



Aplicación de benzoato de estradiol como alternativa a la gonadotrofina coriónica equina en protocolos de sincronización de celos en ovinos

Gómez, M.V. ; Soto, A.T. ; de la Sota R.L.*

Instituto de investigaciones en Reproducción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 118. La Plata, B1900AVW. Buenos Aires, Argentina.

✉ luzbel@fcv.unlp.edu.ar

Resumen

En ovinos, los protocolos de sincronización de celos (PS) tradicionales se basan en el uso de un dispositivo con progesterona o progestágenos y la aplicación de gonadotrofina coriónica equina (eCG) al retiro del dispositivo, como inductor de la ovulación. Investigaciones basadas en el uso de benzoato de estradiol (BE) como alternativa a la eCG resultan en bajos porcentajes de preñez. El presente trabajo tuvo como objetivos determinar: a) la mejor dosis (100 vs. 200 µg) y momento de aplicación (0, 24 o 36 h del retiro del dispositivo) de BE, dentro de un PS (Experimentos I y II) y b) el porcentaje de preñez luego de la aplicación de un PS con progesterona y eCG o BE; con inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), en ovejas durante la época reproductiva (Experimento III). Los Experimentos I y II dieron como resultado que la mejor dosis y momento de aplicación de BE fue de 100 µg y 0 h, respectivamente. En el Experimento III, el porcentaje de preñez no fue diferente entre PS eCG y PS BE. Los resultados obtenidos sugieren la posibilidad de utilizar BE en un PS con IATF a las 50-55 h con semen fresco, siendo necesarias nuevas investigaciones sobre el momento de realización de IATF con semen fresco.

Palabras clave: benzoato de estradiol, GnRH, inseminación artificial, ovinos.

Application of estradiol benzoate as an alternative to equine chorionic gonadotropin in heat synchronization protocols in sheep

Abstract. In sheep, traditional estrus synchronization (ES) protocols involve the insertion of a progesterone- or progestogen-containing device, followed by the administration of equine chorionic gonadotropin (eCG) at device removal to induce ovulation. Previous research evaluating estradiol benzoate (EB) as an alternative to eCG has reported low pregnancy rates. The objectives of this study were to determine (a) the optimal EB dose (100 vs. 200 µg) and timing of administration (0, 24, or 36 h after device removal) within an ES protocol (Experiments I and II), and (b) the pregnancy rate obtained using ES protocols with progesterone plus either eCG or EB, combined with fixed-time artificial insemination (FTAI; Experiment III), in ewes during the breeding season. Experiments I and II indicated that the optimal EB treatment was 100 µg administered at 0 h. In Experiment III, pregnancy rates did not differ between eCG- and EB-based ES protocols. These findings suggest that EB can replace eCG in ES protocols with FTAI at 50–55 h using fresh semen, although further research is needed to refine the timing of FTAI.

Key words: Estradiol benzoate dosage, GnRH, artificial insemination, sheep.

INTRODUCCIÓN

Los protocolos de sincronización de celos (PS) utilizados durante la época reproductiva en ovinos están basados en la aplicación de dos dosis de prostaglandina F2 α (Olivera-Muzante et al. 2011) o en la colocación de esponjas o dispositivos intravaginales (DIV) impregnados con progestágenos o progesterona natural (P₄) durante 5-7 días o 12-14 días, asociada a la aplicación de gonadotrofina coriónica equina (eCG; Hameed et al. 2021).

La eCG es una glicoproteína de alto peso molecular, sintetizada por las copas endometriales equinas entre los 35 y 100 días de gestación (Mapletoft et al. 2022). Está compuesta por dos subunidades, de las cuales, la subunidad β es codificada por el mismo gen que codifica la LH equina, de la cual se diferencia por el grado de glicosilación. Posee una vida media de cinco días y, en tejidos de origen no equino tiene la capacidad de unirse a receptores de FSH y LH (Murphy 2018). Actualmente la producción de eCG es un punto de debate en relación con momentos y volumen de sangrado, generación de abortos para aumentar la producción de eCG/hembra por año, entre otros factores que influyen sobre el bienestar animal (Manteca Vilanova et al. 2019). Por otro lado, la utilización repetida de eCG en pequeños rumiantes, puede generar anticuerpos anti-eCG, resultando en un detrimento en la eficiencia reproductiva, lo cual conlleva a un aumento de la dosis para una igual respuesta (Hameed et al. 2021).

