

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y FERTILIDAD EN OVEJAS APLICANDO UN
ESQUEMA CORTO DE PROGESTERONA E INSEMINADAS CON SEMEN
FRESCO DILUIDO.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

ELIZABETH COLÍN VELÁZQUEZ

ASESORES:

MVZ. MPA. JUAN ALBERTO BALCÁZAR SÁNCHEZ

MVZ. DCV. ANTONIO ISMAEL PORRAS ALMERAYA

MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme dado la oportunidad de vivir a lado de una maravillosa familia y haberme permitido llegar hasta este momento tan especial de mi vida, llena de salud y amor.

A mi padre Adrián Colín.

Por haber compartido conmigo tu sabiduría y ser un ejemplo digno de imitar, pero más que nada por darme tu amor incondicional que me ayudó a culminar mi carrera profesional.

A mi madre Martha Velázquez.

Por todos los sacrificios hechos hasta ahora, con el único fin de que pueda encontrar mi felicidad y motivarme a ser cada vez mejor para poder alcanzar mis metas.

A mis hermanas Karina, Adriana e Itzel.

Por su apoyo, su confianza y por compartir conmigo tantos momentos felices, las quiero mucho. Y a mi cuñado Antonio Aguirre por confiar en mí y darme la oportunidad de probar mis conocimientos en medicina veterinaria.

A Mauricio Posadas.

Por haber estado en los momentos difíciles y darme palabras de aliento, por todo el amor, apoyo y confianza que me has dado para continuar con mi camino.

A mis familiares.

A mi tía Graciela Velázquez, a mi tío Rubén Lara, a mi tía Ma. de la Luz Velázquez, a mi tío Rodolfo Velázquez; por su apoyo incondicional a lo largo de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

A mis asesores.

Al MVZ. DCV. Antonio Porras por su tiempo, apoyo y motivación para la elaboración de esta tesis, al MVZ. MPA. Alberto Balcázar por haberme dado la oportunidad de trabajar a su lado. En general les agradezco a ambos por los conocimientos invaluableles que me brindaron para poder llevar a cabo esta investigación, y sobretodo su gran paciencia para esperar que este trabajo pudiera llegar a su fin.

A los miembros del jurado.

Al MVZ. Antonio Ortiz, MVZ. Joel Hernández, MVZ. Susana Rojas, MVZ. Alberto Balcázar y MVZ. Octavio Mejía por las valiosas contribuciones que hicieron al trabajo final y por el tiempo que dedicaron en revisarlo, aun a pesar de tantas actividades que los ocupan.

A José Guadalupe Garduño.

Por darme la oportunidad y brindarme la confianza de trabajar en el Rancho Agualoma. También agradezco el apoyo proporcionado por todos los trabajadores del rancho en especial al Sr. Martín.

A mis compañeros del **Departamento de Reproducción** de la FMVZ, UNAM, quienes me acompañaron en esta trayectoria de aprendizaje y conocimientos, y quienes por azares de la vida me apoyaron, directa o indirectamente, en la realización de esta tesis.

Pero más que nada, agradezco a la **Universidad Nacional Autónoma de México** y en especial a la **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia** por permitirme el honor de pertenecer a ella y ser parte de una generación productiva para el país.

Si caes es para levantarte, si te levantas es para seguir, si sigues es para llegar a donde quieres ir y si llegas es para saber que lo mejor está por venir...

E.M.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
HIPÓTESIS	7
OBJETIVOS	8
MATERIAL Y MÉTODOS	9
ANIMALES	9
TRATAMIENTOS	10
ESTIMACIÓN DE NO RETORNO AL ESTRO Y DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN	13
VARIABLES DE ESTUDIO	14
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	15
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	26
REFERENCIAS	27

RESUMEN

COLÍN VELÁZQUEZ ELIZABETH. Sincronización del estro y fertilidad en ovejas aplicando un esquema corto de progesterona e inseminadas con semen fresco diluido. (bajo la dirección de: MVZ. MPA. Juan Alberto Balcázar Sánchez y MVZ. DCV. Antonio Ismael Porras Almeraya).

