

**COMPARACIÓN DEL EFECTO DE DOS ANÁLOGOS DE LA GNRH COMO
OVULADOR EN UN PROTOCOLO DE SUPERESTIMULACIÓN DE OVEJAS
CRIOLLAS COLOMBIANAS EN EL MUNICIPIO DE PASTO (NARIÑO)**

**OMAR DANIEL ANDRADE FLÓREZ
JORGE ANDRÉS LÓPEZ HIDALGO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2010**

**COMPARACIÓN DEL EFECTO DE DOS ANÁLOGOS DE LA GNRH COMO
OVULADOR EN UN PROTOCOLO DE SUPERESTIMULACIÓN DE OVEJAS
CRIOLLAS COLOMBIANAS EN EL MUNICIPIO DE PASTO (NARIÑO)**

**OMAR DANIEL ANDRADE FLÓREZ
JORGE ANDRÉS LÓPEZ HIDALGO**

**Trabajo de grado, presentado como requisito parcial para optar al título de
Medico Veterinario**

**Presidente.
Darío Alejandro Cedeño Quevedo
D.M:V MSc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2010**

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado, son responsabilidad del autor”

Artículo 1 del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

DARÍO ALEJANDRO CEDEÑO QUEVEDO
Presidente

EDMUNDO ANDRÉS TIMARAN
Jurado

BOLÍVAR LAGOS FIGUEROA
Jurado Delegado

San Juan de Pasto, Febrero de 2010

Dedico:

A DIOS por entregarme la vida, por estar a cada momento y por regalarme esta oportunidad tan maravillosa de cuidar por el bienestar de los animales.

A mis PADRES, ADRIANA Y RAMIRO que siempre me inculcaron la importancia del conocimiento y me abrieron las puertas del saber, pero también agradecerles su comprensión, confianza y su amor incondicional.

A mi FAMILIA, en especial a mis abuelitos JAIME Y TERESA que creyeron cuando empecé este proyecto de vida y que me han brindado todo su cariño y apoyo.

A las personas que han sido importantes en esta etapa de mi vida KATE, DORI, JENNIFER, CAROLINA, GIOVANNI, ALEJANDRO, gracias por hacer de todos lo momentos que pasamos, los mejores.

A mi compañero de aventuras JORGE que mas que un compañero y un amigo es como mi hermano y desde que empezamos esto hace ya cinco años ha estado conmigo y me apoyo en todo, gracias por esta grande amistad.

A todos mis amigos que han sido un apoyo en todos lo momentos difíciles en estos cinco años, les agradezco de todo corazón por que parte de este triunfo es también de ustedes GRACIAS.

Omar Daniel Andrade Flórez

Dedico a:

A Dios y a Mi Familia

Jorge Andrés López Hidalgo

Agradecimientos a:

Agradecimientos:

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Darío Alejandro Cedeño Quevedo	D.M.V. MSc. y Director del Programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.
Bolívar Lagos Figueroa	Médico Veterinario Zootecnista y Docente del Área de Reproducción del Programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.
Edmundo Andrés Timaran	Médico Veterinario y Docente del Área de Clínica de Grandes Animales del Programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.
Henry Velásquez	Médico Veterinario Esp. CORPOICA Villavicencio.
Miguel Ángel Peña	Médico Veterinario Esp. CORPOICA Villavicencio.
Claudia Jurado	Médico Veterinario. CORPOICA Pasto.
Luis Alfonso Solarte	Secretario de la Facultad de Ciencias Pecuarias.
Arsenio Hidalgo Marco Imuez	Asesores Estadísticos.

El programa de medicina veterinaria de la universidad de Nariño.

Todas las persona que con su voluntad y apoyo ayudaron para el desarrollo de esta investigación.

Glosario

- Análogos: Fármacos que generan e no efecto en el organismo.
- Cm: Centímetro.
- Ciclo estral: Ciclo reproductivo de los animales.
- C.I: Centro de investigación
- Clinaje: sucesión de divisiones mitóticas después de la fecundación en reproducción sexual.
- CORPOICA: Corporación colombiana de investigación agropecuaria
- Consanguinidad: Individuos que provienen de un mismo grupo familiar.
- Cuerpo lúteo: Estructura funcional del ovario productora de progesterona
- DAD-IS: Domestic Animal Diversity Information System
- E2: Estradiol.
- Embriones: Primeras fase de un ser vivo después de la fecundación.
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FP: Folículo persistente.
- FSH: Hormona folículoestimulante.
- FSHp: Hormona folículoestimulante porcina.
- FSHo: Hormona foliculoestimulante ovina.
- Foliculogenesis: Desarrollo de nuevos folículos.
- GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas
- Gonadorelina: Análogo de la GnRH.

- I.A.: Inseminación artificial.
- I.M.: Intramuscular.
- kg: kilogramo
- laparotomía: Intervención quirúrgica que consiste en abrir las paredes abdominales.
- LH: Hormona luteinizante.
- mg: Miligramo.
- ml: Mililitro.
- mm: Milímetro.
- MOET: Superovulación y transferencia embrionaria.
- n: Cantidad.
- Óvulo: Célula sexual femenina.
- Ovulador: Producto natural o sintético utilizado para inducir la ovulación.
- P4: Progesterona.
- PBS: Fosfato buffer salino.
- PGF2 α : Prostaglandina F2 Alfa.
- Poliestricas estacional: Celo en una época determinada del año.
- Pubertad: Etapa de inicio de actividad sexual.
- Superestimulación: Producción de un mayor numero de folículos.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar dos análogos de GnRH en la inducción de la ovulación de 8 ovejas de las razas criollas colombianas, con el fin de obtener un número mayor de embriones para conservar en el banco de germoplasma Animal *In situ* que maneja CORPOICA. El trabajo se llevo a cabo en las instalaciones de la clínica veterinaria Carlos Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño en la ciudad de San Juan de Pasto, departamento de Nariño.

Las ovejas fueron superestimuladas con FSHp (18 mg), y luego distribuidas al azar en dos tratamientos: T1 (n=4) 0.1 mg de Gonadorelina al inicio del celo, y T2 (n=4) 0.0042 mg de Acetato de Buserelina al inicio del celo. Cada oveja permaneció con el macho que le correspondía hasta que no fue receptiva a la monta, para este procedimiento se conto con 6 machos de las razas criollas colombianas y según los núcleos que maneja CORPOICA, se asigno cada macho con su hembra para que realicen la monta natural. Después de 6 días de la primera monta se realizo la colecta de embriones por método quirúrgico.

Las variables analizadas para comparar los tratamientos fueron: tamaño y número de folículos anovulatorios, número y tamaño de cuerpos lúteos, número de embriones recolectados, Todos los análisis fueron realizados mediante el paquete estadístico STAT GRAPHICS en los análisis estadísticos se tuvo en cuenta el nivel de confianza del 95%.

No hubo diferencias estadísticamente significativas para las variables: número de embriones, numero de cuerpos lúteos, número de folículos persistentes, tamaño de cuerpos lúteos; con un nivel de confianza del 95%.

Para la variable tamaño de folículos persistentes existió diferencia estadísticamente significativa comparando los dos tratamiéentos con un p de 0.00104.

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate two similar of gnrh in the induction of the ovulation of 8 sheep of the colombian creole races, with the purpose of obtaining a number bigger than embryos to conserve in the bank of animal germoplasma in situ that corpoica manages. the work you carries out in the facilities of the veterinary clinic carlos martínez holes of the university of nariño in the city of san juan of grass, department of nariño.

the sheep were superestimuladas with fshp (18 mg), and then distributed at random in two treatments: t1 (n=4) 0.1 mg of gonadorelina to the beginning of the zeal, and t2 (n=4) 0.0042 mg of acetate of buserelina to the beginning of the zeal. each sheep remained with the male that corresponded him until she didn't go receptive to you/he/she mounts it, for this procedure you has 6 males of the colombian creole races and according to the nuclei that corpoica manages, i assign you each male with its female so that they carry out the it mounts natural. after 6 days of the first one you mounts i carry out the collection of embryos for surgical method.

the variables analyzed to compare the treatments were: size and number of follicles anovulatorios, number and size of bodies lúteos, number of gathered embryos, all the analyses were carried out by means of the statistical package stat graphics in the statistical analyses one kept in mind the level of trust of 95%.

there were not differences statistically significant for the variables: number of embryos, i number of bodies lúteos, number of persistent follicles, size of bodies lúteos; with a level of trust of 95%.

for the variable size of persistent follicles difference existed statistically significant comparing the two tratamíentos with a p of 0.00104.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION.....	17
1. DEFINICIÓN y DELIMITACIÓN del problema	18
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	19
3. OBJETIVOS.....	20
3.1 OBJETIVO GENERAL	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
4. MARCO TEÓRICO	21
4.1 SITUACIÓN ACTUAL DE LA OVINOCULTURA EN COLOMBIA	21
4.2 PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE LOS OVINOS.....	23
4.2.1 Actividad sexual estacional	24
4.2.2 Ciclo estral de la hembra ovina.....	25
4.2.3 Ondas de desarrollo folicular en pequeños rumiantes	25
4.2.3.1 Desarrollo folicular	25
4.2.4 Detección de celo.	31
4.2.5 Gestación de las ovejas	31
4.2.6 Proceso de parto en las ovejas.....	31
4.3 GNRH	32
4.3.1 Efectos farmacológicos.....	34
4.4 EL BANCO DE GERMOPLASMA.....	35
4.5 TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN OVINOS	35
4.5.1 Ovulación múltiple y transferencia de embriones.....	37
4.5.2 Factores que intervienen en la respuesta a la ovulación múltiple	37
4.5.3 importancia de un protocolo MOET:	38

4.5.4 Técnica para la obtención, recuperación y transferencia de embriones.	39
4.5.4.1 Sincronización de celo	40
4.5.4.2 Tratamiento de Superestimulación	40
4.5.4.3 Recuperación de embriones.	40
4.5.4.4 Búsqueda y clasificación de embriones	41
4.5.4.5 Grados de clasificación de embriones:	42
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	45
5.1 LOCALIZACIÓN.....	45
5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	45
5.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
5.4 ANÁLISIS DE LOS DATOS	49
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
6.1.1 Número de folículos persistentes.....	50
6.1.2 Número de cuerpos lúteos	52
6.1.3 Número de embriones recolectados	54
6.1.4 Tamaño de folículos persistentes	56
6.1.5 Tamaño de cuerpos lúteos.....	59
6.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	60
7. CONCLUSIONES	63
8. RECOMENDACIONES.....	64
BIBLIOGRAFÍA.....	65

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Inventario ovejas.....	45
Tabla 2. Numero de folículos persistentes de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.	50
Tabla 3. Número de cuerpos lúteos de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto. Nariño.	52
Tabla 4. Número de embriones recolectados, de ovejas criollas colombianas, en el municipio de Pasto. Nariño.	54
Tabla 5. Tamaño de folículos persistentes de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.	56
Tabla 6. Tamaño de cuerpos lúteos de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.	59

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Representación esquemática del desarrollo folicular y de los perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja.	30
Figura 2. Estructura química de la GnRH.	34
Figura 3. Embriones vistos en microscopio	43
Figura 4. Embriones no viables.....	43
Figura 5. Embriones viables.....	44
Figura 6. Hembra receptiva a la monta.....	46
Figura 7. Laparotomía medial	47
Figura 8. Sonda folley fijada en útero	48
Figura 9. Numero de folículos, entre los tratamientos: Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto. Nariño.	51
Figura 10. Ovario con folículos persistentes	51
Figura 11. Número de cuerpos lúteos, entre los tratamientos: Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2), de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto. Nariño.	53
Figura 12. Ovario con cuerpos lúteos	53
Figura 13. Número de embriones recolectados con los tratamientos: Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) en ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.	55
Figura 14. Embriones recolectados	55
Figura 15. Desarrollo Folicular y Comportamiento Hormonal	57
Figura 16. Tamaño de folículos persistentes entre tratamientos Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.	58

Figura 17. Tamaño de cuerpos lúteos entre tratamientos Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.60

INTRODUCCIÓN

La recuperación y mantenimiento de especies nativas ovinas en Colombia lo viene adelantando CORPOICA en convenio con el ICA y el ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, mediante los proyectos del Banco de Germoplasma Animal *In situ* e *In vitro*.

Los métodos biotecnológicos que se aplican para la mejora genética y la recuperación de especies en vía de extinción son principalmente la superestimulación y la transferencia de embriones MOET, producción de embriones in vitro FIV y sincronización e inseminación a tiempo fijo. En los programas MOET, la hormona GnRH o sus análogos permiten realizar la inducción de la ovulación en hembras previamente superestimuladas con FSHp, determinando la posibilidad de manejar protocolos a tiempos fijos y utilizar la inseminación artificial de manera adecuada.

El objetivo de este estudio fue la evaluación de la respuesta ovulatoria determinada por el uso de dos análogos de GnRH (Gonadorelina o Acetato de Buserelina) en un protocolo MOET, y determinar cuál es la respuesta de los animales sometidos a este protocolo. A las hembras objetivo del estudio se les aplico un protocolo de sincronización con PGF₂α y se coloco un macho recelador que nos permitió observar un celo de referencia antes de que se realice el protocolo de superestimulación. Después de esto se realizo el protocolo con la hormona FSHp y cada hembra se coloca con un macho para que este realice la monta necesaria para la fecundación de ovocitos, en el momento que se observe la primera monta se coloco un análogo de la GnRH para inducir la ovulación de todos los folículos desarrollados en los ovarios por el protocolo de superestimulación. Después de 5 días se procedió a la recolección de embriones por medio de cirugía (laparotomía medial), después de esta se hace la evaluación, clasificación y posterior selección de los embriones que serán congelados y almacenados en el banco de germoplasma y que servirán como reserva genética de esta raza. Los animales tuvieron un posoperatorio de 7 días antes de volver a la granja de CORPOICA Pasto.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Desde hace poco tiempo los ovinos criollos colombianos fueron reconocidos como raza por parte de la FAO; desde entonces han existido muchos problemas para su conservación, ya que estas razas están solo en el territorio colombiano se ha emprendido una serie de trabajos por parte de las universidades del estado e instituciones gubernamentales como el ICA y CORPOICA para su conservación, generando bancos donde se conservan embriones y semen de animales de alto valor genético.

Desde hace algún tiempo CORPOICA maneja un núcleo de animales ovinos ubicado en la vereda de Obonuco en la ciudad de San Juan de Pasto; parte de este núcleo son animales de alto valor genético y están a punto de cumplir su ciclo reproductivo.

Con base en lo anterior, con la cooperación de la universidad de Nariño y CORPOICA se decidió realizar un proyecto para conservar material genético de estos animales para su conservación.