En las hembras ovinas, se ha evaluado el efecto de las sales de estradiol sobre la onda folicular, la ovulación y la manifestación de celo (Hazlinda et al. 2021, Silveira et al. 2021), la dosis y el momento de aplicación de benzoato de estradiol (BE) (Martemucci y D'Alessandro 2010, Castilho et al. 2015, Silveira et al. 2021) como alternativa a la aplicación de eCG dentro de un PS. La información disponible sobre la dosis y el momento más adecuado de aplicación de BE en PS a base de P₄ en ovejas en estación reproductiva es escasa. Castilho et al. (2015) obtuvieron, luego de sincronizar ovejas con DIV y eCG o con DIV y BE e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) a las 50 h del retiro, 66% y 11% de preñez, respectivamente. Es posible que el bajo porcentaje de preñez obtenido con BE pueda ser explicado, al menos en parte, por la dosis utilizada (1 mg) o por el momento de la aplicación del BE (24 h después de retirado el DIV).

En base a lo expuesto se desarrollaron tres experimentos, cuyos objetivos consistieron en: i) determinar la mejor dosis y momento de aplicación de BE dentro de un PS basado en DIV de P₄, a partir del estudio del crecimiento folicular y momento de ovulación (Experimentos I y II, respectivamente) y, ii) determinar el porcentaje (%) de preñez de PS basado en DIV de P₄, asociado a eCG o a BE (Experimento III). Las hipótesis planteadas fueron: a) la aplicación de BE en cualquiera de sus dosis, a las 24 h de retirado el DIV produce la ovulación en tiempo similar a un PS con eCG aplicada al momento del retiro del DIV (Experimento I), b) la aplicación de BE al momento del retiro del DIV produce la ovulación en tiempo similar a un PS con eCG (Experimento II), y c) los porcentajes de preñez obtenidos por PS con BE e IATF con semen fresco son similares a los obtenidos por PS con eCG e IATF (Experimento III).

MATERIALES Y MÉTODO

Experimento I

Animales y diseño experimental. Se utilizaron ovejas $\frac{3}{4}$ Texel (n = 22), múltiparas, con 2,5-3,0 (1-5) de condición corporal (CC) (Gurung et al. 2022); alojadas en corrales dependientes de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP (34°55' S; 57°57' O), alimentadas con heno de alfalfa y balanceado comercial, cubriendo los requerimientos de mantenimiento (Shaw y Phillips 2023) y con acceso *ad libitum* al agua. El experimento se desarrolló durante la época reproductiva, siguiendo las recomendaciones del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la FCV-UNLP (T32312).

Se conformaron al azar 3 grupos (n = 7/8 por grupo) en un diseño de cuadrados latinos con tres repeticiones (REP). El día de inicio del tratamiento (día 0) de cada REP a todas las hembras se les colocó un DIV 300 mg de P₄ (DICO®; Syntex; Argentina), desconociéndose la fase del ciclo estral en el que se encontraban las hembras. El día 5 se procedió a retirar el DIV y se aplicó una dosis intramuscular (IM) de 125 μ g de cloprostenol sódico (Ciclasa DL®, Lab Syntex, Argentina) a la totalidad de las ovejas. Asimismo, al grupo control (CON) se les aplicó una dosis IM de 300 UI de eCG (NOVORMON®, Lab Syntex, Argentina). Al día 6, los grupos BE100 y BE200 recibieron una dosis IM de 100 o de 200 μ g de BE (Gonadiol®, Lab Syntex, Argentina), respectivamente. Cada REP tuvo una duración de 17 días y un período de 7 días de descanso entre REP.

Estudio del crecimiento folicular. El estudio del crecimiento folicular se llevó a cabo mediante un ecógrafo Mindray DP-6600 Vet, con transductor lineal (75L50EAV) de 5.0/7.5/10.0 MHz, por vía transrectal. Desde el día 0 hasta el día 5 de cada REP, se realizó una ecografía ovárica diaria y se registró la ubicación y el diámetro de los folículos ≥ 2 mm en un mapa ovárico. Desde el día 6 hasta el momento de la ovulación, las ecografías se realizaron cada 12 h. La ovulación se determinó por la desaparición o colapso del folículo mayor (FM), con un diámetro ≥ 5 mm. El día 17 se realizó una ecografía para determinar la presencia de CL. El día de emergencia del FM correspondió al día que se observó por primera vez el FM. El intervalo ovulación (IO) correspondió a las horas transcurridas desde el retiro del DIV hasta el colapso del FM sumado 6 horas de la última visualización del FM.

