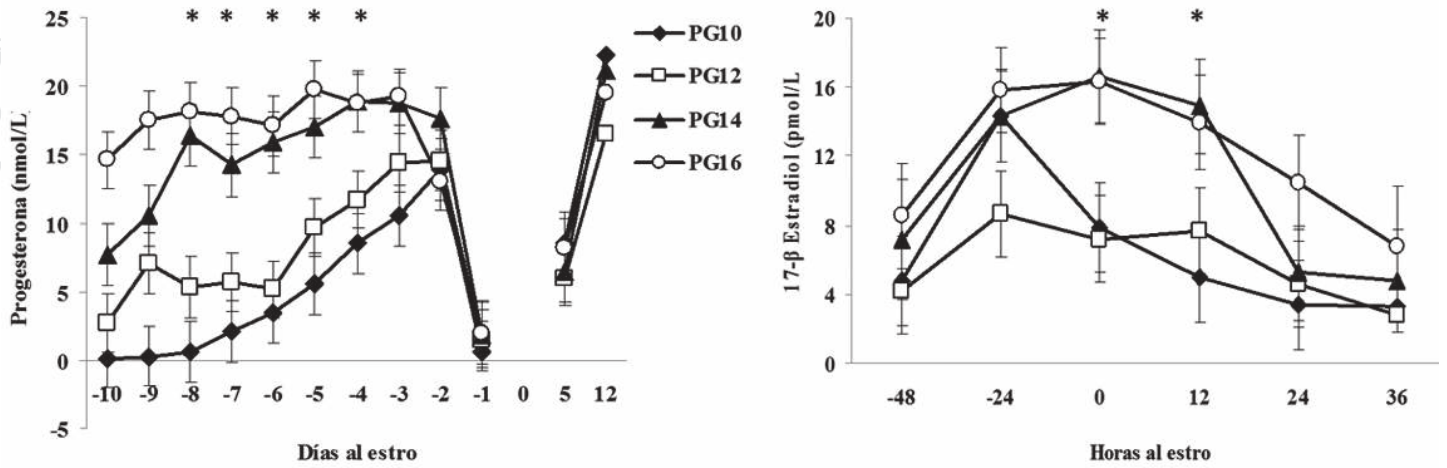
## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. NIVELES HORMONALES Y HORA DE OVULACIÓN (EXPERIMENTO I)

Los principales resultados respecto a los niveles hormonales se resumen en la Figura 1. Se puede observar (imagen izquierda) que las ovejas de los intervalos PG14 y PG16 tuvieron fases luteales previas a la inducción de estro -luego de la segunda PG- más largas, con niveles plasmáticos de progesterona más elevados y por más tiempo, en comparación con los intervalos PG10 y PG12 (Días -8 a -4 respectivamente;  $P < 0,05$ ). No se observaron diferencias en estas variables después de la segunda PG para los intervalos comparados ( $P > 0,05$ ). A su vez (imagen derecha), los niveles plasmáticos de estradiol en las ovejas de los intervalos PG14 y PG16, fueron mayores al inicio del estro y hasta 12 horas de comenzado éste, en comparación con los intervalos PG10 y PG12 ( $P < 0,05$ ). Se observó además, una correlación positiva entre la duración de la fase lútea y los días con niveles plasmáticos elevados de estradiol ( $r = 0,78$ ;  $P < 0,001$ ). No obstante, no se apreciaron diferencias en la hora de ovulación en las ovejas de los diferentes intervalos de separación entre dosis de PG considerados ( $72,0 \pm 6,6$ ;