Hay que tener en cuenta que durante años se ha intentado estandarizar protocolos MOET en ovinos con resultados variables y como este tipo de protocolos son necesarios para la posterior conservación de recursos zoogenéticos, es importante realizar estudios en este campo.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cual de los análogos de GnRH tiene mejor respuesta en la realización de un protocolo MOET?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar el efecto de dos análogos de la GnRH como inductor de la ovulación en un protocolo de superestimulación de ovejas criollas colombianas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Evaluar la respuesta de las hormonas ante el número y tamaño de folículos y cuerpos lúteos.
- ✓ Determinar la cantidad de los embriones recolectados por hembra.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 SITUACIÓN ACTUAL DE LA OVINOCULTURA EN COLOMBIA

La orientación hacia la reproducción motivada por académicos, profesionales del agro y productores que se han dado cuenta de los alcances que esta actividad representa, y el cambio de actitud sobre la utilidad de la oveja en Colombia, son quizás el avance más significativo hacia el mejoramiento de la ovinocultura en nuestro país. Como resultado, se dan acciones importantes que han proporcionado vida y representatividad, por lo que ahora se ha prestado mayor importancia y muchos productores ven en esta actividad una alternativa rentable y con futuro.

Con el notorio crecimiento de la ovinocultura en Colombia estaba sucediendo un desgaste genético ya que debido a un mal manejo de esta especie se empezaron a encontrar altos grados de consanguinidad, además del sacrificio de animales aptos para la reproducción. Para solucionar el problema se empezó un programa de importaciones desde México en el año 2004 para realizar cruces y mejorar la calidad genética de nuestros animales, sin embargo se busca que los animales criollos que ya están adaptados a las condiciones de nuestro país sean conservados; desde el 2007 también se han importado animales desde Chile que dan otras alternativas de animales de buena calidad. Actualmente los proyectos ovinos se encuentran en pleno desarrollo y no se conoce un inventario actual de ovinos en Colombia. Para el 2005 se reporta la existencia de una población mundial de 1,070.005.851 de ovinos en donde la mayor población se encuentra en China con un 15.8% y Australia con el 9.5%, Colombia ocupa el puesto 63 con el 0.2% (2.180.000) de la población mundial.

Los esfuerzos de ganaderos particulares ya son importantes, debido a que contamos con descendientes de animales importados y animales "tipo" o criollos, con excelentes resultados en cuanto a su conformación. Sin embargo las organizaciones de productores no se encuentran tan fortalecidas y por ende los programas y actividades del gremio apenas están surgiendo.

Según Barrios:

La información en ovinos es escasa, desactualizada y muy general. Normalmente los productores recurren a publicaciones hechas en otros países, información en Internet o prácticas antiguas y obsoletas. Los productores que han tenido esta actividad como tradición, normalmente no publican resultados y la mayoría de la información se pierde o no es recolectada.¹

No hay muchos profesionales del agro especializados en ovinos, ya que la mayoría está dedicado a otras especies domésticas, igualmente no son muchos los productores que acuden a profesionales especializados en ovinos para que hagan el manejo y control en sus granjas, lo que para algunos productores se considera innecesario. Se destacan los recientes eventos y actividades que han llevado a cabo, algunos profesionales y entidades que se han enfocado en mejorar el desempeño reproductivo de la especie. El primer paso para mejorar la situación actual es la unificación de los productores, lo que a futuro va a fortalecer la actividad en sí, lo que significa más apoyo, vinculación y motivación de más productores, calidad en los productos y mejores mercados. Cabe destacar los trabajos que se vienen realizando en Santander, Atlántico, Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Sucre, Córdoba y Valle del Cauca, en busca de fortalecer las agremiaciones de productores y mejorar los parámetros productivos y reproductivos de la especie.

Con base en los parámetros de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) todas las razas bovinas y ovinas locales reportadas en el Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS) se encuentran en situación vulnerable. No sucede lo mismo con la oveja criolla, aun cuando la más reciente formada *Mora* si se clasificaría en peligro de extinción; escapa también la situación del cerdo local o criollo de la variedad conocido como Zungo; igualmente los caballos criollos. La información de las anteriores especies se encuentra reportada en el DAD-IS.²

¹ BARRIOS, Camilo E. Situación actual ovinocultura en Colombia. Bogotá (Colombia): [En línea]. [citado el febrero 25 de 2009] disponible en: (www.Engormix.com.mht/ La Ovinocultura Una alternativa Promisoria para el sector agropecuario en Colombia p. 19.)

² FAO. 2000. Estadísticas de producción de animales primarios, producción de carne de conejo estimada para 1999. [en línea] www.faoestad.org [citado marzo 15 del 2000]

En Colombia existen programas de conservación *in situ* de instituciones públicas, mediante rebaños básicos de cría administrados por instituciones adscritas al ministerio de agricultura y de desarrollo rural, de cuatro de las nueve razas bovinas criollas y colombianas (Blanco Orejinegro, Costeño con Cuernos, Romosinuano y Sanmartinero); de la oveja criolla de lana y de pelo y de la raza caprina criolla y de cerdo Zungo y se ha iniciado recientemente un programa de rescate del cerdo casco de Mula y Sanpedreño.³

En Colombia se ha integrado un sistema nacional de conservación de recursos genéticos criollos, en centros de investigación de CORPOICA ubicados en las zonas agroecológicas de la costa norte, C.I. Turipana en Montería, donde se estableció los bancos de germoplasma en las razas bovinas criollas Romosinuano, Costeño con Cuernos y de la raza porcina Zungo y en C.I. Motilona los bancos de germoplasma de la raza ovina de pelo y caprina criolla, en la zona andina el C.I. Tibaitata, el banco de germoplasma de ovino criollo de lana y en el C.I. el Nus la raza bovina Blanco Orejinegro y la raza porcina Sanpedreño, en la zona de los llanos orientales, el C.I. la Libertad, la raza bovina Sanmartinero y la porcina Casco de Mula.⁴

4.2 PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE LOS OVINOS

Las ovejas son hembras poliestricas estacionales (el celo se presenta en una determinada época del año) de días cortos, es decir, solo presentan celo cuando el fotoperiodo es corto o anochece más temprano, Agosto a Marzo y reposo sexual entre Abril y Junio. Esto se presenta en países con estaciones.

Cuando presentan celo, el ciclo dura entre 16 y 17 días en las ovejas más viejas y entre 14 y 16 días en las corderas. Durante los días que esta en celo se observan algunas modificaciones en su comportamiento y esto es más evidente delante de machos. El celo puede durar entre 30 y 40 horas (promedio 29 horas). Dependiendo de la edad, raza y presencia de machos. La ovulación por lo común ocurre en las últimas horas del celo y se liberan uno o dos óvulos. Las hembras llegan a la pubertad entre los 8 y los 10 meses (9 meses) Y los machos llegan a la pubertad entre 4 y 6 meses, sin embargo, la edad propicia para la reproducción varía entre los ocho meses.

³ INFORME NACIONAL DE LA SITUACIÓN DE LOS RECURSOS ZOOGENETICOS. 2003. Recopilado y editado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Corpoica, ICA. 122p.

⁴ MARTÍNEZ, R.; ÁVILA, O.; PÉREZ, J.; GALLEGOS, J y ONOFRE, H. Estructura y función del banco de germoplasma *in vitro* en Colombia. 2005 En: Archivo de zootecnia vol. 54, núm. 207 Universidad de Córdoba España p. 550.

La longevidad media está en torno a los 12-14 años:

El lugar de eyaculación es la vagina y la fertilización ocurre entre 4 y 10 horas postcoito. La implantación del huevo en la placenta ocurre entre 25-30 días postcoito. La duración de gestación de 145-150 días⁵.

4.2.1 Actividad sexual estacional. Se puede postular que la melatonina estimula los procesos reproductivos de los animales que se cruzan en los días cortos.

La duración de la actividad sexual de los ovinos varía con la raza:

- ✓ Raza Prealpina la actividad sexual dura 260 días.
- ✓ Raza Merino la actividad sexual dura 200 días.
- ✓ Raza Blackface la actividad sexual dura 139 días.
- ✓ Raza Soudown la actividad sexual dura 120 días.

Los ovinos y caprinos en países con estaciones tienen bien definida los meses de la actividad sexual. Principia en Agosto y termina en Marzo del año siguiente. Presentan un completo reposo sexual entre Abril y Junio.

En los climas tropicales las ovejas y las cabras importadas exhiben actividad sexual estacional entre Julio y Diciembre y las razas criollas todo el año.

Durante el invierno la melatonina estimula los receptores específicos localizados en el cerebro, y la secreción de GnRH es mayor en la oveja, por lo cual no se sabe si las áreas cerebrales involucradas en el control fotoperiódico de la reproducción son las mismas, o varían los receptores en número y tipo, o la acción de la melatonina cambia en la célula blanco de esta especie.

Para la comprensión del mecanismo involucrado en la estacionalidad natural debe incluir los perfiles de otras hormonas, tales como prolactina y tiroxina que interfieren la función gonadotrópica y su secreción también se modula fotoperiódicamente. Por otra parte la luz es eficaz solamente durante un periodo preciso de las 24 horas del ciclo luz-oscuridad. Según la especie este periodo

⁵ ANIMALES Y PRODUCCIÓN. El proceso reproductivo de las ovejas. [en línea]. [citado el 25 de febrero de 2009] disponible en: (http://www.mundopecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas.html)>El proceso reproductivo de las ovejas).

sensitivo se manifiesta 10 a 20 horas después del amanecer. Es corto en aves (1 hora) y notablemente largo en ovinos (7 horas).

Los cambios en la duración de la luz diurna producen variaciones en los niveles séricos de las gonadotropinas y la prolactina.⁶

4.2.2 Ciclo estral de la hembra ovina. En promedio el ciclo estral dura 17 días, de los cuales 15 días corresponden a la fase luteal y 2 días a la fase folicular y es en esta última en la que se presenta el celo. En este periodo la hembra manifiesta comportamiento sexual activo, es decir, la hembra permite la monta del macho. El macho detecta a la hembra en celo a través de las feromonas que se liberan de la secreción vaginal.

La oveja es receptiva al carnero únicamente en un periodo de tiempo de 24-36 horas denominado celo y de no quedar preñada repetirá todo el ciclo mientras dure el fotoperiodo corto. La oveja ovula a aproximadamente 48 horas después de la iniciación del celo.

4.2.3 Ondas de desarrollo folicular en pequeños rumiantes. Hasta 1993 la mayoría de los estudios sobre la foliculogénesis en pequeños rumiantes (ovinos-caprinos) habían sido enfocados al estudio de poblaciones foliculares (datos estáticos), y muy pocos hacia el seguimiento dinámico de folículos. De ese modo se había determinado que las ovejas adultas contienen entre 12.000 y 86.000 folículos primordiales y entre 100 y 400 folículos en crecimiento dependiendo de la raza, de estos entre 10 y 40 folículos son visibles en la superficie ovárica. Recién con la entrada de la ultrasonografía transrectal se empezó a entender mejor todo el proceso fisiológico de ondas foliculares que había sido propuesto por Noel et al, en 1993 donde sostenía que la dinámica folicular en el ovino era similar a la observada en el bovino es decir en forma de ondas de desarrollo; pero esto ya había sido postulado por Brand y de Jong en 1973.⁷

4.2.3.1 Desarrollo folicular. La foliculogénesis es el proceso mediante el cual se forman los folículos pasan por diferentes etapas de crecimiento y desarrollo, hasta que se produce la ovulación o bien entra en atresia; este proceso se inicia tempranamente durante la vida embrionaria de modo que al nacer, la oveja, al

⁶ RAMOS DUEÑAS, José I. Fisiología de la Reproducción. Bogotá: Mc GrawHill, 1993. p. 13.

⁷ NOEL B.; BISTER JL y PAQUAY R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. En: Theriogenology. 1993; Vol: 41 p. 727.

igual que la mayoría de especies domesticas cuenta con un “pool” de ovocitos que han detenido su crecimiento. Estos ovocitos que no poseen zona pelucida y están rodeados por una sola capa plana de células de la pregranulosa, conforman los folículos primordiales⁸.

Hirshfield afirma:

En forma continua desde antes de la pubertad se produce la activación folicular (reclutamiento inicial) cuando dejan de estar presentes ciertos factores inhibitorios que mantenían a los folículos en estado quiescente, a medida que progresan en su desarrollo, sus células de la pregranulosa se tornan cuboidales y comienza a formarse la teca interna para ser folículos primarios. Estos dan lugar a los folículos secundarios, en los que las células de la granulosa han proliferado para conformar varias capas, todos estos folículos son clasificados como preantrales ya que aun no se ha conformado el antro⁹.

La foliculogenesis hasta la etapa en que se forma el antro folicular es independiente de las gonadotrofinas de que la etapa inicial de la foliculogenesis es estimulada por otros factores.

A medida que progresa la foliculogenesis los folículos se hacen sensibles a las gonadotrofinas, de modo que son capaces de responder al incremento de la FSH.

Eppig menciona que:

A partir de la pubertad y durante toda la vida reproductiva, grupos de folículos antrales que han abandonado la reserva continúan su desarrollo bajo la acción de las gonadotrofinas iniciándose así la etapa de dependencia a estas. Este proceso de desarrollo folicular gobernado por la gonadotrofinas tiene lugar en una forma organizada y cíclica, describiendo un patrón que ha sido denominado ondas foliculares¹⁰. (figura1).

⁸ PICAZO.; A.R y LÓPEZ, S.A. Desarrollo folicular en el ovario de la especie ovina. En: Producción y Sanidad Animal. 1995; Vol: 10. p. 93.

⁹HIRSHFIELD, A.N. Development of follicles in the mammalian ovary. En: Inter. Rev. Cyt. 1991; Vol: 124. p.101

¹⁰ EPPIG, J.J. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. En: Reproduction. 2001; Vol: 122. p.838.

Según, Evans A. *et al* :

Los estudios realizados en ovejas difieren con respecto a la cantidad de ondas foliculares que se desarrollan durante un ciclo, de modo que se han reportado entre 2 y 4 ondas. Debido a esta variación la emergencia de la onda folicular ovulatoria acontecerá entre los días 9 y 14 del ciclo estral, cada onda folicular consta de tres etapas: reclutamiento, selección, dominancia.¹¹

El reclutamiento corresponde a la emergencia o inicio de la onda folicular. Es la etapa donde un grupo limitado de folículos antrales son capaces de responder al incremento de los niveles de FSH en sangre y depender de ella para continuar su crecimiento; para ser reclutados los folículos deben ser saludables y depender de las gonadotrofinas lo que corresponde a un tamaño de 2mm en la oveja. La FSH es la hormona clave del inicio del reclutamiento como así lo evidencia la asociación entre el surgimiento de la FSH y el reclutamiento, para que esto ocurra este reclutamiento debe existir una concentración mínima o umbral de FSH, la cual es variable entre animales, pero estable para un mismo animal a lo largo del tiempo, el efecto principal de la FSH es inducir la actividad aromatasa en las células de la granulosa para que sintetice E2. De esta forma la aparición de la actividad aromatasa se asocia con el reclutamiento folicular, el tamaño de los folículos debe ser de 2mm que coincide con el comienzo de la actividad aromatasa.¹²

El mecanismo de producción de E2 por el folículo responde a la “hipótesis de las dos células”, debido a que las células de la granulosa y las células de la teca presentes en el folículo son las encargadas de su síntesis. Para que ello ocurra el folículo cuenta con receptores de LH en las células de la teca y receptores de FSH en las células de la granulosa. El punto de partida para la producción de E2 es el colesterol, el cual es transformado en pregnenolona en las células de la teca o la granulosa, en respuesta a la LH la pregnenolona en las células de la teca es convertida en andrógenos, los que pasan a través de la membrana basal hacia la granulosa. En las células de la granulosa bajo acción de la FSH los andrógenos son convertidos por aromatización en estrógenos. La FSH y los estrógenos cumplen la función de ejercer una acción mitogenica en las células de la granulosa y aumentar la producción de líquido folicular en la medida que el antro va creciendo. La selección sigue a la fase de reclutamiento.