Determinación de progesterona. Las muestras sanguíneas para la determinación de P₄ se extrajeron por venopunción yugular. Las extracciones se realizaron al momento de la colocación y del retiro del DIV, luego cada 24 h hasta el colapso del FM y a partir de este momento cada 48 h hasta el día 12 y al día 17. Las muestras sanguíneas se centrifugaron a 900G durante 10 minutos para la obtención de suero, el cual se mantuvo a -20 °C hasta su análisis. Las muestras fueron analizadas por medio de la técnica de RIA con el kit comercial Coat a Count DPC® (Los Ángeles, CA, USA). Los valores de los controles se obtuvieron de hembras en estro y preñadas y fueron de 0,77 ng ml⁻¹ y de 7,9 ng ml⁻¹ para los controles bajo y alto, respectivamente.

El límite de detección fue de 0,1 ng ml⁻¹ y el coeficiente de variación intra-ensayo fue de 19,9% y 26,6% para el control bajo y alto, respectivamente.

Análisis estadístico. Los valores de los diámetros foliculares del FM (DFM) se analizaron desde el día de colocación del DIV hasta el colapso del FM, y de manera retrospectiva desde su desaparición hasta la primera vez que se visualizó. Estos datos fueron analizados utilizando el procedimiento MIXED de SAS® para mediciones repetidas en tiempo (SAS Institute 2020). El modelo matemático incluyó los efectos de tratamiento (TRT), día del protocolo y la interacción entre TRT y día del protocolo. Los resultados se expresaron como el cuadrado medio mínimo \pm error estándar. El IO fue analizado utilizando el procedimiento MIXED de SAS® (SAS Institute 2020) y el modelo matemático incluyó el efecto del TRT. La presencia de quistes foliculares fue analizada utilizando el procedimiento Glimmix de SAS®. El nivel de significancia fue de $p < 0,05$.

Experimento II

Animales y diseño experimental. Se utilizaron ovejas $\frac{3}{4}$ Texel (n = 9), múltiparas, con 2,5-3 CC, y diferentes al Experimento I, alojadas y alimentadas en condiciones similares que en el Experimento I. El experimento se realizó durante la estación reproductiva, siguiendo las recomendaciones de CICUAL-FCV. Al azar, se conformaron 3 grupos experimentales (n = 3 por grupo) en un diseño de cuadrados latinos con tres REP. El día 0, se les colocó un DIV (DICO®; Lab Syntex, Argentina). El día 5 se retiró el DIV y se aplicó una dosis IM de 125 µg cloprostenol sódico (Ciclase DL®, Lab Syntex, Argentina). Los grupos BE0, BE24 y BE36 recibieron una dosis IM de 100 µg BE (Gonadiol®, Lab Syntex, Argentina) a las 0 h, 24 h y 36 h posteriores al retiro del DIV, respectivamente. La duración de cada REP fue de 19 días y el período de descanso entre REP fue igual que en el experimento 1.

Estudio del crecimiento folicular. El estudio del crecimiento folicular se realizó de igual forma que en el Experimento I.

Determinación de progesterona. Se extrajeron las muestras sanguíneas a las 12 h de retirado el DIV, a partir del día 7 cada 48 h hasta el día 15 y el día 19; y se analizaron por medio de la técnica de quimioluminiscencia (Elecys®, Progesterone II, Roche, Mannheim, Alemania). Los valores de los controles se obtuvieron de hembras en estro y preñadas y fueron de 0,58 ng ml⁻¹ y de 6 ng ml⁻¹ para los controles bajo y alto, respectivamente. El límite de detección fue de 0,1 ng ml⁻¹ y el coeficiente de variación intra-ensayo fue de 15,7% y 22,3% para control bajo y alto respectivamente.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados utilizando el mismo procedimiento y modelo estadístico descrito en el Experimento I.