En este estudio se comparó la fertilidad (tasa de concepción y de gestación), al utilizar dos esquemas de sincronización de estro y dos diluyentes de semen en ovejas. El estudio se realizó en el Estado de México, se utilizaron un total de 76 ovejas Dorper, las cuales se dividieron aleatoriamente en dos grupos de 38 hembras cada uno. A todas las ovejas se les aplicó un dispositivo de liberación controlada con 0.3g de progesterona natural (CIDR). En uno de los grupos el dispositivo permaneció durante 5 días (GTC), y en el otro grupo (GTL) 12 días. Además, en ambos grupos, a cada oveja se le administró 125 μg de $\text{PGF}_2\alpha$ al momento de la colocación del dispositivo, y solamente las ovejas del GTC recibieron 200 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) al retirar el dispositivo. Todos los animales se sometieron a un programa de detección de estros durante las primeras 72 h después de retirado el dispositivo. El monitoreo se realizó dos veces al día con un macho provisto con mandil. Las ovejas detectadas en celo en las primeras 48 h se inseminaron 12 h después de la detección, y las observadas entre las 49 a 72 h se inseminaron en ese momento.

La inseminación se llevó a cabo por vía cervical con semen fresco diluido. En cada colecta el semen se dividió en 2 partes iguales, una parte se diluyó en leche descremada más 7% de lipoproteína de baja densidad (LDL) y la otra mitad se diluyó en leche descremada más 7% de yema de huevo. El porcentaje de sincronización de celos en el GTC fue de 94.7% y en GTL 81.6% ($P>0.05$). La distribución de estros fue similar entre grupos; el 73.7% de las ovejas del GTC y el 57.9% del GTL mostraron celo durante las primeras 48 h de observación, mientras que en el periodo de 49 a 72 h, fue de 21.1% en el GTC y 23.7% en el GTL ($P>0.05$). El porcentaje de concepción fue de 75% en el GTC y de 38.7% en el GTL ($P<0.05$), mientras que la tasa de gestación fue de 71.1% en el GTC y de 31.6% en el GTL ($P<0.05$). La tasa total de concepción y de gestación con el uso de lipoproteína de baja densidad (LDL) fueron de 64.7% y de 57.9% respectivamente, mientras que con la adición de yema de huevo fueron de 51.5% y 44.7% respectivamente ($P>0.05$). Se concluye que con la aplicación de progesterona (CIDR) durante 5 días, se obtiene una sincronización de estros tan efectiva como aquella observada al emplear un esquema de 12 días, pero con una fertilidad superior. Además, se comprobó que la adición de lipoproteína de baja densidad al diluyente es igualmente efectiva que la yema de huevo en lo que a fertilidad se refiere.

INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción de ovinos en México, es importante lograr una buena eficiencia reproductiva para proveer al mercado continuamente de corderos durante el año y permitir a los productores controlar los periodos de reproducción y de partos. Para tal fin, se han desarrollado diferentes tratamientos hormonales encaminados a regular la actividad reproductiva de esta especie (Menchaca y col., 2007^a). Estos tratamientos hormonales, se basan en el control de la fase folicular y la fase lútea del ciclo estral, de esta manera, se puede utilizar la estrategia de acortar la fase lútea, provocando la regresión del cuerpo lúteo (CL) existente mediante la administración de prostaglandina ($\text{PGF}_2\alpha$), o la estrategia de prolongar dicha fase proporcionando progestágenos (Wildeus, 2000; Menchaca y col., 2007^a). Los progestágenos y la progesterona natural, se usan frecuentemente para sincronizar el estro en pequeños rumiantes. Los protocolos más utilizados, se han basado en la aplicación de esponjas intravaginales impregnadas con acetato de fluorogestona (FGA) (Spitzer y Carpenter, 1981) o acetato de medroxiprogesterona (MPA) (Boscos y col., 2002), o empleando progesterona natural a través de la aplicación de Dispositivos Internos de Liberación Controlada (CIDR); estos tratamientos se aplican tradicionalmente durante 9 a 14 días con el fin de imitar la fase lútea normal (Greyling y Van Niekerk, 1991; Ungerfeld y Rubianes, 1999).