¹¹ EVANS, A.C.; DUFFY, P., HYNES, N y BOLAND, M.P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. En: Theriogenology. 2000; Vol: 53. p. 715.

¹² DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. En: Theriogenology. 2001; Vol: 55. p. 1239.

El folículo dominante crece a una tasa alta y los demás folículos subordinados crecen inicialmente a una velocidad menor para luego detener su crecimiento este fenómeno de crecimiento diferencial se ha denominado desviación¹³, se supone que el folículo más grande será seleccionado para ovular pero el proceso resulta más complejo. El folículo seleccionado tiene la mayor cantidad de receptores de LH y FSH, su actividad aromatasas es máxima por lo que posee los mayores niveles intrafolículos de estradiol y pareciera ser el primero en desarrollar receptores para LH en las células de la granulosa, lo que ocurre al alcanzar unos 4 mm.

Gonzales Bulnes *et al.* afirma que: “Durante la dominancia tiene lugar el crecimiento final del folículo preovulatorio y su maduración en tanto que los demás folículos del grupo completan su regresión por atresia, la aparición de nuevos folículos en crecimiento estaría disminuida pero no suprimida totalmente; sin embargo el desarrollo posterior estaría inhibido”¹⁴.

El mecanismo principal que regula la selección es la reducción de la FSH que acontece 2 a 3 días después del inicio del reclutamiento, esta caída ocurre por acción combinada de la inhibina y el E2 producidos por el futuro folículo dominante que actúan por retroalimentación negativa sobre la pituitaria;¹⁵ este mecanismo sirve para retirar el apoyo que brinda la FSH a los otros folículos menos desarrollados de modo que su descenso conduce a la disminución de la actividad de la aromatasas. También existe la síntesis de factores por el folículo dominante que inhibe directamente la producción de E2 en los folículos subordinados. De esta forma se limita la producción de E2 en los folículos menos maduros, marcándose así el cese de la proliferación de la granulosa.

¹³ GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULIC, L.J y WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. En: Theriogenology. 1997; Vol: 48. p. 87.

¹⁴ GONZÁLEZ-BULNES, A.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K.; COCERO, M.J.; GARCIA-GARCIA, R.M.; INSKEEP, E.K.; LOPEZ-SEBASTIAN A.; McNEILLY, A.S.; SANTIAGO-MORENO, J.; SOUZA, C.J.H y VEIGA-LÓPEZ, A. Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. En: *Reprod. Fertil. Dev.* 2004; Vol: 16. p. 435.

¹⁵ GIBBONS, J.R.; WILTBANK, M.C y GINTHER, O.J. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. En: *Biol. Reprod.* 1997; Vol: 57. p. 1073.

En el proceso de síntesis esteroideal se fomenta la conversión a un microambiente androgenico que finalmente inducirá en el folículo su atresia irreversible.¹⁶ Sin embargo el folículo dominante debe superar las consecuencias de la supresión de FSH provocada por su propia producción de E2, siendo la aparición de receptores de LH en las células de la granulosa el requisito para que ello ocurra.

Sirois, J. y Fortune, J. E., describen,

El desarrollo de los receptores de LH en la granulosa es iniciado por la FSH y el ritmo de formación de estos receptores se incrementa al unisonó con el aumento en la concentración de E2, de esta forma la producción acelerada de E2 actúa a nivel central para estimular el pico de LH y a nivel local para promover la inducción del receptor correspondiente, en síntesis el cambio a la dependencia de LH provee a los folículos seleccionados la capacidad para sobrevivir y continuar creciendo ante concentraciones bajas de FSH. Este folículo dominante finalmente ovula o se atresia dependiendo de la existencia o no de cuerpo lúteo, en caso de existir cuerpo lúteo la P4 inhibe los pulsos de LH de modo que el folículo dominante no termina su maduración y sufre atresia.¹⁷

Ginther menciona al respecto:

La magnitud de la dominancia es medida por la diferencia de tamaño entre el folículo dominante y el folículo subordinado más grande, diferencia que es de solo 2 a 3 mm en la oveja, por lo cual la dominancia en esta especie seria más débil. Cuando la concentración de LH es baja, los folículos mas grandes se tornan críticamente dependientes de la FSH sin establecer dominancia, lo cual ocurre durante la fase luteal de la oveja debido a los efectos supresores de la P4. Tras la luteolisis al ir aumentándola secreción de LH, la dominancia se hace más evidente.¹⁸

Gibbons expresa que: “Luego del cese de la síntesis de E2 como consecuencia de la ovulación, ocurre un pico secundario de FSH, el cual estimula la emergencia de una nueva onda folicular”¹⁹.

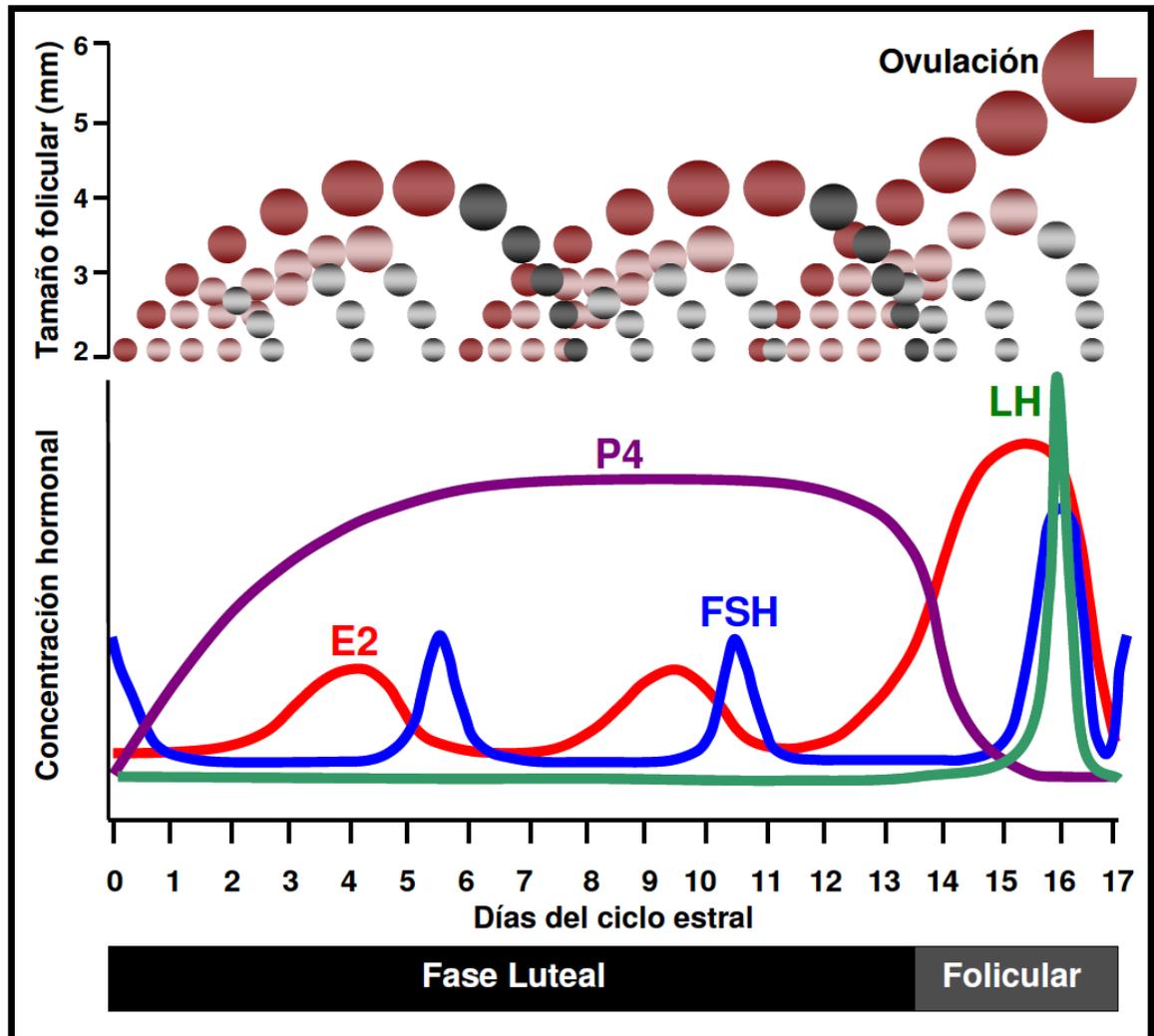
¹⁶ ROSELL PARDO, R.; LLORENTE VILLA, R.; RAMÍREZ RUBIO, A.; VERDECIA RONDON, M y HERNÁNDEZ TORRES, E. Regulación neuroendocrina del ciclo estral en los animales domésticos. En: REDVET. 2004; Vol: 5. p.7.

¹⁷ SIROIS, J. y FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. En: Biol. Reprod. 1988; Vol: 39. p. 317.

¹⁸ GINTHER. Op. cit., p. 90.

¹⁹ GIBBONS. Op. cit., p. 1092.

Figura 1. Representación esquemática del desarrollo folicular y de los perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja.



Se muestra el crecimiento y la atresia de los folículos para un patrón de 3 ondas de desarrollo folicular hacia los días 0, 6 y 11 (desde el reclutamiento de folículos de al menos 2 mm de diámetro hasta su atresia u ovulación, con 5 a 6 mm). La LH se mantiene basal durante casi todo el ciclo y alcanza niveles elevados sólo durante el pico preovulatorio. La FSH es producida en ondas en coincidencia con las ondas foliculares y su elevación principal ocurre junto al pico preovulatorio de LH. El E2 presenta elevaciones periódicas en coincidencia con el final de la fase de crecimiento del folículo mayor de la onda folicular y su elevación principal ocurre en la onda ovulatoria. La P4, que se mantiene baja durante la fase folicular, va aumentando con el transcurso de la fase luteal y cae abruptamente tras la luteólisis.

4.2.4 Detección de celo. Las hembras que entran en celo presentan algunas características como:

- ✓ Vulva sonrojada y edematosa.
- ✓ Vulva húmeda con descarga de flujo vaginal transparente, blancuzco o cremoso.
- ✓ Orina frecuentemente.
- ✓ Balidos frecuentes.
- ✓ Movimiento rápido de la cola hacia los lados y este movimiento es más precipitado cuando están cerca del macho.
- ✓ Intranquilidad.²⁰

4.2.5 Gestación de las ovejas. El período de gestación es de 145 a 153 días. Es decir, 5 meses aproximadamente.

La oveja puede liberar dos o más óvulos, por lo que pueden tener partos múltiples, pero en raras ocasiones paré más de dos crías. “Durante los primeros meses de gestación se le debe suministrar el alimento necesario para el mantenimiento pero sin llegar a engordar en exceso a la hembra, ya que los requerimientos de la misma no son muy diferentes a los de mantenimiento”.²¹

Es recomendable separar a las hembras servidas del resto de la manada para evitar el maltrato y posibles abortos. Dos semanas antes del parto se deben desparasitar. El día anterior al parto es recomendable disminuir la cantidad de alimento a la madre y mantenerla en un lugar seco y tibio y bajo la observación constante.

4.2.6 Proceso de parto en las ovejas. Como es otras especies el proceso de parto se da en tres etapas o fases:

²⁰ ANIMALES Y PRODUCCION. El ciclo estral de las ovejas [en línea]. [citado el 25 de febrero de 2009]. Disponible en: (http://www.mundopecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas/ciclo_estral_ovejas-1451.html)>El ciclo estral de las ovejas).

²¹ ANIMALES Y PRODUCCION. La gestación de las ovejas. [en línea]. [citado el 25 de febrero de 2009]. Disponible en: (http://www.mundopecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas/gestacion_ovejas-1452.html)>La gestación de la ovejas).

- a. Dilatación del cuello uterino.
- b. Expulsión del feto.
- c. Expulsión de las membranas placentarias.

Cuando la explotación ovina es intensiva lo más común es que el parto se dé dentro del aprisco o galpón bajo la estricta vigilancia del productor. Esto, con la intención de aumentar el número y peso de las crías destetadas ya que hay un mayor control sobre el nacimiento de las crías, el estado de la madre, los aspectos sanitarios y clínicos y cualquier eventualidad puede ser solucionada en el tiempo pertinente. En este caso se deben tomar en cuenta algunos aspectos como:

- La hembra debe permanecer en un lugar seco y libre de corrientes de aire.
- Se debe evitar la acumulación de heces en el lugar.
- Se le debe proveer agua y comida en abundancia
- Controlar los aspectos sanitarios y de bioseguridad.

Sin embargo, en muchas fincas y granjas la explotación ovina es una actividad secundaria. Y en este caso el parto por lo general se da en los potreros. En este caso aumenta un poco la mortalidad de los neonatos como consecuencia de ataques de animales, frío o problemas durante parto que por no ser detectados no pueden ser tratados a tiempo.²²

4.3 GNRH

Jiang, G., et al., reporta:

La gonadotropin-releasing-hormone (GnRH) es decapeptido (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) es una hormona hipotalámica (figura2), esta actúa sobre la pituitaria donde hay receptores para GnRH. Esta es secretada de manera pulsátil y tiene una vida corta de 2-5 minutos debido a una rápida degradación por proteasas. La GnRH estimula en la pituitaria la producción y secreción de las hormonas luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) que a su vez actúan en las gónadas regulando la producción de esteroides, espermatogenesis, desarrollo folicular ovárico y la ovulación.²³

²² ANIMALES Y PRODUCCION. El proceso de parto en las ovejas [en línea]. [citado el 25 de febrero de 2009]. disponible en: (http://www.mundopecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas/parto_ovejas-1453.html)>El proceso de parto en las ovejas..

²³ JIANG, G.C.; STALEWSKI, J.; GALYEAN, R.; DYKERT, J.; SCHTEINGART, C y BROQUA, P.; et al. GnRH antagonists: a new generation of long acting analogues incorporating para-ureido-phenylalanines at position 5 and 6. *J. En: Med. Chem.* 2001; Vol: 44. p.467

En los análogos de la GnRH están incluidos agonistas y antagonistas, estos han sido producidos por la sustitución de aminoácidos de la molécula natural de GnRH.

Karten, C. y Rivier. J., mencionan que: “Desde el aislamiento y la caracterización del producto químico de GnRH en 1971, se han desarrollado más de 3000 análogos”²⁴.

Padula afirma que: “Al ser susceptible a la degradación gastrointestinal por las peptidasas, la administración oral de los análogos es inadecuada (0.1% viabilidad) por lo anterior esta requiere una administración parenteral”²⁵.