Experimento III

Diseño experimental. El experimento se realizó durante el mes de marzo, en un establecimiento comercial situado en el partido de Tordillo, provincia de Buenos Aires, Argentina (36°20'03.4"S - 57°22'23.9"W). Previo al inicio del experimento, se realizó la selección de hembras a partir del estado general, CC, y examen ultrasonográfico genital. Se utilizaron ovejas cruce Corriedale, múltiparas (n = 137), con una CC 2,5-3 y carneros raza Corriedale (n = 15), con una CC 3 y aptos reproductivamente (Edmondson y Shipley 2022). Las hembras y los machos fueron mantenidos en una pastura natural con acceso a agua *ad libitum*.

Protocolos de sincronización de celos. Las ovejas fueron sincronizadas mediante la colocación de un DIV (DICO®; Lab Syntex, Argentina; día 0). El día 5 se retiró el DIV y se aplicó una dosis de 125 µg de cloprostenol sódico (Ciclase DL®, Lab Syntex, Argentina). Al momento del retiro del DIV, las ovejas fueron asignadas al azar a dos TRT: 1) Grupo CON (n = 71): se les aplicó 250 UI de eCG (Novormon®, Lab Syntex, Argentina) como grupo testigo, y 2) Grupo BE (n = 64): se les aplicó 100 µg de BE (Benzoato de Estradiol®, Lab Syntex, Argentina).

Extracción y evaluación de semen. Los eyaculados, para el examen de aptitud reproductiva y para su utilización en IA, se obtuvieron por medio de un electroeyaculador Siremaster Eyaculator (Ice Corporation, KS USA). La evaluación microscópica del eyaculado consistió en la determinación de la motilidad en masa microscópica (mínimo 3; escala 0-5), motilidad individual (mínimo 70%), vigor (mínimo 3; escala 0-5) y concentración espermática en cámara de Neubauer (mínimo 3×10^6 espermatozoides por mm³).

Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). La IATF fue realizada a las 50-55 h de retirado el DIV, por el mismo operario, por vía cervical y la dosis inseminante utilizada fue de aproximadamente 100×10^6 espermatozoides totales en de 0,1 ml (Madrighali et al. 2021). Cada eyaculado obtenido fue dividido en partes iguales para inseminar equitativamente ambos TRT.

Diagnóstico de gestación. El diagnóstico de gestación (DG) fue realizado por el mismo operario al día 35 post inseminación, por vía transrectal, por medio de un ecógrafo (Mindray DP-6600 Vet) con transductor lineal modelo (75L50EAV) de 5.0/7.5/10.0 MHz.

Análisis estadístico. El porcentaje de preñez (oveja preñada/oveja inseminada *100) fue analizado con el procedimiento GLIMMIX correspondiente al paquete estadístico SAS® (SAS Institute 2020).

RESULTADOS

Experimento I

Cinco ovejas no desarrollaron folículos preovulatorios y se descartaron los datos preliminares recolectados (1 de

CG REP 1, 1 de BE100 REP 3, 1 de BE200 REP 2 y 1 de BE200 REP 3). Cinco registros ováricos fueron inconclusos por lo que se descartaron (1 de BE100 REP 1, 1 de BE100 REP 2, 2 BE200 REP 2 y 1 de BE200 REP 3). Tres ovejas desarrollaron quiste folicular a partir del FM, por lo que los datos relacionados con el crecimiento folicular de esa REP no fueron analizados (BE200 de las REP 1, 2 y 3). Se definió como quiste folicular aquella estructura folicular anecogénica con un diámetro mayor a 10 mm (Ali y Derar 2021). La presencia de quistes foliculares en el grupo Be200 no fue diferente en comparación con los grupos eCG y BE100 ($p = 0,99$).

Del total de folículos colapsados ($n = 53$), 17 correspondieron al grupo CON (32,07%), 20 al grupo

BE100 (37,73%) y 16 al grupo BE200 (30,18%; $p = 0,19$) y no se registraron ovulaciones múltiples.

Crecimiento folicular y ovulación. Los valores del diámetro folicular medido desde el momento de inserción del DIV hasta la desaparición del FM (foliculo ≥ 5 mm), fueron similares, con un crecimiento folicular diario de $0,56 \text{ mm} \pm 0,02 \text{ mm}$ ($p < 0,001$; DIA) y no fueron diferentes entre TRT ($p = 0,96$) ni en la interacción TRT y día del experimento ($p = 0,67$).

En la Tabla 1 se presentan la media y el error estándar (SD) del DFM al día de emergencia, del DFM al retiro del DIV, del FM preovulatorio medio y IO.