Generalmente, la mayoría de estos tratamientos “tradicionales” resultan en una buena sincronización de estros (100%), pero con baja fertilidad (63%) (Farfán y col., 2009). En los años sesenta, Quinlivan y Robinson (1969), observaron que las ovejas que recibieron un progestágeno por 16 días (tratamiento muy largo), presentaban un patrón alterado de la distribución de los espermatozoides dentro del aparato reproductor de la oveja, principalmente, se observaba una incapacidad para mantener una adecuada población espermática dentro del cérvix, considerado como el reservorio principal. En varios estudios posteriores, se ha encontrado que cuando los progestágenos son aplicados por largo tiempo, producen un patrón de movilidad espermática anormal en el útero y el cérvix, que hacen que tanto el transporte espermático como la supervivencia espermática se vean afectados (Hawk y Conley, 1972; Hawk y Echtenkamp, 1973; Greyling y Van Niekerk, 1991; Cavaco-Goncalves y col., 2006). La baja fertilidad asociada a los tratamientos largos de 12 días utilizando CIDR, también podría deberse a que el dispositivo se mantiene por mucho tiempo en la vagina, provocando su inflamación por el simple hecho de ser un cuerpo extraño, permitiendo la infiltración de leucocitos al sitio de inflamación, de esta manera las sustancias activas liberadas durante la reacción inflamatoria, como son las citocinas proinflamatorias, ejercen un efecto tóxico sobre el espermatozoide (Wheaton y col., 1993; Suárez y col., 2006; Córdova-Izquierdo y col., 2008; Manes y col., 2010). Aunado a esto, se ha informado que el principal inconveniente de utilizar un tratamiento a base de progesterona o progestágenos durante 9-14 días, es que el nivel deseado del principio activo del tratamiento, difícilmente se mantiene después del sexto día de aplicación, llegando a niveles considerados “subluteales”, lo que promueve la

persistencia de folículos dominantes y su posterior ovulación, hecho que se asocia a una baja fertilidad (Rubianes y Menchaca, 2003; Córdova-Izquierdo y col., 2008).

En recientes años, se han desarrollado esquemas de aplicación encaminados a resolver los efectos adversos de los tratamientos largos. En varios estudios, se ha encontrado que un tratamiento de corta duración (5 días) con progestágenos puede asegurar un nivel adecuado de liberación del principio activo por el dispositivo, evitando la persistencia de folículos dominantes y permitiendo el recambio folicular y la ovulación de ovocitos considerados “jóvenes”, con los cuales hipotéticamente se incrementaría el rango de fertilidad (Viñoles y col., 2001; Diskin y col., 2002). En 2002 Ungerfeld y Rubianes demostraron que la aplicación de un tratamiento corto con progesterona (CIDR por 6 días) es suficiente para inducir y sincronizar el estro en el 95.9% de las ovejas tratadas, aunado con una buena fertilidad (59.6%) después de ser expuestas a machos sexualmente activos.

Por otra parte, una ventaja al aplicar estos tratamientos hormonales, cualquiera que sea su duración, es la posibilidad de utilizar la Inseminación Artificial (IA) en los animales tratados. En el ovino, la técnica más utilizada es la inseminación artificial (IA) por vía cervical aplicando semen fresco diluido, usando esta técnica se han obtenido resultados de fertilidad que varían de 50% hasta 70% (Córdova-Izquierdo y col., 2008; Manes y col., 2010). En cuanto al proceso de dilución del semen, este se realiza para poder proporcionar al eyaculado nutrientes, un medio isotónico y controlar su pH (Mejía y col., 1995); en diversos