Aunque desarrollaran a los antagonistas simultáneamente con los agonistas, duró mucho para que éstos lleguen a ser disponibles en el comercio.

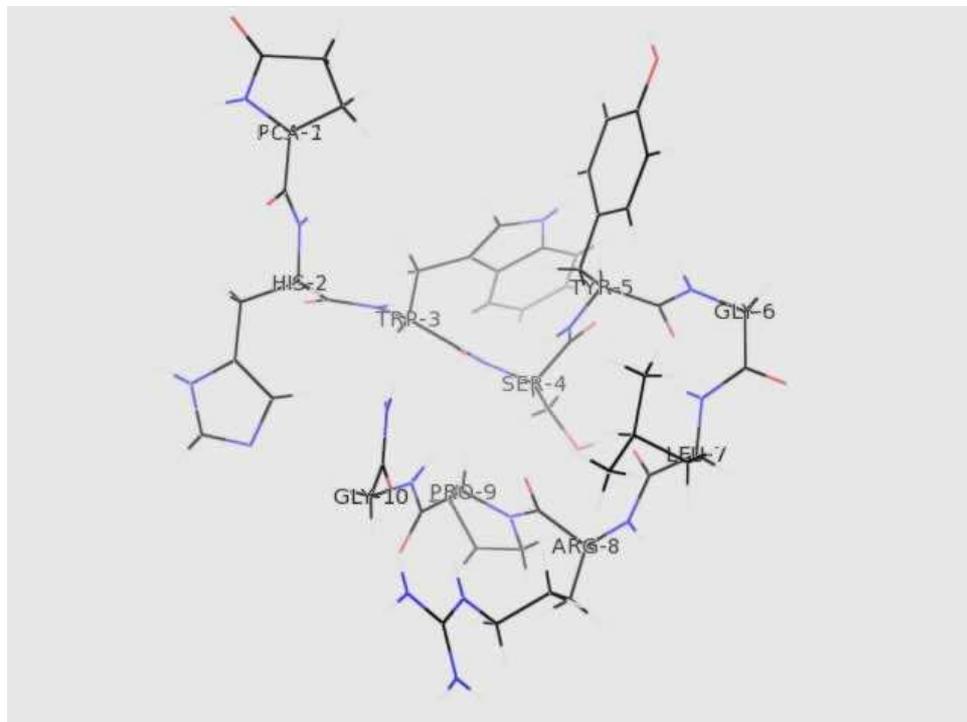
Karten también menciona: “El interés en análogos sintéticos fue centrado en desarrollar modificaciones químicas a la molécula de GnRH con la expectativa de mayor potencia y de un período de vida más largo. Esto se alcanzó aumentando la afinidad del receptor y disminuyendo la degradación y la eliminación”²⁶.

²⁴ KARTEN, C. y RIVIER. J.E. GnRH analog design, structure–function studies toward the development of agonists and antagonists: rationale perspective. En: Rev. Endocrina. 1986; Vol: 7. p.66.

²⁵ PADULA, A.M. GnRH analogues-agonists and antagonists. En: Anim. Reprod. Sci. 2005; Vol:88. p.126.

²⁶ KARTEN. Op. cit., p.68

Figura 2. Estructura química de la GnRH.



4.3.1 Efectos farmacológicos. Los agonistas de la GnRH inicialmente estimulan la producción y la salida de gonadotrofinas desde la pituitaria con una potencia variable. Las actividades farmacológicas paradójicas, anti-reproductivas de los agonistas potentes (superagonistas) fueron inicialmente descubiertas y descritas. La duración del tratamiento determina en gran parte si los efectos que están siendo inducidos son pro o anti-fertilidad. Así, prolongado la administración de agonistas funciona con la desensibilización de los receptores de GnRH, que da lugar a una eventual baja en la regulación y a una disminución de receptores.²⁷

Vickery, B., et al. Expresa que:

La esterilización química ha sido alcanzada desensibilizando la pituitaria con administraciones continuas de GnRH o administrando agonistas con formulaciones de salida de largo plazo. Sin embargo, este procedimiento da lugar inicialmente a un lanzamiento creciente de FSH y de la LH, que se mira

²⁷ VICKERY, B.H.; MC RAE, G.I.; GOODPASTURE, J.C y SANDERS, L.M. Use of potent LHRH analogues for chronic contraception and pregnancy termination. En: J. Reprod. Fertil. 1989; Vol: 39. p.187.

generalmente como desventaja inherente porque puede inducir estro y ovulaciones y retrasa la supresión gonadal por 7-14 días.²⁸

4.4 EL BANCO DE GERMOPLASMA

El banco de germoplasma In vitro es un soporte y herramienta para la conservación de germoplasma de las razas criollas colombianas que se encuentran en peligro de extinción. Este banco mantiene bajo condiciones de ultracongelación, material germinal (semen y embriones) de siete razas bovinas criollas, Sanmartinero, Romosinuano, Costeño con Cuernos, Casanare, Blanco Orejinegro, Chino Santandereano y Hartón del Valle, además se almacena material germinal de las **razas ovinas Criolla de Lana, Mora y Criolla de Pelo**.

Actualmente, este banco in vitro funciona con un banco central y tres bancos satélites ubicados en los sitios donde se manejan los bancos de germoplasma in situ; se tiene un inventario de 23554 pajillas y 167 donadores de semen de la especie bovina, 4688 pajillas de 107 donadores de la especie ovina y 320 embriones de las especies bovina y ovina.

Martinez S. y Vasquez R. argumentan que:

El material almacenado en el banco cuenta con una completa descripción de calidad, así como de información genealógica y productiva de los donadores. En este sentido se han realizado procesos de evaluación productiva de las poblaciones que cuentan con banco de germoplasma in vivo y esta información ha permitido enriquecer la documentación del banco de germoplasma in vitro. El material almacenado en el banco será utilizado dentro de las poblaciones vivas, con el objeto de mantener un flujo constante de genes en la población y evitar el incremento en los índices de consanguinidad, además ha permitido el desarrollo de procesos de promoción y fomento de las razas criollas colombianas.²⁹

4.5 TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN OVINOS

En los últimos años las técnicas modernas de reproducción asistida han cobrado interés, debido a los beneficios productivos y sanitarios que generan. Estas

²⁸ Ibíd., p. 188.

²⁹ MARTÍNEZ S. Rodrigo y VÁSQUEZ R. Rodrigo., Evaluación de la Conservación y Comportamiento Productivo del Banco de Germoplasma de la Especie Ovina en Colombia. [en línea]. [citado el 25 de febrero de 2009]. Disponible en: (<http://www.corpoica.gov.co/SitioWeb/Ofertas/articulo.asp/id=1221&index=0>).

tecnologías permiten disminuir los intervalos entre generaciones e introducir elementos mejoradores que aumentan la eficiencia de la producción.

De otra manera, este mejoramiento se dificultaría debido a las barreras existentes en la comercialización e importación de animales en pie, debido a la presencia de enfermedades como la fiebre aftosa. Por otra parte, debemos recordar que bajo condiciones naturales, sólo podemos obtener de 6 a 7 crías de una reproductora a lo largo de su vida productiva.

Según Gibbons A. y Cueto M.:

La ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET) es una técnica que permite aumentar la productividad de las especies domésticas, asegurar la conservación de los recursos genéticos, difundir material genético de alto valor comercial, además de reducir riesgos en la transmisión de enfermedades, debido a que en los primeros estadios de su desarrollo los embriones presentan una protección natural contra los agentes infecciosos³⁰.

Sin embargo, a pesar de sus beneficios, la introducción de nuevas tecnologías en la reproducción de ovinos y caprinos, muchas veces se dificulta debido al bajo nivel técnico de la mayoría de los criadores. Por otra parte, el uso práctico de MOET está limitado por la gran variabilidad que se observa en la respuesta al tratamiento superovulatorio además del variable y bajo número de embriones recuperados transferibles.

Según González-Bulnez et al: esta variabilidad está relacionada tanto a factores extrínsecos, como el origen y pureza de las hormonas superovulatorias utilizadas y del protocolo de administración, e intrínsecos como la raza, edad, estado nutricional y reproductivo de la hembra.³¹

³⁰ GIBBONS A. y CUETO M. 1995. Transferencia de embriones en ovinos y caprinos. INTA. EEA. [en línea]. [citado el 2 de marzo de 2009]. Disponible en: (<http://www.inta.gov.ar/bariloche/info/documentos/animal/reproduc/pa290.htm>).

³¹ GONZÁLEZ. Op.cit., p.435.

4.5.1 Ovulación múltiple y transferencia de embriones.

Bonino Morlán *et al.* Expresan que:

La superovulación o superestimulación, generalmente asociada a la transferencia de embriones, fue denominada con el término "MOET" ("multiple ovulation and embryo transfer") por Nicholas y Smith en el año 1983. Ésta consiste en inducir mediante tratamientos hormonales una alta tasa ovulatoria en las hembras donantes para luego recuperar y transferir los embriones, directamente o tras su conservación, a otras hembras de la misma especie pero de menor valor, las cuales actúan a modo de receptoras para llevar a cabo la etapa de la gestación. Una reproductora donante podrá formar parte de un programa de transferencia en más de una oportunidad al objeto de multiplicar su potencial reproductivo³².

4.5.2 Factores que intervienen en la respuesta a la ovulación múltiple.

Donaldson, L afirma, que:

El factor intrínseco de cada animal juega un rol primario en la respuesta al tratamiento de ovulación múltiple. Estudios realizados en vacunos demostraron que solamente el 68% respondió con embriones transferibles. El 32% restante incluía a las hembras sin respuesta a la estimulación ovárica, sin recuperación de embriones u ovocitos, o con recuperación de embriones no transferibles. Por consiguiente siempre debe tener presente que un porcentaje de hembras no responderá al tratamiento hormonal de ovulación múltiple³³.

Según BREBION, P. y COIGNE, Y. "La variabilidad individual a la respuesta hormonal de ovulación múltiple está condicionada por el estado fisiológico del ovario y por el número de pequeños folículos (1 a 2 mm) en el momento de comenzar el tratamiento hormonal con FSH"³⁴.

En la selección de las hembras donantes se debe tener presente la alta variabilidad individual en la respuesta ovulatoria múltiple. Para evitar un gasto innecesario de tiempo y dinero, es posible realizar una predeterminación de la

³² BONINO MORLÁN, J.; HUGHES, P.; VILLAMIL, A.; AZZARINI, M. y VALLEDOR, F. Multiovulación y transplante embrionario en ovinos. En: Resumen de experiencias realizadas en Uruguay. Producción Ovina 1. 1989. p.22.

³³ DONALDSON, L. Embryo production in superovulated cows: transferable embryo correlated with total embryos. En: Theriogenology. 1984; Vol: 30. p.446.

³⁴ BREBION, P. y COIGNE, Y. Increased superovulation in the ewes following 14 days of GnRH agonist pre-treatment. En: 5th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association, 1989. Lyon, France. Abstract.

respuesta ovulatoria. La respuesta individual de cada hembra donante esta correlacionada positivamente ($r=+0.7$) con el numero de folículos presentes al momento de iniciar el tratamiento hormonal de ovulación múltiple.

Baril, G y Vallet, J.C. expresan que:

La raza es otro factor de variación, presentándose en las más prolíficas una mayor respuesta a la ovulación múltiple, embriones transferibles y crías nacidas. La estación sexual también influye sobre el número medio de ovulaciones por hembra ovina, siendo superior en la estación reproductiva con respecto al anestro. Esta diferencia no se observo en las cabras lecheras aunque la calidad embrionaria fue superior en época reproductiva³⁵.

La alimentación juega un rol importante en la respuesta a los tratamientos hormonales de ovulación múltiple, debido a que se ha demostrado que no solamente afecta la respuesta ovulatoria sino que es posible que presenten luteolisis prematuras, tanto en estación como en contraestacion sexual.

En la actualidad existen varios factores no bien esclarecidos, que controlan la foliculogénesis, el crecimiento folicular, la maduración de los ovocitos, la ovulación y la fertilización. Los avances que se logren en el entendimiento de sus funciones y sus interrelaciones, determinaran una mayor eficiencia de los tratamientos hormonales de ovulación múltiple, reduciendo los costos e incrementando los beneficios los protocolos MOET.

4.5.3 importancia de un protocolo MOET:

- **Mejora genética:** En los planes de mejora genética existen dos técnicas reproductivas tendientes a aumentar el progreso genético de los rebaños: la inseminación artificial y la superestimulación seguida de la transferencia de embriones. La inseminación artificial tiene por finalidad incrementar la tasa reproductiva de los carneros. Consiste en la recolección artificial del semen seguida por su deposición en el tracto reproductivo de las hembras en celo para producir la fecundación de los óvulos maduros.

De este modo, la obtención y fraccionamiento del semen de un carnero evaluado como genéticamente superior, permite acelerar la mejora de las características

³⁵ BARIL, G y VALLET, J.C. Effect of seasons on embryo production in dairy goat hand mated or cervically inseminated after superovulated treatment. En: 6th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association. 1990. Lyon, France. Abstract.

productivas de los rebaños al aumentar el número de crías logradas con respecto a las que se obtendrían en monta natural con el mismo carnero.

Simonetti, L. *et al* reportan, que:

Por su parte, las técnicas de superestimulación y transferencia de embriones permiten mejorar la tasa reproductiva de las hembras, al lograrse un mayor número de crías por oveja en un período determinado. De esta manera, la limitante que constituye el bajo número de crías que pueden lograrse a partir de una hembra, podría ser superada mediante estas técnicas. Sin embargo, la presión de selección de la oveja donante, a diferencia del carnero, no puede ser muy elevada, constituyendo ésta una de las limitantes más importantes para el uso de las técnicas MOET en los planes de mejora. No obstante, la mayor tasa reproductiva que se logra mediante la superestimulación y transferencia embrionaria permite aumentar la presión de selección ya sea por disponer de un mayor número de crías por hembra para destinar a la selección de los reemplazos, como por permitir reducir el número de madres seleccionadas de una generación para procrear la generación siguiente de reproductores. También es posible acortar el intervalo generacional cuando las donantes son hembras jóvenes (borregas) y las receptoras son de mayor edad.³⁶

Según Müller, J.:

La magnitud del efecto sobre la mejora genética es inversamente proporcional a la fecundidad de la raza. “En razas de baja fecundidad el mejoramiento logrado con estas técnicas puede llegar a duplicar al obtenido mediante la reproducción natural. A su vez, se obtiene un mayor beneficio en cuanto a la mejora cuando las borregas superestimuladas son inseminadas con borregos superiores³⁷.”

4.5.4 Técnica para la obtención, recuperación y transferencia de embriones.

La técnica consta de varios pasos

³⁶ SIMONETTI, L.; FORCADA, F.; RIVERA, O.E.; CAROU, N.; ALBERIO, R.H.; ABECIA, J.A. y PALACÍN, I. Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. En: Anim. Reprod. Sci. 2008; Vol: 104. p. 237.

³⁷ MÜELLER, J. Utilización de la inseminación artificial y la superovulación con transferencia de embriones en el mejoramiento genético de ovinos. En: Comunicación Técnica INTA EEA Bariloche. 1993. Vol: 323. p.7.