Tabla 1. Media y error estándar (ES) del diámetro del folículo mayor (DFM) al retiro del DIV, DFM preovulatorio (DFMP) y valores mínimo, máximo y promedio del intervalo retiro DIV-ovulación (IO) en ovejas con celo sincronizado con DIV y progesterona asociada a eCG (CON) o 100 (BE100) o de 200 μg (BE200) de benzoato de estradiol.

TRT	Ovejas (n)	DFM retiro DIV	DFMP	Promedio IO	IO	
		(ES, mm)	(ES, mm)	(ES, h)	Mín. y máx. (h)	
CON	17	$5,04 \pm 0,17$	$5,93 \pm 0,18$	$50,11 \pm 3,33$	6	66
BE100	20	$5,21 \pm 0,15$	$6,03 \pm 0,13$	$46,60 \pm 2,76$	18	66
BE200	16	$5,01 \pm 0,24$	$6,18 \pm 0,19$	$41,64 \pm 3,33$	6	90

Nota: efecto de TRT, $p > 0,96$; efecto de DIA, $p < 0,001$; efecto de TRT*DIA, $p > 0,67$.

El Rango IO fue menor para el grupo BE100 que en los grupos CON y BE200 (48 h vs 60 y 84 h, respectivamente). El 80% de los FM totales ovularon entre las 12 h y las 54 h de retirado el DIV; el 78% y el 70% de los grupos BE100 y BE200, respectivamente, ovuló entre las 36 y las 54 h, mientras que el 80% de los FM del grupo eCG lo hizo entre las 42 y las 66 h.

Progesterona. Las concentraciones séricas de P_4 al momento del retiro del DIV fueron superiores a los 2 ng ml^{-1} , descendiendo a las 24 h a valores $< 1 \text{ ng ml}^{-1}$. Los grupos CON y BE100 presentaron concentraciones hormonales $> 1 \text{ ng ml}^{-1}$ a partir del día 10. Las concentraciones hormonales superaron los 2 ng ml^{-1} a partir del día 12 en los tres TRT. Las concentraciones séricas de P_4 desde el día

5 al día 17 no fueron diferentes entre los TRT ($p = 0,34$). Tampoco se detectó una interacción de TRT *DIA ($p = 0,57$), pero sí un efecto de DIA ($p < 0,001$).

Experimento II

Crecimiento folicular y ovulación. Se registraron 27 folículos colapsados. El diámetro folicular medido desde el momento de inserción del DIV hasta la desaparición del FM no fue diferente entre TRT ($p = 0,98$) ni en la interacción TRT y día del experimento ($p = 0,89$) y la tasa de crecimiento diaria promedio fue de $0,5 \text{ mm}$ para los tres TRT ($p < 0,001$; DIA).

En la Tabla 2 se presentan los valores del DFM al retiro del DIV, el DFM preovulatorio medio y el IO de los TRT.

Tabla 2. Media y error estándar (ES) del diámetro del folículo mayor (DFM) al retiro del DIV, DFM preovulatorio (DFMP) y valores mínimo, máximo y promedio del intervalo retiro DIV-ovulación (IO) en ovejas con celo sincronizado con DIV y progesterona asociada a eCG (CON) o 100 (BE100) o de 200 μg (BE200) de benzoato de estradiol.

TRT	Ovejas (n)	DFM retiro DIV	DFMP (ES, mm)	Promedio IO (h)	IO mín. y máx. (h)	
		(ES, mm)				
BE0	7	$4,57 \pm 0,36$	$5,71 \pm 0,20$	$43,71 \pm 6,63$	30	78
BE24	10	$4,10 \pm 0,73$	$5,69 \pm 0,34$	$50,40 \pm 5,38$	30	90
BE36	10	$4,90 \pm 0,34$	$5,71 \pm 0,20$	$52,80 \pm 6,05$	6	66

Nota: efecto de TRT, $p > 0,98$; efecto de DIA, $p < 0,001$; efecto de TRT*DIA, $p > 0,89$.

El rango IO fue menor para el grupo BE0 que para los grupos BE24 y BE36 (48 h vs. 60 h). Las medias de IO no fueron diferentes entre TRT ($p = 0,07$). Sin embargo, se observó que en el grupo BE0 el 70% de FM colapsó entre las 30 y 42h posteriores al retiro del DIV, mientras que en los grupos BE24 y BE36, el 70% de los FM colapsó 12 h más tarde que el grupo BE0. No se observaron quistes foliculares en ninguno de los TRT ni REP.