estudios se menciona que el semen ovino es muy sensible a cambios bruscos de temperatura, por tal razón al diluyente se le debe adicionar un protector de membrana, el cual asegura la viabilidad de las células espermáticas (Mejía y col., 1995; Anton, 2007^a). Entre los protectores de membrana más utilizados está la yema de huevo, que debido a las propiedades de sus componentes es el ingrediente de elección, ya que se ha observado que incrementa la habilidad fertilizante del espermatozoide cuando se agrega al semen a una temperatura ambiente (Shannon y Curson, 1983), además de que incrementa la resistencia del espermatozoide contra el choque frío de temperatura, promoviendo la supervivencia de este (Anton, 2007^a). Se sabe que la porción de la yema de huevo que proporciona estabilidad a la membrana espermática, es la lipoproteína de baja densidad (LDL), la cual es su mayor componente (70%). Por esta razón, se ha propuesto, desde los años setentas, utilizar únicamente a la LDL como parte del diluyente del semen, ya que se presume que es la responsable del efecto estabilizador y reparador de la membrana espermática (Foulkes, 1977; Anton, 2007^b). Moussa y col. (2002), observaron un incremento en la movilidad de los espermatozoides al aplicar LDL al diluyente como un protector de membrana. Por las ventajas antes mencionadas es posible que la LDL pueda sustituir de manera exitosa el uso de yema de huevo en los diluyentes, tanto de manera comercial como a nivel de campo.

HIPÓTESIS

La manifestación del estro es similar en ambos programas de sincronización, del mismo modo, la fertilidad obtenida después de un programa corto de sincronización del estro (5 días) con progesterona es similar a la lograda con un programa largo (12 días). Además, la fertilidad al usar LDL como parte del diluyente del semen fresco es similar a la obtenida al usar yema de huevo.

OBJETIVOS

- Evaluar la efectividad de un esquema de sincronización de estros a corto plazo (5 días) contra un esquema a largo plazo (12 días) en cuanto a la respuesta al estro y la fertilidad en ovejas.
- Evaluar la fertilidad (tasa de concepción y tasa de gestación) obtenida con un diluyente a base de LDL contra un diluyente con yema de huevo haciendo uso de inseminación artificial vía cervical.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo durante los meses de Enero a Marzo de 2012, en el Rancho "Aqualoma" ubicado en la carretera Rincón de los Pirules km 4, Tlalchichilpa Centro, San Felipe del Progreso, Estado de México. Este municipio está ubicado en la parte noro-este del Estado de México (latitud 19° 43'N y longitud 99° 57'), una altitud de 2,650 msnm, el clima predominante es el templado sub-húmedo con lluvias en verano. La temperatura anual varía entre 12-18 °C, sin embargo se registran temperaturas mínimas de 2°C y máximas de 28°C.

Animales:

Para el estudio se utilizaron un total de 76 ovejas de la raza Dorper, maduras sexualmente, clínicamente sanas, de edades comprendidas entre 2 y 5 años, peso corporal entre 70 a 80 kg y una condición corporal de 3-3.5 (escala de 0-5), que se mantuvieron en un sistema estabulado. Su alimentación era a base de pastura de maíz y avena, además de un complemento alimenticio compuesto por harina de pescado, soya, destilado de grano, melaza y maíz; y agua extraída de pozo que estaba a su disposición *ad libitum*.

Tratamientos:

Las ovejas se dividieron en forma aleatoria en dos grupos de 38 individuos cada uno. A todas las ovejas se les aplicó un Dispositivo Intravaginal de Liberación Controlada*, impregnado con 0.3 g de progesterona natural. El día de la inserción del dispositivo fue considerado como el día 0 en ambos grupos. En uno de los grupos el tratamiento con progesterona se aplicó durante 5 días [Grupo Tratamiento Corto (GTC); n=38]. En el otro grupo, el tratamiento con progesterona duró 12 días [Grupo Tratamiento Largo (GTL); n=38], como el sugerido en el producto comercial. Al momento de la colocación del dispositivo, a cada oveja se le aplicó una inyección de 0.5 ml de PGF₂α IM (125 µg)** y solamente a las ovejas con tratamiento corto se les aplicó 200 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG)*** IM al retirar el dispositivo (Figura 1).

* CIDR®, PFIZER, México.