Extracción de sangre vía yugular para cuantificar niveles plasmáticos hormonales



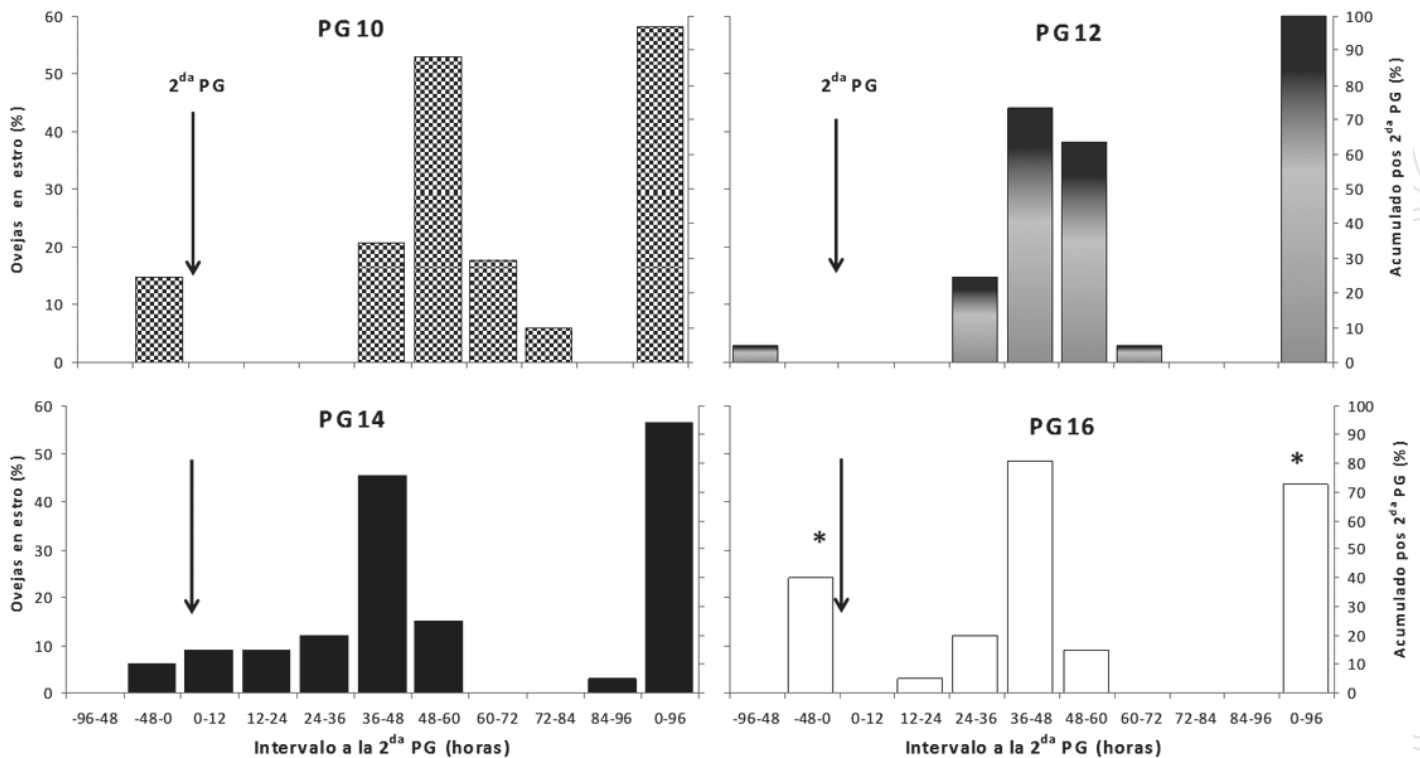
**Figura 1.** Niveles plasmáticos de progesterona (izquierda) y estradiol (derecha) relacionados al estro inducido por una segunda dosis de PG en ovejas sincronizadas con diferentes intervalos de separación entre dosis (10, 12, 14 y 16 días; PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente). \*: Valores difieren estadísticamente dentro de momentos entre intervalos de PG ( $P < 0,05$ ).

70,0 ± 6,2; 58,8 ± 21,8 y 64,0 ± 9,0 horas; PG10, PG12, PG14 y PG16 respectivamente;  $P > 0,05$ ).

La ovulación promedio ocurrió a las 66 ± 15 horas (media ± DS), ajustándose en base a esto la hora adecuada para realizar la IATF vía cervical con semen fresco en los experimentos III y IV (56 ± 1,5 horas pos segunda dosis de PG, para cualquiera de los intervalos estudiados). En resumen, si bien no se apreciaron diferencias en el momento de ovulación, se observó un “ambiente hormonal” diferente previo a ella en las ovejas de los intervalos con más días de separación entre dosis de PG (mayores niveles de progesterona y estradiol), lo cual propiciaría en principio mejores condiciones para el desarrollo de los ovocitos y embriones.