4.5.4.1 Sincronización de celo. Gibbons. Menciona: “El celo ovino se puede sincronizar farmacológicamente con el uso de $\text{PGF}_2\alpha$, o de dispositivos intravaginales impregnados con P4”.³⁸

4.5.4.2 Tratamiento de Superestimulación.

El mismo autor dice:

Después, se continúa con un protocolo de aplicaciones de FSHp cada 12 horas. Es importante señalar, que la manera como se administra el tratamiento superovulatorio tiene una gran influencia sobre la respuesta ovárica. El uso de dosis decrecientes de hormona FSHp parece dar los mejores resultados, en términos de tasa de ovulación y número de embriones recuperados viables, comparado con el protocolo de dosis constantes³⁹.

4.5.4.3 Recuperación de embriones.

González. Reporta que:

Una vez transcurridos 5 a 7 días de presentado el celo, o 5 días después de realizada la inseminación intrauterina, podemos recuperar los embriones por vía quirúrgica o por endoscopia. Estos a su vez pueden ser transferidos a hembras receptoras inmediatamente, o son congelados para su transporte y posterior transferencia. Por lo general estas intervenciones se llevan a cabo bajo anestesia general.

Una vez que se visualizan los ovarios, mediante endoscopia, se pueden determinar el número de ovulaciones (Cuerpos lúteos presentes). Se realiza una laparotomía media de 5 a 7 cm, y 3 cm por delante de la ubre. Se expone el cuerno uterino y a nivel de la unión útero tubárica se coloca una sonda, la cual en su extremo dispone de una aguja con punta no traumática y con dos perforaciones laterales y una central. Se fija la sonda en el interior de la luz del cuerno uterino.

En la curvatura mayor del cuerno uterino se realiza una segunda punción para la inyección de 20 ml de una solución tamponada de fosfato (PBS) a 37°C, la cual producirá una corriente de arrastre hacia el oviducto la cual sale por la sonda, moviendo los embriones hasta el envase de colecta.

³⁸ GIBBONS. Op. cit., p. 295.

³⁹ Ibid., p.295.

Una vez recuperados los embriones en un cuerno, se procede de igual manera con el otro. Finalizada la colecta de embriones, se realiza la sutura de los planos quirúrgicos y se administran antibióticos⁴⁰.

Existe otra técnica desarrollada en ovinos, mediante la cual se realizan tres punciones con trócares en la cavidad abdominal. La primera punción permite introducir el laparoscopio, la segunda una sonda de tres vías de las cuales una sirve para la entrada del PBS, otra vía para la salida del PBS y la tercera vía para la insuflación del balón. La tercera punción permite la introducción de una pinza no traumática que permite la manipulación del tracto reproductivo. Esta técnica requiere de un buen entrenamiento.

4.5.4.4 Búsqueda y clasificación de embriones.

Gibbons. También nos reporta:

Una vez recolectado el lavado uterino, con la ayuda de la lupa, se deben localizar los embriones. A medida que se identifican, son aspirados con una micropipeta y colocados en una placa de Petri conteniendo PBS enriquecido, con suero al 10% o albúmina bovina (BSA al 4%), protegiéndolos de la luz y a temperatura de laboratorio. Una vez finalizada la búsqueda, se procede a la clasificación de los embriones.

La clasificación de los embriones se realiza en base a sus aspectos morfológicos. Se deben observar desde distintos ángulos, por la integridad de la membrana pelúcida y la esfericidad de los mismos. El embrión debe tener un desarrollo acorde con el día de colecta; se tolera hasta un máximo de 48 horas de retraso. En el día 6 o 7, se deben descartar los embriones de menos de 32 células. Las células deben ser claras y de contorno regular, siendo la opacidad un signo de degeneración.

⁴⁰ GONZÁLEZ. Op. cit., p. 430.

Una vez escogidos los embriones, estos pueden transferirse a una hembra receptora o bien conservarse por enfriamiento a 4°C por 24h, para transportarlos a corta distancia o congelarse en nitrógeno líquido para la conservación durante períodos prolongados⁴¹.

4.5.4.5 Grados de clasificación de embriones:

- ✓ **Grado I:** Excelente, embrión ideal, esférico simétrico, con células de tamaño, color y textura uniforme. El desarrollo embrionario corresponde al día de la recolección. No existen defectos visibles. Los blastómeros son claramente visibles y la zona pelucida está intacta.
- ✓ **Grado II:** Bueno, hay algunas imperfecciones triviales, el embrión tiene muy pocos blastómeros desprendidos de la masa celular y/o posee una pequeña cantidad de vesículas. Su forma puede ser ligeramente irregular.
- ✓ **Grado III:** Regular, el embrión posee defectos definidos: detritus celulares, forma irregular, color muy oscuro o muy claro y/o ligero agrietamiento de la zona pelucida. Pocas células degeneradas, vesículas y presencia de blastómeros desprendidos.
- ✓ **Grado IV:** Malo, el embrión posee severos defectos: los correspondientes al grado III mas desarrollo retardado, seria ruptura de la zona pelucida – el embrión puede estar parcialmente fuera de la misma, forma muy asimétrica, tendencia a la desintegración con granulación y vacuolización de los blastómeros. Incluye a los estados hasta 8 células y la degeneración. Esta categoría de embriones no es transferible.

⁴¹ GIBBONS. Op. cit., p. 165.

Figura 3. Embriones vistos en microscopio

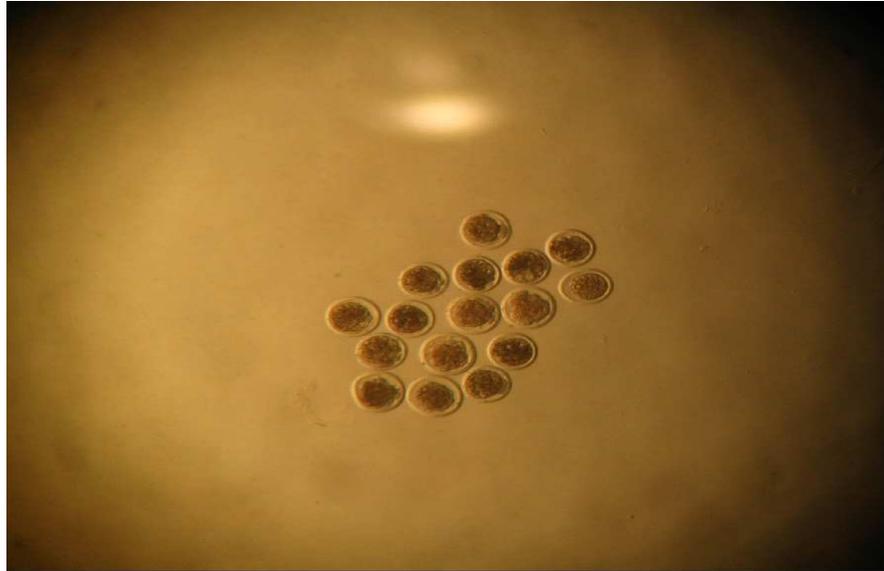
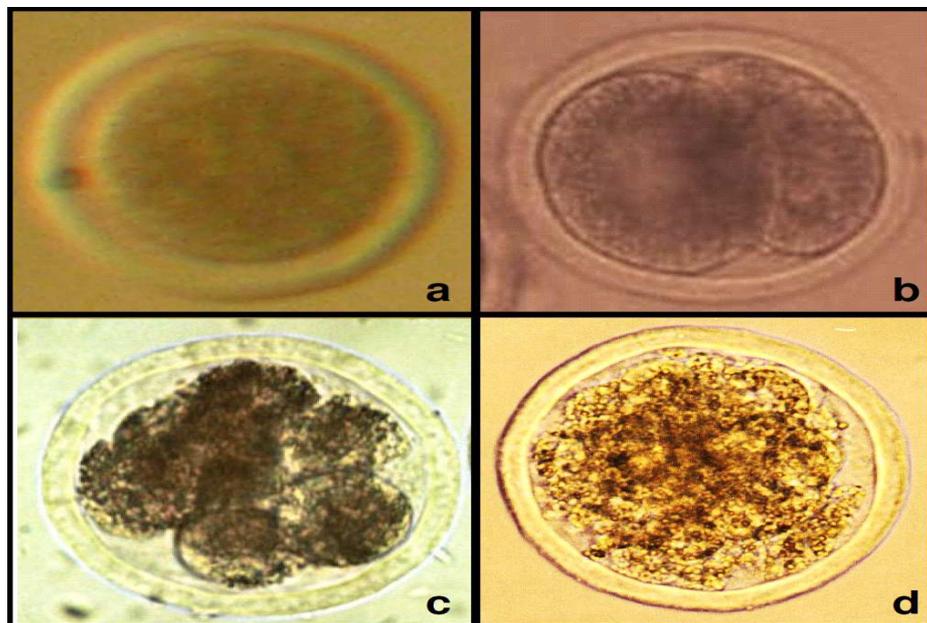
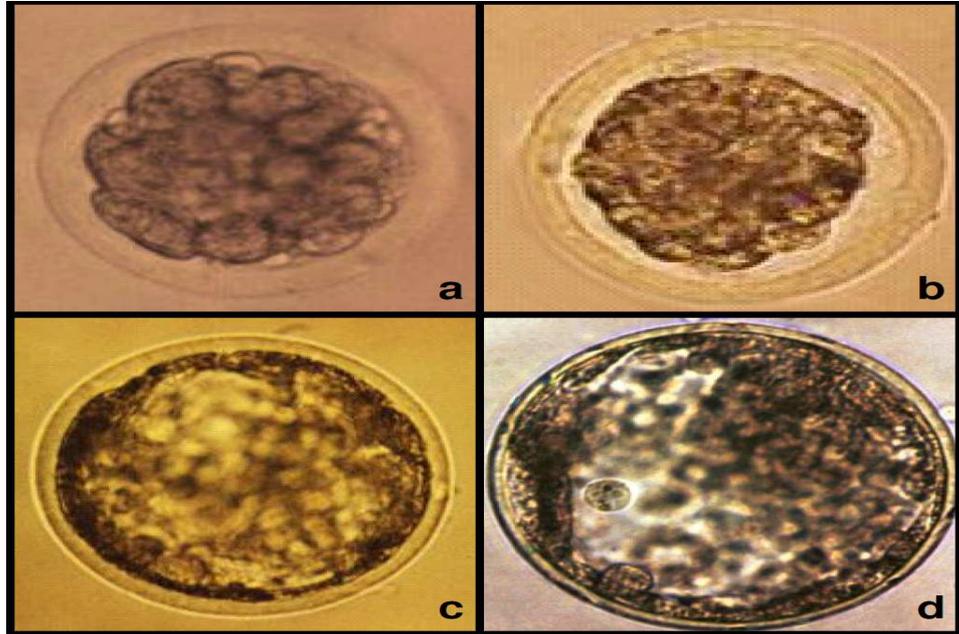


Figura 4. Embriones no viables



(a) Ovocito no fertilizado
(b) Embrión de 2 células
(c) y (d) Embriones degenerados

Figura 5. Embriones viables



- (a) Mórula
- (b) Mórula compacta
- (c) Blastocisto
- (d) Blastocisto expandido

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN

Según Fajardo, R. Y Cifuentes, J. la capital del departamento de Nariño, esta localizada a 1° 13' de latitud norte, 77° 17' de longitud oeste de Greenwich. La altura sobre el nivel del mar es de 2527 metros con una temperatura media de 14°C y precipitación anual de 841mm. Distante entre 795 Km. al sur de la capital de la República y a 85 Km por la vía panamericana de la frontera ecuatoriana.⁴²

El presente estudio se realizara en el municipio de Pasto en las instalaciones de la Clínica Veterinaria Carlos Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño.

5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La muestra utilizada fue de 8 animales hembras, adultas de la raza criollo colombiano, pertenecientes al Banco de Germoplasma Animal *in situ* que maneja CORPOICA, las cuales fueron seleccionadas por su alto valor genético.

Estas fueron distribuidas al azar en dos grupos conformados cada uno con 4 animales debido a que se utilizaran tratamientos diferentes en cada grupo.

Tabla 1. Inventario ovejas

OVEJAS CRIOLLAS	Nº REGISTRO	PESO (KG)	MACHO CORRESPONDIENTE	PESO (KG)
1	22574	42	24513	49
2	7568	31	24513	37
3	22578	35	25527	41
4	24504	32	25505	38
5	22804	40	26813	45
6	20804	36	25807	42
7	8820	37	26805	43
8	9860	40	26805	47

⁴² FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. DICCIONARIO Geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogota D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi", 2009. p. 350

5.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Los animales objeto de estudio fueron llevados a las instalaciones de la Clínica Veterinaria 7 días antes del inicio del ensayo donde se les realizó un examen clínico general, se les tomó muestra de sangre y heces. Además buscando que se adaptaran a las condiciones medioambientales de la zona. Posteriormente se realizó el protocolo de superestimulación.

El procedimiento de superestimulación se desarrolló en el municipio de Pasto en las instalaciones de la clínica veterinaria Carlos Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño, en el mes de marzo de 2009. Se utilizaron 8 hembras de la raza criollo colombiano, con un peso entre 31 y 42 Kg., y un rango de edad entre 7 y 9 años, distribuidas en los tratamientos.

La superestimulación se inició con la administración por vía I.M. de $\text{PGF}_{2\alpha}$ sintética (Día 0) (0.25 mg de D-Cloprostenol.), el día 10 se administró una segunda dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$, se detectó el celo con un macho recelador (celo de referencia). Al día 7 del celo se inició la superestimulación con 6 dosis de FSHp (4,4,3,3,2,2 mg) cada 12 horas, a la quinta dosis se aplicó $\text{PGF}_{2\alpha}$ sintética. Finalizando este procedimiento cada oveja permaneció en monta con el macho que le correspondía (figura 6) hasta que ya no fue receptiva a la monta.

Figura 6. Hembra receptiva a la monta



En la figura 6 se observa a la hembra número 8820 siendo receptiva a la monta por parte del macho.

Los tratamientos consistieron en: T1 (n=4), administración al inicio del celo por vía I.M. 0.1 mg de Gonadorelina, T2 (n=4), administración al inicio del celo por vía I.M. 0.0042 mg de acetato de Buserelina. Después de 6 días se realizó la colecta de embriones por método quirúrgico (figura 7), se expuso el útero y los ovarios, contando y midiendo cuerpos lúteos y folículos en cada ovario, y finalmente se consideraron como folículos no ovulatorios los mayores de 5mm.

Figura 7. Laparotomía medial



En la figura 7 se observa como se expone el tracto reproductivo durante la cirugía realizada (laparotomía medial).

Luego se insertó un catéter de polietileno de 2 mm de diámetro (Tom-cat) en el lumen uterino a unos 1.5 cm desde la unión útero-tubal y una sonda pediátrica (Folley) (figura 8) en la base del cuerno con la finalidad de proceder al lavado del mismo. El medio de lavado fue introducido desde la unión útero-tubal hacia la base del cuerno uterino. El medio empleado para la recuperación de los embriones consistió en buffer fosforado salino (PBS) con 1% suero bovino y 1% antibióticos (100 UI/ml penicilina y 50 UI/ml sulfato de estreptomicina) a una temperatura de 37°C que es importante para la viabilidad de los embriones. Cada cuerno fue lavado con 30 ml del medio.