** Celosil, Intervet, México.

*** Folligon, Intervet, México.

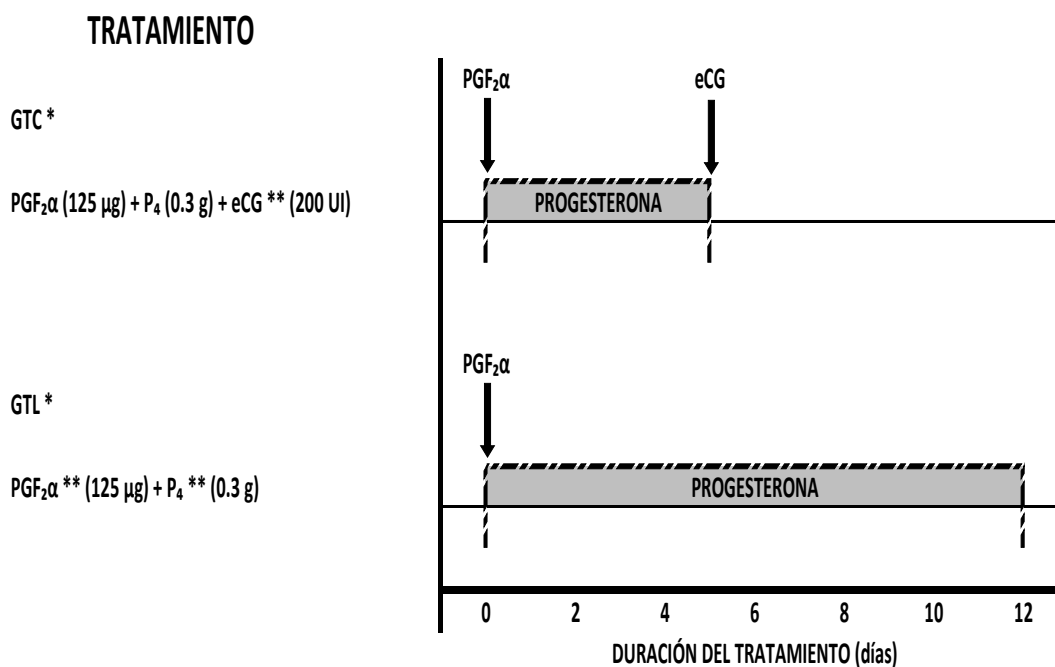


Figura 1. Línea de tiempo de la aplicación de cada tratamiento utilizado.

* GTC = Grupo Tratamiento Corto; GTL = Grupo Tratamiento Largo.

** PGF₂α = Prostaglandina F₂α; P₄ = Progesterona; eCG = Gonadotropina Coriónica equina

Después de retirar el dispositivo todos los animales se sometieron a un programa de detección de estros durante las primeras 72 h. El monitoreo se realizó con un macho provisto con mandil dos veces al día (por la mañana y por la tarde). El estro fue definido como el momento en el que la oveja permitió ser montada por el macho y permaneció inmóvil durante este proceso. Cada oveja que entró en celo se registró, se marcó y se sacó del lote de hembras para no distraer al macho celador.

Las ovejas detectadas en celo en las primeras 48 h después de retirado el CIDR, se inseminaron 12 h después de la detección del celo, y las detectadas entre las 49 a 72 h de retirado el dispositivo, se inseminaron al momento de la detección (Manes y col., 2010). La inseminación artificial se llevó a cabo por vía cervical con semen fresco diluido, para ello se colectó cada día semen con vagina artificial (Balcázar y Porras, 2010). Se utilizaron dos machos, clínicamente sanos, maduros sexualmente, de edades comprendidas entre 2 a 4 años, peso corporal de 110 a 120 kg, condición corporal 3-3.5 (escala 0-5) y de fertilidad probada. Su alimentación fue a base de pastura de maíz y avena, además de un complemento alimenticio compuesto por harina de pescado, soya, destilado de grano, melaza y maíz; y agua extraída de pozo que estaba a su disposición *ad libitum*.