Progesterona. Las concentraciones séricas de P_4 desde las 12 h de retirado el DIV hasta el día 9 fueron $< 1 \text{ ng ml}^{-1}$. Las concentraciones hormonales $> 1 \text{ ng ml}^{-1}$ se presentaron a partir del día 11 en el grupo BE36 y al día 13 en los grupos BE0 y BE24. No presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,39$). Tampoco se detectó una interacción de TRT *DIA ($p = 0,14$), pero sí se detectaron diferencias entre los días ($p < 0,001$; DIA).

Experimento III

En el experimento III, el porcentaje de preñez no fue diferente entre TRT (eCG: 52,11% y BE: 45,31%, $p = 0,41$), no se observaron diferencias significativas en relación con la variable MACHO ($p = 0,11$), y a la interacción MACHO*TRT ($p = 0,71$).

DISCUSIÓN

En el Experimento I, el uso de una dosis de 200 µg de BE produjo quistes foliculares y, aunque no hubo diferencia significativa con los demás grupos experimentales, esta dosis no sería recomendable, ya que la presencia de estas estructuras ováricas repercute en la fertilidad de la hembra (Feng et al. 2021).

Asimismo, la dosis de 100 µg de BE no produjo quistes ováricos en los dos primeros experimentos, lo que resultaría en una dosis segura de aplicar en un PS. Por otro lado, en el Experimento I, el DFMP y el IO obtenido con la mencionada dosis no fueron diferentes a los obtenidos con eCG por lo que, desde este punto de vista, la dosis de BE podría ser un buen sustituto de la gonadotrofina. Sin embargo, al haber sido aplicada 24 h posteriores al retiro del DIV sería necesario un nuevo encierre, lo que iría en detrimento del bienestar animal y mayor tiempo de uso del personal en esa maniobra.

En el Experimento II, a partir de los resultados obtenidos en el Experimento I, se utilizó la dosis de 100 µg de BE en diferentes momentos de aplicación y, aunque no existieron diferencias significativas entre TRT en relación con el promedio IO, la aplicación de 100 µg de BE al momento del retiro del DIV presentó el promedio y rango IO más bajo; lo que permitiría eliminar el encierre extra del Experimento I.

El Grupo B100 y el Grupo BE24 presentaron concentraciones hormonales de P_4 con características temporales y de concentración similares entre sí; con concentraciones séricas ≥ 2 ng ml⁻¹ a los seis días posteriores al promedio del momento de ovulación, en concordancia con estudios previos (Driancourt et al. 1985, Brogni y de Souza 2021, Al-Jaryan et al. 2023), lo que indicaría la presencia de un CL funcional.

En el Experimento III, el porcentaje de preñez obtenido con el tratamiento BE fue superior a los resultados publicados por Castilho et al. (2015) (45% vs. 11%). Es posible que el mejor resultado obtenido en el presente trabajo se deba a la dosis y momento de aplicación de BE.

Si bien no se encontraron diferencias en el porcentaje de preñez, es posible que el momento de la IATF (50-55 h de retirado el DIV) no fuera el más adecuado para el tratamiento BE. En base a que el promedio IO de BE100 (Experimento II) fue de 43 h post retiro del DIV y que el 78% de las ovulaciones del PS BE ocurrió entre las 36 y 42 h, la IATF a las 50-55 h podría no ser un momento acertado para la IATF en PS BE.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se determinó que un PS basado en la colocación de un DIV con P_4 y una dosis IM de 100 µg

de BE al momento del retiro de DIV con P_4 , con IATF con semen fresco a las 50-55 h podría ser una alternativa segura y efectiva a la aplicación de eCG, aunque serían necesarias investigaciones relacionadas con el momento de IATF para mejorar el porcentaje de preñez.