### 3.2. RESPUESTA Y DISPERSIÓN DE LOS ESTROS (EXPERIMENTO II)

Los resultados en estas variables se resumen en la Figura 2. Se puede observar que el intervalo PG16 tuvo un mayor porcentaje de ovejas en estro 48 horas previo a la segunda dosis de PG, respecto a los demás intervalos ( $P < 0,05$ ). Por otro lado, la respuesta estral acumulada posterior a la segunda dosis de PG fue mayor y más sincronizada en las ovejas de los intervalos PG10 y PG12, en comparación con PG14 y PG16 ( $P < 0,05$ ). En síntesis, a menor intervalo entre dosis de PG mayor respuesta y sincronía en la aparición de los estros pos segunda dosis de PG, lo que determinaría en primera instancia una ovulación más concentrada y mejores resultados en un servicio de IATF.



**Figura 2.** Dispersión y acumulada de ovejas en estros previo y posterior a una segunda dosis de PG para diferentes intervalos de separación entre dosis (10, 12, 14 y 16 días). \*: Valores difieren estadísticamente dentro de momentos entre intervalos de PG ( $P < 0,05$ ).

Protocolo	Preñez (gestantes/total; %)	Prolificidad (fetos/oveja gestante)	Fecundidad (fetos/total; %)
PG7 (n=73)	28,8 a	1,24 a	35,7 a
PG10 (n=76)	30,3 a	1,26 a	38,2 a
PG12 (n=74)	46,0 b	1,35 a	62,1 b
PG14 (n=72)	56,9 b	1,39 a	79,1 b
PG16 (n=75)	56,0 b	1,31 a	73,4 b

**Tabla 1.** Comportamiento reproductivo de ovejas Corriedale en IATF vía cervical utilizando diferentes intervalos de separación entre dosis de PG (7, 10, 12, 14 y 16 días; Experimento III).  
a, b: valores seguidos de diferente letra en la misma columna difieren estadísticamente ( $P < 0,05$ ). PG7, PG10, PG12, PG14 y PG16: 7, 10, 12, 14 o 16 días de separación entre dosis de PG respectivamente, e IATF con semen fresco a 48 (PG7) o 56  $\pm$  1,5 horas de la segunda dosis de PG (demás intervalos).

### 3.3. RESPUESTA REPRODUCTIVA (EXPERIMENTO III)

Los resultados se resumen en la Tabla 1. Las tasas de preñez y de fecundidad a los 60 días pos servicio de IATF, fueron similares entre las ovejas de los intervalos PG12, PG14 y PG16 ( $P > 0,05$ ) pero mayores que las de PG7 y PG10 (intervalos "cortos";  $P < 0,05$ ). No se observaron diferencias de prolificidad entre las ovejas de los diferentes intervalos comparados ( $P > 0,05$ ). En resumen, las ovejas de los intervalos con mayor separación entre dosis de PG (12 y más días) tuvieron mejor comportamiento reproductivo a la IATF.

### 3.4. RESPUESTA REPRODUCTIVA (EXPERIMENTO IV)

Los resultados se resumen en la Tabla 2. Las tasas de preñez y de fecundidad a los 60 días pos servicio de IATF fueron similares entre las ovejas de los intervalos PG15, PG16 y el protocolo en base a P4-eCG ( $P > 0,05$ ) pero mayores que las de PG12 y PG13 ( $P < 0,05$ ). Las ovejas del intervalo PG14 tuvieron resultados intermedios con los anteriores. No se observaron diferencias significativas de prolificidad entre las ovejas de los diferentes intervalos comparados, salvo el PG13 que fue inferior al del protocolo P4-eCG ( $P < 0,05$ ). En definitiva, las ovejas de los intervalos iguales o superiores a 14 días de

Protocolo	Preñez (gestantes/total; %)	Prolificidad (fetos/oveja gestante)	Fecundidad (fetos/total; %)
PG7 (n=73)	28,8 a	1,24 a	35,7 a
PG10 (n=76)	30,3 a	1,26 a	38,2 a
PG12 (n=74)	46,0 b	1,35 a	62,1 b
PG14 (n=72)	56,9 b	1,39 a	79,1 b
PG16 (n=75)	56,0 b	1,31 a	73,4 b

**Tabla 2.** Comportamiento reproductivo de ovejas Corriedale en IATF utilizando diferentes intervalos de separación entre dosis de PG (12, 13, 14, 15 y 16 días) o P4-eCG (Experimento IV).  
a, b: valores seguidos de diferente letra en la misma columna difieren estadísticamente ( $P < 0,05$ ). PG12, PG13, PG14, PG15 y PG16: 12, 13, 14, 15 o 16 días de separación entre dosis de PG respectivamente, e IATF con semen fresco a 56  $\pm$  1,5 horas de la segunda dosis de PG. P4-eCG: esponjas vaginales con medroxiprogesterona 60 mg durante 14 días y 380 UI de eCG a su retirada; IATF a 50  $\pm$  1,5 horas de la retirada de esponja.