Una vez obtenido el eyaculado, se evaluaron sus características macroscópicas (color, pH, volumen) y microscópicas (concentración espermática, movilidad en masa e individual, así como la morfología considerando anomalías primarias, secundarias y muertos). Sólo fueron utilizados aquellos eyaculados que después de ser evaluados obtuvieron aceptables porcentajes de movilidad espermática ($\geq 70\%$), de espermatozoides normales ($\geq 70\%$) y una buena concentración celular ($\geq 3,000$ millones de espermatozoides por ml). Cada eyaculado se dividió en 2 partes iguales; una parte se diluyó en leche descremada (ultra pasteurizada light) y se le añadió 7% de lipoproteína de baja densidad (LDL) (siguiendo la técnica descrita por Moussa y col. (2002) y modificada en el Depto. Reproducción FMVZ-UNAM en lo que se refiere a su liofilización). La otra mitad se

diluyó con leche descremada (ultra pasteurizada light) y se le añadió 7% yema de huevo. A la mitad de las ovejas detectadas en celo en ambos grupos, tanto del GTC como del GTL, se inseminaron vía cervical con semen diluido con yema de huevo, siguiendo la técnica descrita por Balcázar y Porras (2010), y la otra mitad con semen con LDL. La dosis por oveja fue de 200 millones en 0.5 ml.

Estimación de no retorno al estro y diagnóstico de gestación:

El programa de monitoreo de celos se siguió aplicando a todas las ovejas inseminadas. Las ovejas inseminadas que mostraron signos de celo entre los 16 a 18 días después de la inseminación, se les consideró como no gestantes. Todas las ovejas inseminadas fueron sometidas a un examen ultrasonográfico transrectal a los 30 días después de la IA, usando un equipo Aloka 500 (Tokyo, Japón) con un transductor de 7 MHz, adaptado a una varilla de plástico rígida para poder manipularlo de manera externa por el recto.

Variables de estudio:

En el presente trabajo se midieron las siguientes variables de respuesta:

- Porcentaje de ovejas en estro: Es el número de ovejas que mostraron signos de estro una vez retirado el tratamiento del total de ovejas tratadas.
- Tiempo promedio a la manifestación del celo: Se refiere al tiempo en que se detectó el celo después de retirado el tratamiento.
- Porcentaje de no retorno al estro: Es el número de ovejas que no presentaron signos de estro alrededor de los 16-18 días después de la IA, del total de ovejas inseminadas.

La fertilidad fue evaluada con base en el porcentaje de concepción y de gestación:

- Porcentaje de concepción: Es el número de ovejas gestantes entre el número total de ovejas inseminadas.
- Porcentaje de gestación: Es el número de ovejas gestantes entre el número total de ovejas tratadas.

Análisis estadístico:

El análisis que se realizó para demostrar la dependencia entre el tratamiento utilizado (GTC y GTL); con las variables de fertilidad (porcentaje de concepción y de gestación) y el tiempo promedio a la manifestación del celo, fue una prueba exacta de Fisher; la cual también se utilizó para demostrar la dependencia entre el tipo de diluyente usado (LDL o yema de huevo) y las variables de fertilidad. Estas pruebas fueron realizadas con ayuda del programa de computo SPSS 16®.

RESULTADOS

El porcentaje de sincronización de celos logrado en todas las ovejas tratadas fue de 88.2%; no se detectaron diferencias estadísticas al comparar los porcentajes de sincronización de estro entre el GTC (94.7%) y el GTL (81.6%) ($P>0.05$).

En la Figura 2 se muestra la distribución de estros después de retirado el CIDR; el 73.7% de las ovejas del GTC y el 57.9% del GTL mostraron celo en las primeras 48 h de observación ($P>0.05$). Mientras que en el periodo de monitoreo de las 49 a las 72 h, el 21.1% de las ovejas del GTC y el 23.7% del GTL mostraron celo ($P>0.05$).