Figura 8. Sonda folley fijada en útero



En la figura 8 se muestra la sonda folley fijada en un cuerno uterino.

El lavado recuperado de cada cuerno, fue colocado en placas de petri previamente reticuladas y observado bajo lupa estereoscópica para proceder a la búsqueda y valoración de los embriones. Las estructuras identificadas fueron lavadas con PBS a 37°C suplementado con 10% suero bovino y 1% antibióticos y mantenidas en este medio durante su evaluación. Se realizó una clasificación teniendo en consideración las siguientes categorías: ovocitos no fertilizados y embriones, tomando la presencia de clinaje en al menos dos células o blastómeros.

Las ovejas permanecieron en pos operatorio por 8 días en la instalaciones de la clínica veterinaria de la Universidad de Nariño para realizar una evaluación de su evolución post-quirúrgicas.

5.4 ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para cada grupo experimental se manejaron los siguientes indicadores:

- ✓ Numero de cuerpos lúteos
- ✓ Numero de folículos persistentes
- ✓ Número de embriones recuperados
- ✓ Tamaño de folículos persistentes
- ✓ Tamaño de cuerpos lúteos.

Se compararon los siguientes tratamientos:

Diseño 1 (tratamientos 1 y 2): Grupo 1 (6 dosis de FSHp (18mg) para la superovulacion repartidas en 6 aplicaciones de dosis decrecientes (4,4,3,3,2,2 mg) a la quinta dosis se aplica PGF2 α sintetica y al inicio de la monta se aplica 1 dosis en única inyección de un análogo de GNRH (Gonadorelina 0.1mg IM). Grupo 2 (6 dosis de FSHp (18mg) para la superovulacion repartidas en 6 aplicaciones de dosis decrecientes (4,4,3,3,2,2 mg) a la quinta dosis se aplica PGF2 α y al inicio de la monta se aplica 1 dosis en única inyección de un análogo de GNRH (acetato de Buserelina 0.0042mg)

Se evaluarán dos tratamientos.

- Tratamiento 1 (T1): Gonadorelina 0.1mg/ml. 1 ml IM
- Tratamiento 2 (T2): Buserelina Acetato 0.0042mg/ml. 1 ml IM

Se estableció el efecto de cada tratamiento en la superestimulación de ovejas criollas colombianas:

Ho: T1 = T2

Ha: T1 \neq T2

Todos los análisis fueron realizados mediante el paquete estadístico Statgraphics en los análisis estadísticos se tuvo en cuenta el nivel de confianza del 95%.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Presentación de Resultados

6.1.1 NÚMERO DE FOLÍCULOS PERSISTENTES

Tabla 2. Numero de folículos persistentes de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.

Número folículos	IC 95% Media	Número de folículos
T1	12.7 +/- 9.3	3.43 – 22.06
T2	16 +/- 13.05	4.6 – 30.59

En la tabla 2 se observa los resultados obtenidos de los folículos persistentes con valores medios para el T1 de 12.7 +/- 9.3, T2 de 16 +/- 13.05 y el intervalo de confianza del tamaño de folículos persistentes. Debido a que los datos tienen una distribución numérica normal se decidió realizar una prueba de ANOVA con un nivel de confianza del 95%, obteniendo un resultado con un p de 0.5428 para el número de folículos, Dado que el p-valor es mayor que 0.05, no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias para un nivel de confianza del 95.0%. “En el estudio realizado por L. *Simonetti et al.* en el 2004 reporta una baja incidencia de folículos persistentes lo que contrasta con este estudio donde se halló un alto número de folículos persistentes después de haber realizado un protocolo MOET, esto se puede asociar al efecto de los análogos utilizados como ovuladotes”⁴³.

⁴³ SIMONETTI, L.; FORCADA, F.; RIVERA, O.E. y CAROU, N., 2004. Simplificación de los tratamientos superovulatorios en ovinos. *En*: XXVII Congreso Argentino de Producción Animal", Tandil, Argentina: 2004. p.235.

Figura 9. Numero de folículos, entre los tratamientos: Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.

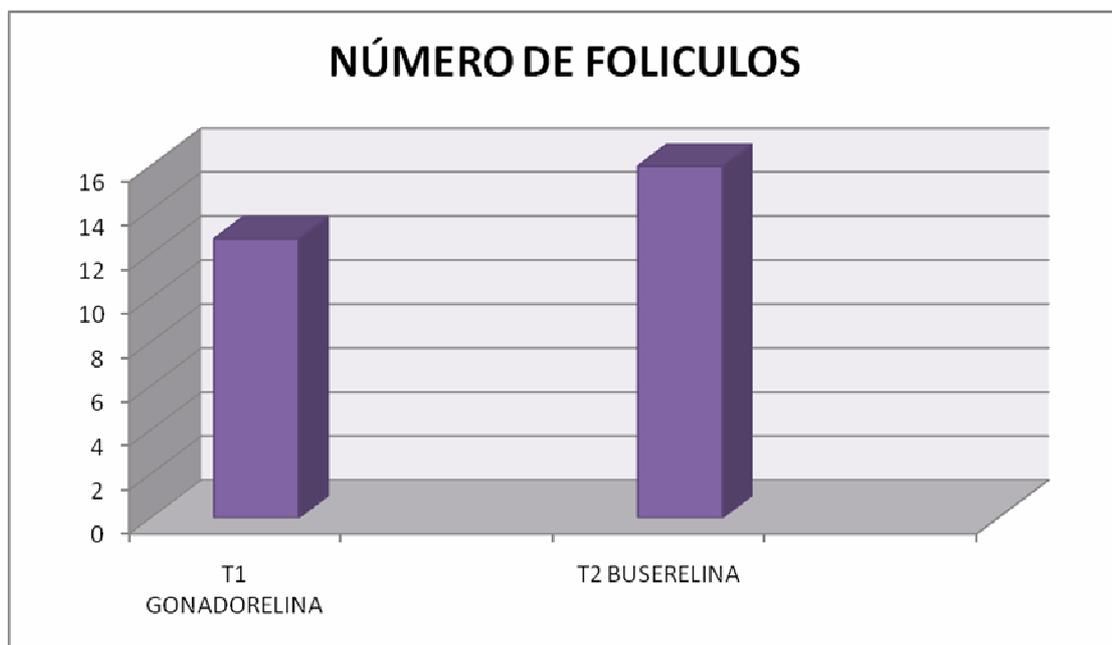


Figura 10. Ovario con folículos persistentes



En la figura 10 se identifica un folículo persistente de gran tamaño en el ovario de una de las hembras tratadas.

6.1.2 NÚMERO DE CUERPOS LÚTEOS

Tabla 3. Número de cuerpos lúteos de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto. Nariño.

Número cuerpos lúteos	IC 95% Media	Número de cuerpos lúteos
T1	11.5 +/- 7.05	4.44 – 18.55
T2	6 +/- 6.75	0.75 – 12.75

En la tabla 3 se puede observar los resultados para los valores medios del T1 de 11.5 +/- 7.05, T2 de 6 +/- 6.75 y el intervalo de confianza del número de cuerpos lúteos. Ya que se encontró una distribución numérica normal en los datos se decide realizar una prueba de ANOVA con un nivel de confianza del 95%, obteniendo un resultado con un p de 0.1233 para el número de cuerpos lúteos, Dado que el p-valor es mayor que 0.05, no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias para un nivel de confianza del 95.0%.

“Esto coincide con lo reportado por L. Simonetti et al. en el 2004, donde no se encontraron diferencias significativas en el número de cuerpos lúteos después de realizar la comparación de 4 tratamientos de superestimulación en ovejas de la raza Corridale durante el otoño de 2004 en Argentina”⁴⁴.

“Igualmente coincide con lo reportado por A. Gibbons et al. en el 2004, donde tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el número de cuerpos lúteos, aquí se comparo el índice de fertilización en dos tiempos diferentes de I.A. en ovejas superestimuladas de la raza Merino en Bariloche Argentina”⁴⁵.

⁴⁴ SIMONETTI, L.; FORCADA, F.; RIVERA, O. y CAROU, N. Evaluación de la respuesta superovulatoria y los niveles hormonales de cuatro tratamientos superovulatorios en ovinos. En: XXVIII Congreso Argentino de Producción Animal”, Octubre de 2005, Bahía Blanca, Argentina. p.193.

⁴⁵ GIBBONS. Op. cit., p.82

Figura 11. Número de cuerpos lúteos, entre los tratamientos: Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2), de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto. Nariño.

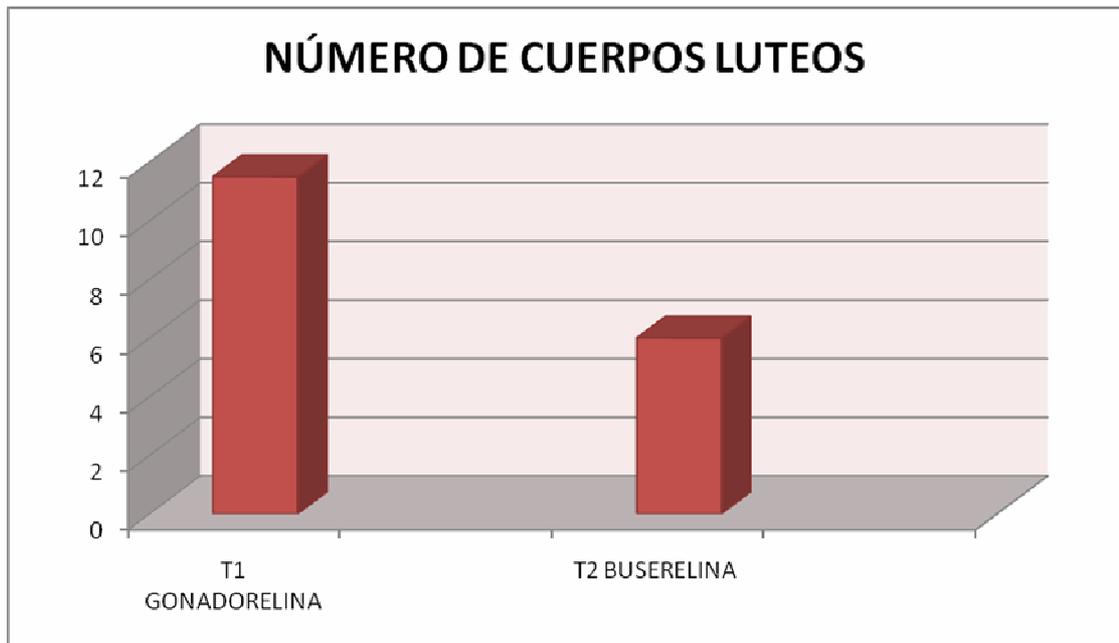


Figura 12. Ovario con cuerpos lúteos



En la figura 12 se observa varios cuerpos lúteos funcionales.

6.1.3 NÚMERO DE EMBRIONES RECOLECTADOS

Tabla 4. Número de embriones recolectados, de ovejas criollas colombianas, en el municipio de Pasto. Nariño.

Número de embriones recolectados	IC 95% Mediana +/- DE	Número de embriones recolectados
T1	8 +/- 5.19615	2.80385 – 13.19615
T2	1.5 +/- 0.7071	0.793 – 2.207

En la tabla 4 se observan los resultados para los valores medios de T1 de 8 +/- 5.19615, T2 de 1.5 +/- 0.7071 y el intervalo de confianza de número de embriones recolectados. Al no tener los datos una distribución numérica normal se realiza el test de Mann-Whitney W para comparar las medianas de las dos muestras, obteniendo un resultado con un p de 0.34 para el número de embriones recolectados, Dado que el p-valor es mayor que 0.05, no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medianas para un nivel de confianza del 95.0%.

“Estos resultados coinciden con lo reportado por William H. Vivanco Mackie en 1992, donde obtuvieron resultados de número de embriones con una media (4.4 +/- 3.1) después de realizar un protocolo de superestimulación con Foltropin-V (FSHp) en 85 ovejas de la raza Danish Texel con una edad promedio de 1.5 años en Nueva Zelanda en 1992”⁴⁶.

“Igualmente L. Simonetti et al. en 2004 reporta, que no se encontraron diferencias estadísticas significativas para el número de embriones recolectados al comparar 5 tratamientos de superestimulación en ovejas de la raza Corridale en el otoño de 2004 en Argentina”⁴⁷.

⁴⁶ VIVANCO, HW. Evaluación of hormonal treatments applied to recipient ewes for the improvement of embryo survival Proc En: 13th international congress on animal reproduction. 1996; Sydney, Australia Vol: 3. p.11.

⁴⁷ SIMONETTI. Op. cit., p.236.

Figura 13. Número de embriones recolectados con los tratamientos: Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) en ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.

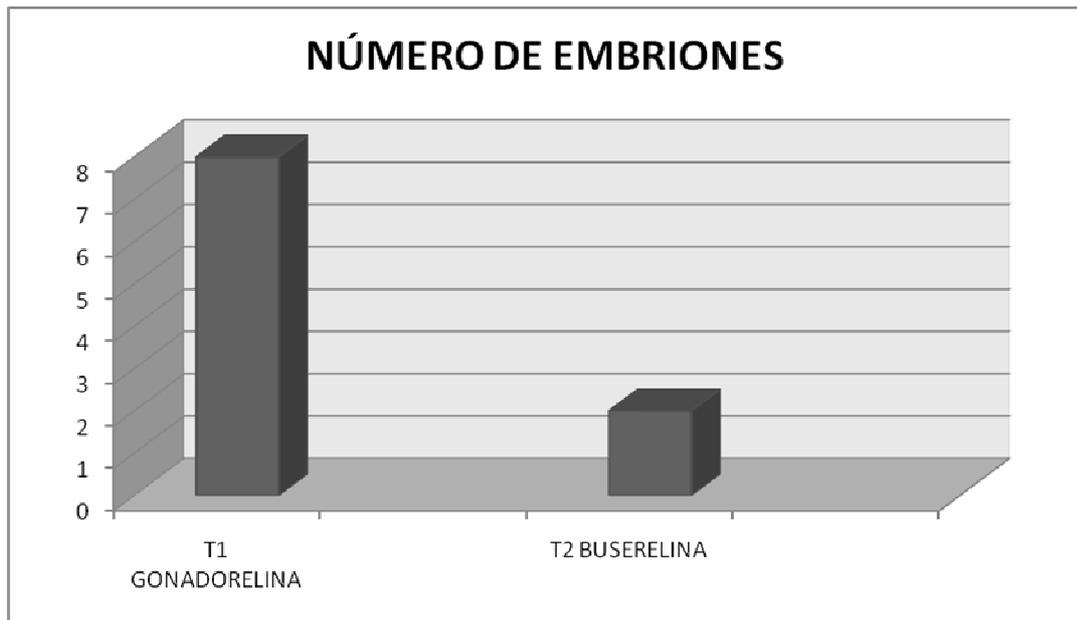
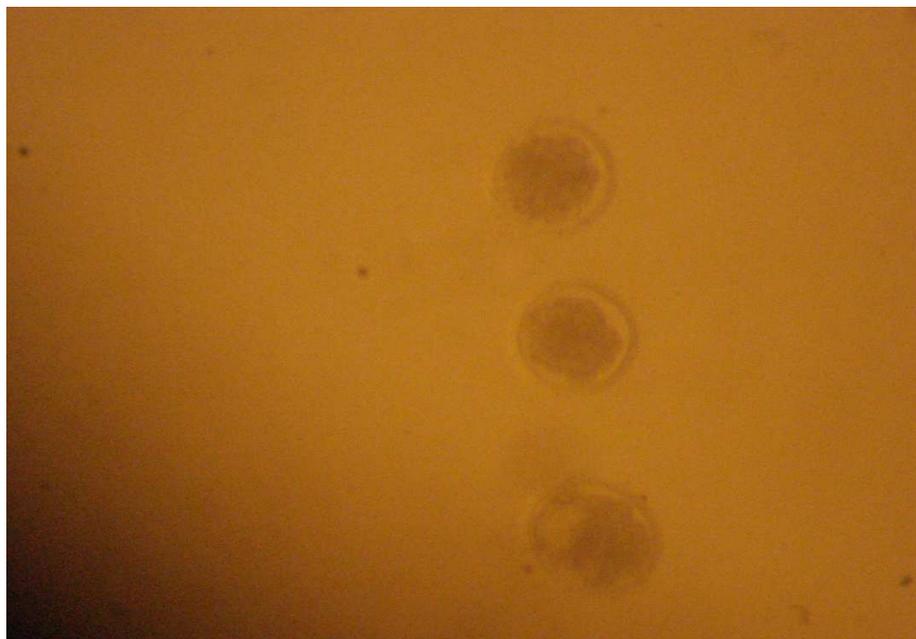


Figura 14. Embriones recolectados



En figura 14 se observa dos embriones de calidad buena (sup) y un embrión de calidad regular (inf).