Ecografía abdominal para determinar carga fetal



Imagen de ecografía vía abdominal de dos fetos de unos 60 días de edad

separación entre dosis de PG (intervalos “largos”) equipararían los resultados reproductivos del protocolo en base a P4-eCG.

La hipótesis de trabajo planteada sobre que una mayor separación entre las dosis de PG podría incrementar los resultados reproductivos de ovejas en un servicio de IATF fue confirmada.

A pesar de observarse una menor respuesta y sincronía en la aparición de los estros en las ovejas sincronizadas con los intervalos “largos” de separación entre dosis de PG (PG14 a PG16), éstos obtuvieron mejores resultados reproductivos al servicio de IATF vía cervical en comparación con los intervalos denominados “cortos” y/o “intermedios” de separación (PG7 a PG13). Aunque en crecimiento, bajos niveles de progesterona en la fase luteal del ciclo estral previo al servicio han sido asociados con alteraciones de la función esteroideogénica de los folículos pre-ovulatorios (Coleman y Dailey, 1983; Fierro *et al.*, 2011, 2016a), lo cual afectaría el desarrollo de los ovocitos, su fertilización y el desarrollo de los embriones (Folman *et al.*, 1973; Ashworth *et al.*, 1989; González-Bulnes *et al.*, 2005; Fierro *et al.*, 2011), disminuyendo la fertilidad y fecundidad (Folman *et al.*, 1973; Fierro *et al.*, 2011, 2016a, b). La fertilidad del estro en las ovejas provenientes de intervalos “cortos” de separación entre dosis de PG no mejoró cuando fueron inseminadas con semen fresco a estro “detectado” y no a “tiempo fijo” (Olivera-Muzante



Inseminación artificial de ovejas apoyadas sobre el tubo

*et al.*, 2011b; Fierro *et al.* 2016a), confirmando que se trata de una alteración en el desarrollo de los ovocitos y/o embriones, y no de fallas de fertilización en sí mismas por inadecuada hora de inseminación. Es probable que algunas de las ovejas pertenecientes a los intervalos “largos” sean inseminadas a tiempo fijo sobre un estro “espontáneo” o natural (y no inducido por la segunda dosis de PG), con la consecuente mejor fertilidad de estos estros (Durán del Campo y Cash Stirling, 1982). Por último, y aun sobre resultados considerados como “biológicamente buenos” de fertilidad y prolificidad para un servicio de IATF vía cervical con semen fresco (Gordon, 1999), las ovejas de los intervalos “largos” de separación entre dosis de PG equipararon los resultados de fecundidad del protocolo tradicional en base a P4-eCG, lo cual genera muchas expectativas en vistas a su adopción.

## 4. CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES

Los hallazgos de estos experimentos evidencian claramente que es posible realizar, con buenos resultados, IATF en ovinos vía cervical sincronizando los estros y ovulaciones con protocolos en base a PG. Para ello deberían utilizarse intervalos “largos” de separación entre dosis de PG (de 14 a 16 días). Este conocimiento genera una herramienta de sumo interés para complementar el manejo reproductivo en estación reproductiva, y para una mayor adopción de la IATF en la especie ovina.

Cabe recordar que estas alternativas de manejo reproductivo van de la mano con un adecuado manejo general (tamaño de lotes a sincronizar, disponibilidad de carneros), nutricional (manejo según estado corporal), y sanitario (libres de parasitosis y afecciones podales) de las ovejas previo al servicio.