ORCID

Gómez, M.V. ✉ verano@fcv.unlp.edu.ar;  <https://orcid.org/0000-0002-7737-0873>

Soto, A.T. ✉ atsoto@fcv.unlp.edu.ar;  <https://orcid.org/0000-0003-2300-4728>

de la Sota R.L. ✉ luzbel@fcv.unlp.edu.ar;  <https://orcid.org/0000-0002-9417-9560>

REFERENCIAS

1. AL-Jaryan IL, AL-Thuwaini TM, Merzah LH, Alkhammas AH. Reproductive physiology and advanced technologies in sheep reproduction. *Rev. Agric. Sci.* 2023; 11: 171-180.
2. Ali A, Derar DR. Relationships among the corpus luteum, follicles and conceptus in sheep. *Anat. Histol. Embryol.* 2021; 50(1): 65-71.
3. Brogni CF, de Souza AF. Ultrasonography in sheep follicular dynamics. *OAJAR.* 2021; 1(01): 25-29.
4. Castilho C, Ferreira de Almeida M, Giometti IC, Zoccolaro Costa M, Almeida Gabriel Filho LR, Gardim De Cesare A. Use of estradiol benzoate to induce ovulation in a short-term protocol for fixed-time AI in sheep. *Semina: Cienc. Agrar.* 2015; 36(3): 1419-1423.
5. Driancourt MA, Gibson WR, Cahill LP. Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review. *Reprod. Nutr. Dev.* 1985; 25(1A): 1-15.
6. Edmondson MA, Shipley CF. Theriogenology of Sheep, Goats, and Cervids. In: Pugh DG, Baird AN, Edmondson M, Passler T, editors. *Sheep, Goat, and Cervid MEDICINE*. 3rd ed. Canada: Elsevier; c2022. p.1441-207.
7. Feng T, Ding H, Wang J, Xu W, Liu Y, Kenéz Á. Alterations of serum metabolites and fecal microbiota involved in ewe follicular cyst. *Front. Microbiol.* 2021; 12: 675480.
8. Gurung NK, Rush J, Pugh DG. Feeding and Nutrition. In: Pugh DG, Baird AN, Edmondson M, Passler T, editors. *Sheep, Goat, and Cervid MEDICINE*. 3rd ed. Canada: Elsevier; 2022. p.15-43.
9. Hameed N, Khan MIR, Zubair M, Andrabi SMH. Approaches of estrous synchronization in sheep: developments during the last two decades: a review. *Trop. Anim. Health Prod.* 2021; 53(485): 1-10.
10. Hazlinda H, Salleh SM, Panandam JM, Nasir SM, Yaakub H. Effect of fluorogestone acetate (FGA) sponge with oestradiol benzoate (OB) on oestrus response and behaviour in Dorper cross ewes. *Mal. J. Anim. Sci.* 2021; 24(1): 76-82.
11. Madrigali A, Rota A, Panzani D, Castellani S, Shawahina M, Hassan A, Camillo F. Artificial insemination in sheep with fresh diluted Semen:

- comparison between two different semen extenders and management protocols. *Trop. Anim. Sci. J.* 2021; 44(3): 255-260.
12. Manteca Vilanova X, De Briyne N, Beaver B, Turner PV. Horse welfare during equine chorionic gonadotropin (eCG) production. *Animals.* 2019; 9(12): 1053.
 13. Mapletoft RJ, Baruselli PS, Bo GA. Fisiología relacionada al uso de la eCG en ganado de carne y leche. *SPERMOVA.* 2022; 12(1): 83-91.
 14. Martemucci G, D'Alessandro AG. Estrous and fertility responses of dairy ewes synchronized with combined short term GnRH, PGF2 α and estradiol benzoate treatments. *Small Rum. Res.* 2010; 93(1): 41-47.
 15. Murphy BD. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *AR.* 2018; 9(3): 223-230.
 16. Olivera-Muzante J, Fierro S, López V, Gil J. Comparison of prostaglandin and progesterone-based protocols for time artificial insemination in sheep. *Theriogenology.* 2011; 75(7): 1232-1238.
 17. SAS Institute. 2020. *Base SAS 9.4 procedures guide.* SAS Institute.
 18. Shaw L, Phillips K. Guide to providing optimal nutrition to ewes throughout the year. 2023. *In Practice.* 2023; 45(10): 610-618.
 19. Silveira DC, Vargas SF, Oliveira FC, Barbosa RM, Knabah NW, Goularte KL, Vieira AD, Baldassarre H, Gasperin BG, Mondadori RG, Lucia T. Pharmacological approaches to induce follicular growth and ovulation for fixed-time artificial insemination treatment regimens in ewes. *Anim. Reprod. Scie.* 2021; 228: 106734.