6.1.4 TAMAÑO DE FOLÍCULOS PERSISTENTES

Tabla 5. Tamaño de folículos persistentes de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.

Tamaño de folículos persistentes	IC 95% Mediana +/- DE	Tamaño de folículos persistentes
T1	0.2 +/- 0.112	0.088 – 0.312
T2	0.35 +/- 0.305	0.045 – 0.655

En la tabla 5 se observa los resultados para los valores medios de T1 de 0.2 +/- 0.35, T2 de 0.35 +/- 0.305 y el intervalo de confianza del tamaño de folículos persistentes. Al no tener los datos una distribución numérica normal se realiza el test de Mann-Whitney W para comparar las medianas de las dos muestras, obteniendo un resultado con un p de 0.00104 para el tamaño de folículos persistentes. Dado que el p-valor es menor que 0.05, existe diferencia estadísticamente significativa entre las medianas para un nivel de confianza del 95.0%.

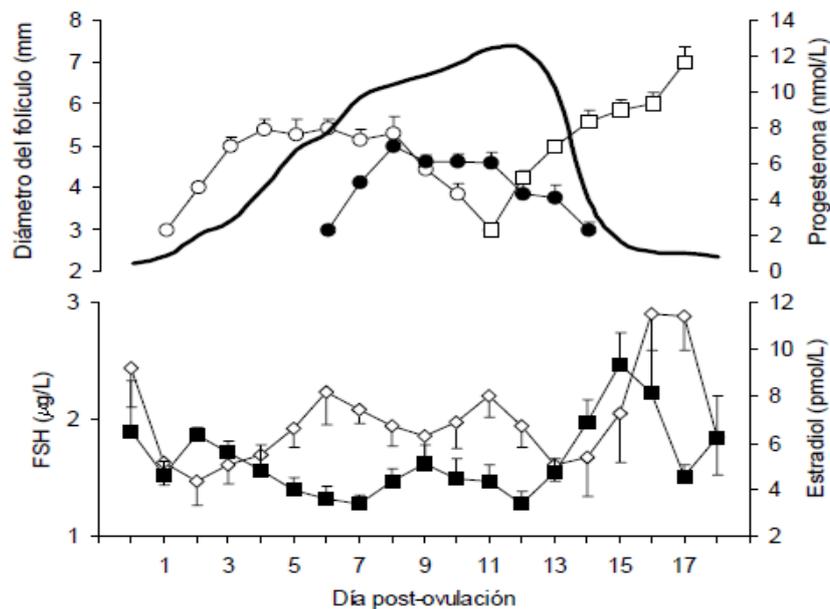
Driancourt et al., 1991 ⁴⁸ reporta “cabe anotar que en ovejas no existen estudios concluyentes sobre el desarrollo de folículos de gran tamaño, sobre la respuesta superovulatoria.” Sin embargo hay numerosa evidencia que muestra que las hormonas FSH y LH (gonadotrofinas) son las hormonas que regulan el desarrollo y maduración de los folículos ováricos antrales. Solo la FSH y LH son esenciales para el crecimiento y desarrollo folicular. ⁴⁹

⁴⁸ DRIANCOURT, M.A. y WEBB, R. Does follicular dominance occur in ewes? En: J Reprod Fert. 1991; Vol: 93. p.70.

⁴⁹ FINDLAY JK.; DRUMMOND AE. y RC Fry. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. En: Anim Reprod Sci. 1996; Vol: 42. p.331.

Bartlewsky *et al.* 1999;⁵⁰ Evans *et al.* 2000;⁵¹ Ginther *et al.* 1995;⁵² Leyva *et al.* 1999⁵³ y Viñoles *et al.* 1999^{a54} demuestran que la emergencia de los folículos que crecen de 3mm a 5 mm ocurre en un proceso denominado ondas foliculares y que la tasa de crecimiento desde el día de emergencia (primer día con un diámetro de 3 mm) y el día de máximo diámetro es de alrededor de 1 mm/día; en promedio de 1.2 a 1.5 folículos alcanzan 5 o más mm de diámetro en cada onda pero esto depende de la raza estudiada y en condiciones normales.

Figura 15. Desarrollo Folicular y Comportamiento Hormonal



Fuente Viñoles. *et al* 2000

⁵⁰ BARTLEWSKI, PM.; BEARD, AP.; COOK, SJ.; CHANDOLIA, RK.; HONARAMOOZ, A. y RAWLINGS, NC. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *En:* J Reprod Fertil. 1999; Vol: 115. p.124.

⁵¹ EVANS, ACO.; Duffy, P.; HYNES, N. y BOLAND, MP. Waves of follicle development during the oestrous cycle in the sheep. *En:* Theriogenology. 2000; Vol: 53. p.715.

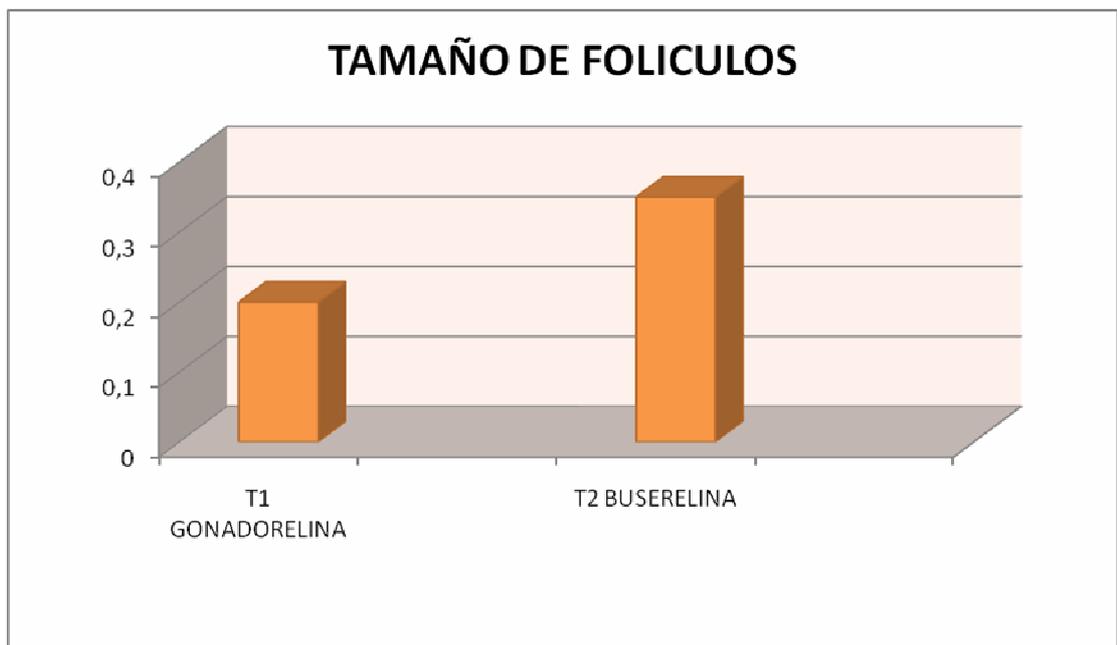
⁵² GINTHER, OJ.; KOT, K. y WILTBANK, MC. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *En:* Theriogenology. 1995; Vol: 43. p.703.

⁵³ LEYVA, V.; BUCKRELL, BC. Y WALTON, JS. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *En:* Theriogenology. 1999; Vol: 50. p.416.

⁵⁴ VIÑOLES, C.; BANCHERO, G. y RUBIANES, E. Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cycling ewes with high and low body condition score. *En:* Theriogenology. 1999; Vol: 51. p.437. Abstract.

A si mismo, Viñoles et al. 2000⁵⁵ muestra el diámetro del folículo mayor de la onda 1 el cual se acerca a los 5.5 mm en el día 7 post-ovulación (○) frente al diámetro del folículo ovulatorio el cual oscila entre 7 a 8 mm durante el día 16 a 17 post-ovulación. (figura 15).

Figura 16. Tamaño de folículos persistentes entre tratamientos Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.



⁵⁵ VIÑOLES, C.; FORSBERG, M. y RUBIANES, E. (2000). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. Proceedings. En: 14th International Congress on Animal Reproduction. 2000. Stockholm. Sweden. p.26

6.1.5 TAMAÑO DE CUERPOS LÚTEOS

Tabla 6. Tamaño de cuerpos lúteos de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.

Tamaño de cuerpos lúteos	IC 95% Mediana +/- DE	Tamaño de cuerpos lúteos
T1	0.4 +/- 0.211	0.189 – 0.611
T2	0.4 +/- 0.187	0.213 – 0.587

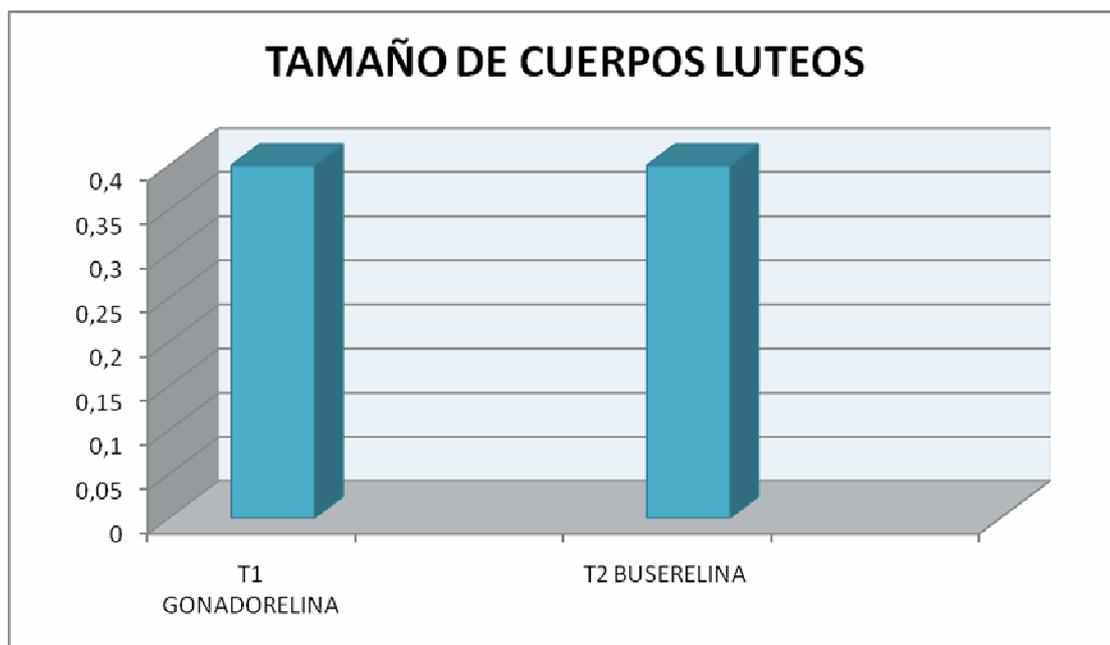
En la tabla 6 se observa los resultados para los valores medios de T1 de 0.4 +/- 0.211, T2 de 0.4 +/- 0.187 y el intervalo de confianza del tamaño de cuerpos lúteos. Al no tener los datos una distribución numérica normal se realiza el test de Mann-Whitney W para comparar las medianas de las dos muestras, obteniendo un resultado con un p de 0.54 para el tamaño de cuerpos lúteos, dado que el p-valor es mayor que 0.05, no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medianas para un nivel de confianza del 95.0%.

Además se observa que los valores medios son idénticos en los dos tratamientos, esto se debe a que se consideran folículos ovulatorios los mayores a 5 mm, lo que se relaciona directamente con el tamaño posterior a la ovulación de los cuerpos lúteos.

D'Alessandro *et al.* en 1996 consideran que los cuerpos lúteos \leq de 3mm se encuentran en proceso de regresión y los \geq de 3mm son cuerpos lúteos funcionales y por tanto productores p. 4.⁵⁶

⁵⁶ D'ALESSANDRO, A.G.; MARTEMUCCI, G.; TOTEDA, F.; GAMBACORTA, M. y MANCHISI, A. Superovulation and embryo production in ewes using a commercial p-FSH. En: Small Ruminant Research. 1996; Vol:19. p.261.

Figura 17. Tamaño de cuerpos lúteos entre tratamientos Gonadorelina (T1) vs Buserelina (T2) de ovejas criollas colombianas en el municipio de Pasto, Nariño.



6.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El empleo de FSH como superestimulador en protocolos MOET en ovinos da buenos resultados, sobre todo cuando se administra en dosis decrecientes a intervalos de 12 horas por aplicación. Cabe anotar que existen otras alternativas para realizar superestimulación en pequeños rumiantes, como son los tratamientos simples, aplicación de una sola inyección de PMSG debido a su larga vida media en dosis de alrededor de 1500-2000 UI en ovinos reportado por (Armstrong y Evans, 1983); otros tratamientos ensayados incluyeron HAP, HMG con resultados variables. En el año 1992 cuando se empezaron a obtener preparados mas purificados de FSH de pituitaria de porcino y ovino, se marco la iniciación de nuevas estrategias de superestimulación; la aplicación en tratamientos de superestimulación de FSHo, FSHp y eCG ha dado buenos resultados según lo reportado L. Simonetti *et al.* en 2004 (47).