La IATF debería ir acompañada también de un manejo de “precisión” al momento de la parición, donde el uso de la ecografía para determinar carga y edad fetal, y la aplicación de métodos de protección contra inclemencias climáticas (Olivera-Muzante, 2015), permitirá enfrentar pariciones concentradas con menores riesgos. Se recomienda el asesoramiento profesional previo a la decisión de comenzar a usar estas alternativas.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal, estudiantes y dirección de la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni”, Facultad de Veterinaria en Paysandú, y UTU Escuela Agraria “La Carolina” por proveer mano de obra, infraestructura y animales para realizar los trabajos. Estos experimentos han sido financiados por el proyecto INIA FPTA Perfil 315 y forman parte de la tesis doctoral del Dr. Sergio Fierro Fernández. Información ampliada referida a este artículo de difusión puede ser solicitada a [jliveramuz@gmail.com](mailto:jliveramuz@gmail.com) y/o [sfierro@gmail.com](mailto:sfierro@gmail.com)

## REFERENCIAS

- Ashworth CJ, Sales DI, Wilmut I. 1989. Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *Journal Reproduction and Fertility* 87 (1): 23-32.
- CGA (Censo General Agropecuario) 2011. Resultados definitivos [online]. Capítulo 3: 42. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-censo-2011-resultados-definitivos,O,es,0> [acceso 26/10/2016].
- Coleman DA, Dailey RA. 1983. Effects of repeated removal of large ovarian follicles and treatment with progestin on ovarian function in the ewe. *Biology of Reproduction* 29: 86-93.
- Durán del Campo A, Cash Stirling RC. 1982. Sincronización de celos en ovinos mediante el uso de prostaglandina. Resúmenes del III Congreso Nacional de Veterinaria. Montevideo, Uruguay. 345-353.
- Fierro S, Olivera J, Gil J, Viñoles C. 2011. Effects of prostaglandin administration on follicular dynamics, conception, prolificacy and fecundity in sheep. *Theriogenology* 76: 630-639.
- Fierro S, Gil J, Viñoles C, Olivera-Muzante J. 2013. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: a review. *Theriogenology* 79: 399-408.
- Fierro S, Gil J, Viñoles C, Soca F, Banchemo G, Olivera-Muzante J. 2014. Protein supplementation during a short-interval prostaglandin-based protocol for timed AI in sheep. *Animal Reproduction Science* 149 (3-4): 158-162.
- Fierro S, Viñoles C, Olivera-Muzante J. 2016a. Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized with different prostaglandin-based protocols. *Animal Reproduction Science* 167: 74-82.
- Fierro S, Viñoles C, Olivera-Muzante J. 2016b. Long term prostaglandin based-protocols improve the reproductive performance after timed artificial insemination in sheep. En revisión.
- Folman Y, Rosenber M, Herz Z, Davidson M. 1973. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *Journal Reproduction and Fertility* 34: 267-278.
- González-Bulnes A, Lopez-Veiga A, Garcia P, Garcia-Garcia RM, Ariznavarreta C, Sanchez MA, Tresguerres JAF, Cocero MJ, Flores JM. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology* 63: 2523-2534.
- Gordon I. 1999. Fixed-time sheep artificial insemination. En o: (In) Gordon I. “Controlled Reproduction in sheeps and goats”. Wallingford, CAB. 86-109.
- Martin GB, Rodger J, Blache, D. 2004. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 491-501.
- Menchaca A, Rubianes E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development* 16: 403-413.
- Olivera-Muzante J, Fierro S, López V, Gil J. 2011a. Comparison of prostaglandin- and progesterone-based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology* 75: 1232-1238.
- Olivera-Muzante J, Gil J, Fierro S, Menchaca A, Rubianes E. 2011b. Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology* 76 (8): 1501-1507.
- Olivera-Muzante J, Gil J, Viñoles C, Fierro S. 2013a. Reproductive outcome with GnRH inclusion at 24 or 36 h following a prostaglandin F2 $\alpha$ -based protocol for timed AI in ewes. *Animal Reproduction Science* 138: 175-179.
- Olivera-Muzante J, Fierro S, Gil J, Bentancor E, Donadio D, Ferrari J, Gonzalez V, Vizcaino JM. 2013b. Resultados reproductivos de diferentes protocolos de IATF vía cervical en ovinos en base a prostaglandina o progestágenos y eCG. Resúmenes XXIII Reunión de la ALPA. La Habana, Cuba. F-142.
- Olivera-Muzante J. 2015. ¿Es posible mejorar la supervivencia de corderos en nuestros sistemas ovinos?. *Revista Cangüé digital*, Diciembre 2015. N° 36: 15-17. Disponible en: <http://www.eemac.edu.uy/cangué/?view=project&id=8;n-36-2015>
- Viñoles C, Paganoni B, Milton JTB, Driancourt MA, Martin GB. 2011. Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronization with prostaglandin, sponges or sponges with bactericide. *Animal Production Science* 51: 565-569.