Sin embargo productos como Ovagen que no contienen niveles de LH y Follitropin-V con un nivel máximo del 5%; pueden ocasionar baja respuesta cuando se utilizan como único medicamento para la superestimulación. (Mc millan y Hall, 1990).

Con el avance en estos protocolos de superestimulación y después de haber aplicado uno de ellos en este estudio, se puede asegurar que los resultados obtenidos durante este proceso fueron satisfactorios encontrando superestimulación en 8/8 (100%) ovejas tratadas con FSHp. Es de aclarar que el tamaño de folículos encontrados tuvo gran variabilidad entre cada individuo, por ende folículos \leq de 3mm que no se consideran preovulatorios no generaron respuesta a la aplicación de la GnRH.

Es importante aclarar que tanto para la producción de folículos, cuerpos lúteos observados y de embriones colectados no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.54$; $p=0.12$; $p=0.34$, respectivamente).

Menchaca et al afirma, que: “probablemente debido a la gran variación de factores como la raza, nutrición, factores medio ambientales y factores individuales”⁵⁷.

Los análogos de la GnRH como fuente de LH se deberían aplicar al final del periodo de desarrollo folicular, es decir prácticamente al final de la 6^{ta} inyección de FSH, este análogo debe imitar la secreción pulsátil o incremento gradual de LH que generara el pico preovulatorio necesario al momento de la ovulación.

Vivanco Mackie en 1992, reporta buenos resultados al utilizar análogos de GnRH como inductor de la ovulación en protocolos MOET, esto discrepa de lo encontrado en este estudio, aunque no se halló diferencias estadísticamente significativas podemos concluir que el T2 (Acetato de Buserelina) no generó una respuesta adecuada al encontrarse con un gran número de folículos pequeños (\leq 3mm), por el contrario T1 (Gonadorelina) si alcanzo una buena respuesta generando la ovulación de un número mayor de folículos preovulatorios.

⁵⁷ MENCHACA, A.; VILARIÑO, M.; PINCZAK, A.; KMAID, S. y SALDAÑA, JM. Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and Day 0 Protocol for MOET programs in sheep. *En: Theriogenology*. 2009; Vol: 72. p.483.

La tasa de recolección de embriones está relacionada con el número de ovulaciones registradas y está afectada directamente por factores individuales, medio ambientales y el régimen hormonal que se utilizó para la superestimulación. También tienen efecto la alimentación, número de veces que el animal fue sometido a tratamientos y operaciones anteriormente, la calidad de cuerpo lúteo (factor importante en la recolección de embriones), la presencia de folículos de más de 5mm de diámetro al momento de la colección (más folículos menos tasa de recolección).

De todos los puntos de mayor impacto en los resultados, el factor de mayor importancia y difícil de medir es el "nivel de stress" al que son sometidos los animales. La producción de glucocorticoides y ACTH es el más poderoso bloqueador de LH, afectando la maduración folicular, la presentación de celo, el pico ovulatorio de LH, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo que dependen del pico ovulatorio de LH (Vivanco Mackie en 1992. 46).

Se puede mencionar que la reducción del stress y una balanceada nutrición son aspectos de significativa importancia para obtener mejores resultados.

El análisis realizado para el tamaño de folículos del presente estudio muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.00104 \leq p=0.05$), con lo cual se puede deducir que hubo un mayor desarrollo folicular para T2, esto permite relacionar lo anterior mente descrito, donde se menciona una falta de respuesta del análogo Acetato de Buserelina produciendo un número mayor de folículos persistentes (folículos pequeños $\leq 3\text{mm}$ y folículos preovulatorios $\geq 5\text{mm}$). Además hay que tener en cuenta que la aplicación de un análogo de GnRH al final del protocolo de superestimulación genera un incremento de los niveles de FSH y LH circulante lo que origina un mayor desarrollo folicular.

En relación al tamaño de cuerpos lúteos se obtuvo que hay una igualdad entre los tratamientos (valores medios de T1=0.4 Vs. T2=0.4), lo que se relaciona con el tamaño de los folículos preovulatorios los cuales no varían en relación a cada oveja tratada; de ahí la carencia de variabilidad entre el efecto de los dos tratamientos. Cabe mencionar que esta gran cantidad de cuerpos lúteos en cada ovario de la oveja genera una mayor concentración de P4 circulante en sangre por eso es necesario la aplicación de PGF2 α para causar una lisis de estos cuerpos lúteos y disminuir la concentración de P4, además esta aplicación de PGF2 α también evita la posible preñez con algún embrión que pudo no ser recolectado.

7. CONCLUSIONES

Con base en el estudio realizado, se concluye que el desarrollo folicular es mejor cuando se aplica la Gonadorelina que cuando se utiliza el Acetato de Buserelina.

El protocolo MOET para determinar la ovulación es efectiva, cuando se administra la Gonadorelina al inicio de la monta en ovejas superestimuladas con FSH.

La utilización de FSHp en protocolos MOET de pequeños rumiantes brinda muy buenos resultados.

Para mantener y aumentar la población de ovinos criollos colombianos, se requiere continuar con los estudios en la caracterización de aspectos endocrinos, como en la adaptación de protocolos MOET para ser desarrollados en condiciones de trópico de altura.

La utilización de análogos de GnRH en protocolos MOET son una herramienta importante para lograr mejorar los resultados reproductivos en pequeños rumiantes.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda incrementar el número de la muestra poblacional para validar los datos obtenidos.

Para trabajos futuros se recomienda comparar los datos en otros grupos raciales de ovejas para determinar si hay influencia racial sobre el tratamiento empleado.

Se aconseja realizar investigaciones similares a este estudio utilizando hormonas superestimuladoras homologas tipo FSHo.

BIBLIOGRAFÍA

- BARIL, G y VALLET, J.C. Effect of seasons on embryo production in dairy goat hand mated or cervically inseminated after superovulated treatment. En: 6th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association. 1990. Lyon, France. p. 560.
- BARTLEWSKI, PM.; BEARD, AP.; COOK, SJ.; CHANDOLIA, RK.; HONARAMOOZ, A. y RAWLINGS, NC. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. En: J Reprod Fertil. 1999; Vol: 115. p.310.
- BONINO MORLÁN, J.; HUGHES, P.; VILLAAMIL, A.; AZZARINI, M. y VALLEDOR, F. Multiovulación y trasplante embrionario en ovinos. En: Resumen de experiencias realizadas en Uruguay. Producción Ovina 1. 1989. p.80.
- BREBION, P. y COIGNE, Y. Increased superovulation in the ewes following 14 days of GnRH agonist pre-treatment. En: 5th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association, 1989. Lyon, France. p.620.
- D'ALESSANDRO, A.G.; MARTEMUCCI, G.; TOTEDA, F.; GAMBACORTA, M. y MANCHISI, A. Superovulation and embryo production in ewes using a commercial p-FSH. En: Small Ruminant Research. 1996; Vol:19. p.415.
- DONALDSON, L. Embryo production in superovulated cows: transferable embryo correlated with total embryos. En: Theriogenology. 1984; Vol: 30. p.819.
- DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. En: Theriogenology. 2001; Vol: 55. p. 1580.
- DRIANCOURT, M.A. y WEBB, R. Does follicular dominance occur in ewes? En: J Reprod Fert. 1991; Vol: 93. p.70.
- EPPIG, J.J. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. En: Reproduction. 2001; Vol: 122. p.930.
- EVANS, A.C.; DUFFY, P., HYNES, N y BOLAND, M.P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. En: Theriogenology. 2000; Vol: 53. p. 1110.
- EVANS, ACO.; Duffy, P.; HYNES, N. y BOLAND, MP. Waves of follicle development during the estrous cycle in the sheep. En: Theriogenology. 2000; Vol: 53. p.1600.

FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. DICCIONARIO Geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogota D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi", 2009. p. 710.

FINDLAY JK.; DRUMMOND AE. y RC Fry. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. En: Anim Reprod Sci. 1996; Vol: 42. p.520.

GIBBONS, J.R.; WILTBANK, M.C y GINTHER, O.J. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. En: Biol. Reprod. 1997; Vol: 57. p. 1405.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULIC, L.J y WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. En: Theriogenology. 1997; Vol: 48. p. 120.

GINTHER, O.J.; KOT, K. y WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. En: Theriogenology. 1995; Vol: 43. p.1104.

GONZÁLEZ-BULNES, A.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K.; COCERO, M.J.; GARCIA-GARCIA, R.M.; INSKEEP, E.K.; LOPEZ-SEBASTIAN A.; McNEILLY, A.S.; SANTIAGO-MORENO, J.; SOUZA, C.J.H y VEIGA-LÓPEZ, A. Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. En: Reprod. Fertil. Dev. 2004; Vol: 16. p. 809.

HIRSHFIELD, A.N. Development of follicles in the mammalian ovary. En: Inter. Rev. Cyt. 1991; Vol: 124. p.310.

INFORME NACIONAL DE LA SITUACIÓN DE LOS RECURSOS ZOOGENÉTICOS. 2003. Recopilado y editado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Corpoica, ICA. p. 200.

JIANG, G.C.; STALEWSKI, J.; GALYEAN, R.; DYKERT, J.; SCHTEINGART, C.; BROQUA, P.; et al. GnRH antagonists: a new generation of long acting analogues incorporating para-ureido-phenylalanines at position 5 and 6. En: J. Med. Chem. 2001; Vol: 44. p.702.

KARTEN, C. y RIVIER. J.E. GnRH analog design, structure–function studies toward the development of agonists and antagonists: rationale perspective. En: Rev. Endocrina. 1986; Vol: 7. p.88.

LEYVA, V.; BUCKRELL, B.C. Y WALTON, J.S. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. En: Theriogenology. 1999; Vol: 50. p.600.

- MARTÍNEZ, R.; ÁVILA, O.; PÉREZ, J.; GALLEGO, J y ONOFRE, H. Estructura y función del banco de germoplasma *in vitro* en Colombia. 2005 En: Archivo de zootecnia vol. 54, núm. 207 Universidad de Córdoba España p. 704.
- MENCHACA, A.; VILARIÑO, M.; PINCZAK, A.; KMAID, S. y SALDAÑA, JM. Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and Day 0 Protocol for MOET programs in sheep. En: Theriogenology. 2009; Vol: 72. p.483.
- MÜELLER, J. Utilización de la inseminación artificial y la superovulación con transferencia de embriones en el mejoramiento genético de ovinos. En: Comunicación Técnica INTA EEA Bariloche. 1993. Vol: 323. p.30.
- NOEL B.; BISTER JL y PAQUAY R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. En: Theriogenology. 1993; Vol: 41 p. 917.
- PADULA, A.M. GnRH analogues-agonists and antagonists. En: Anim. Reprod. Sci. 2005; Vol:88. p.328.
- PICAZO.; A.R y LÓPEZ, S.A. Desarrollo folicular en el ovario de la especie ovina. En: Producción y Sanidad Animal. 1995; Vol: 10. p. 190.
- RAMOS DUEÑAS, José I. Fisiología de la Reproducción. Bogotá: Mc GrawHill, 1993. p.530.
- ROSELL PARDO, R.; LLORENTE VILLA, R.; RAMÍREZ RUBIO, A.; VERDECIA RONDON, M y HERNÁNDEZ TORRES, E. Regulación neuroendocrina del ciclo estral en los animales domésticos. En: REDVET. 2004; Vol: 5. p.30.
- SIMONETTI, L.; FORCADA, F.; RIVERA, O. y CAROU, N. Evaluación de la respuesta superovulatoria y los niveles hormonales de cuatro tratamientos superovulatorios en ovinos. En: XXVIII Congreso Argentino de Producción Animal", Octubre de 2005, Bahía Blanca, Argentina. p.265.
- SIMONETTI, L.; FORCADA, F.; RIVERA, O.E.; CAROU, N.; ALBERIO, R.H.; ABECIA, J.A. y PALACÍN, I. Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. En: Anim. Reprod. Sci. 2008; Vol: 104. p. 427.
- SIMONETTI, L.; FORCADA, F.; RIVERA, O.E. y CAROU, N., 2004. Simplificación de los tratamientos superovulatorios en ovinos. En: XXVII Congreso Argentino de Producción Animal", Tandil, Argentina: 2004. p.458.
- SIROIS, J., FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. En: Biol. Reprod. 1988; Vol: 39. p. 546.

VICKERY, B.H.; MC RAE, G.I.; GOODPASTURE, J.C y SANDERS, L.M. Use of potent LHRH analogues for chronic contraception and pregnancy termination. En: J. Reprod. Fertil. 1989; Vol: 39. p.231.

VIÑALES, C.; BANCHERO, G. y RUBIANES, E. Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cycling ewes with high and low body condition score. En: Theriogenology. 1999; Vol: 51. p.768.

VIÑALES, C.; FORSBERG, M. y RUBIANES, E. (2000). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. Proceedings. En: *14th International Congress on Animal Reproduction*. 2000. Stockholm. Sweden. p.67.

VIVANCO, HW. Evaluación of hormonal treatments applied to recipient ewes for the improvement of embryo survival Proc En: 13th international congress on animal reproduction. 1996; Sydney, Australia Vol: 3. p.43.

ANIMALES Y PRODUCCION. La gestación de las ovejas. [en línea] http://www.mundo-pecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas/gestacion_ovejas-1452.html>La gestación de la ovejas. [citado el 25 de febrero de 2009].

ANIMALES Y PRODUCCION. El ciclo estral de las ovejas [en línea] http://www.mundo-pecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas/ciclo_estral_ovejas-1451.html>El ciclo estral de las ovejas [citado el 25 de febrero de 2009].

ANIMALES Y PRODUCCION. El proceso de parto en las ovejas [en línea] http://www.mundo-pecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas/parto_ovejas-1453.html>El proceso de parto en las ovejas. [citado el 25 de febrero de 2009].

ANIMALES Y PRODUCCION. El proceso reproductivo de las ovejas. [en línea] http://www.mundo-pecuario.com/tema247/reproduccion_ovejas.html>El proceso reproductivo de las ovejas[citado el 25 de febrero de 2009].

BARRIOS, camilo E. Situación actual ovinocultura en Colombia. Bogotá (Colombia): [En línea] www.Engormix.com/mht/ La Ovinocultura Una alternativa Promisoria para el sector agropecuario en Colombia p 19.

FAO. 2000. Estadísticas de producción de animales primarios, producción de carne de conejo estimada para 1999. [en línea] Disponible en Internet: www.faoestad.org [citado marzo 15 del 2000].

GIBBONS A. y CUETO M. 1995. Transferencia de embriones en ovinos y caprinos. INTA. EEA. [En línea] <http://www.inta.gov.ar/bariloche/info/documentos/animal/reproduc/pa290.htm> [citado el 2 de marzo de 2009].

MARTÍNEZ S. Rodrigo y VÁSQUEZ R. Rodrigo., Evaluación de la Conservación y Comportamiento Productivo del Banco de Germoplasma de la Especie Ovina en Colombia. [en línea] <http://www.corpoica.gov.co/SitioWeb/Ofertas/articulo.asp/id=1221&index=0> [citado el 18 de abril de 2009].