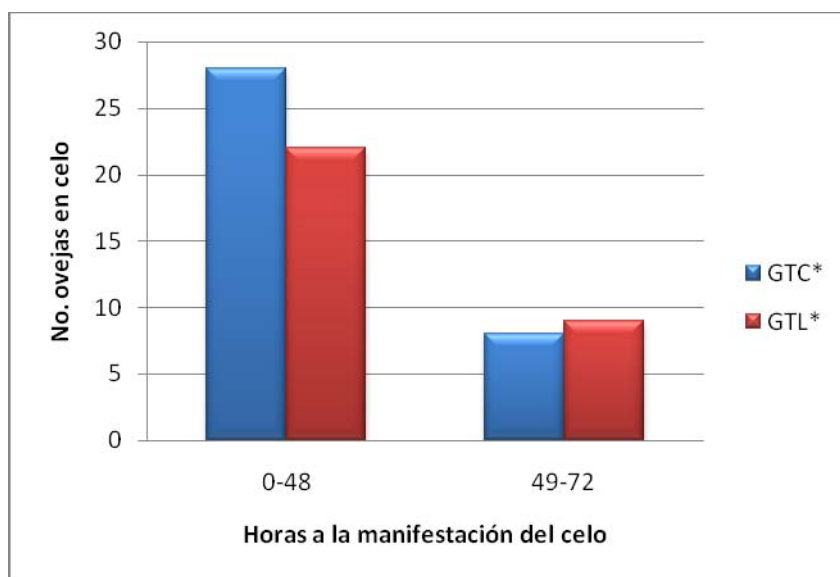


Figura 2. Distribución de estros en ovejas sometidas a un tratamiento corto (5 días) o largo (12 días) con progesterona para la sincronización de estros.

* GTC= Grupo Tratamiento Corto; GTL= Grupo Tratamiento Largo

En el Cuadro 1 se presenta el porcentaje de concepción y de gestación que se obtuvo en cada grupo ($P < 0.05$).

CUADRO 1: Porcentaje de concepción y gestación obtenidos en ovejas Dorper tratadas con dos esquemas diferentes usando CIDR impregnados con progesterona durante 5 días (GTC) y durante 12 días (GTL).

Grupos*	<i>n</i> **	% Concepción	% Gestación
GTC	38	75% (27/36) ^a	71.1%(27/38) ^a
GTL	38	38.7% (12/31) ^b	31.6% (12/38) ^b
Total	76	58.2% (39/67)	51.3% (39/76)

^{a, b} literales diferentes en columnas indican una diferencia significativa ($P < 0.05$).

* GTC = Grupo Tratamiento Corto; GTL = Grupo Tratamiento Largo.

** *n* = número de ovejas tratadas.

Se estimó el porcentaje de no retorno al estro después de la inseminación artificial, en el GTC el porcentaje de no retorno al estro fue significativamente mayor (100%) que en el GTL (61.3%) ($P < 0.05$).

Independientemente del grupo (tratamiento corto o largo), el porcentaje global de concepción de las ovejas inseminadas con un diluyente con lipoproteína de baja densidad (LDL), fue similar al de las ovejas inseminadas con un diluyente con yema de huevo (64.7% vs 51.5%) ($P>0.05$), tampoco varió el porcentaje global de gestación entre ovejas inseminadas con LDL (57.9%) y las que se inseminaron con yema de huevo (44.7%) ($P>0.05$). En el Cuadro 2 se presentan los resultados de fertilidad logrados en cada grupo, al utilizar en el diluyente del semen la LDL o la yema de huevo.

CUADRO 2: Fertilidad obtenida en ovejas tratadas con progesterona e inseminadas con semen fresco diluido con lipoproteínas de baja densidad (LDL) o yema de huevo.

Grupos*	Diluyente	% Concepción	% Gestación
GTC**	Lipoproteína	82.4% (14/ 17)	73.4% (14/19)
	Yema de huevo	68.4% (13/19)	68.4% (13/19)
GTL**	Lipoproteína	47.05% (8/17)	42.1% (8/19)
	Yema de huevo	28.57% (4/14)	21.1% (4/19)
Total	Lipoproteína	64.70% (22/34)	57.9% (22/38)
	Yema de huevo	51.51% (17/33)	44.7% (17/38)

* GTC = Grupo Tratamiento Corto; GTL = Grupo Tratamiento Largo.

** Dentro de grupos (GTC o GTL), no se encontraron diferencias significativas entre los dos tipos de diluyentes empleados (LDL vs yema de huevo) ($P>0.05$).

DISCUSIÓN

Zelege y col. (2005), encontraron que un alto porcentaje (97%) de ovejas Dorper tratadas con progestágenos (MPA o FGA) durante 14 días mostraron celo durante las primeras 96 h después del retiro del tratamiento. En el presente estudio el porcentaje de sincronización de estros logrado en el total de ovejas tratadas, independientemente del tratamiento empleado, fue de 88.2%; lo cual coincide con lo informado por los investigadores del Instituto Nacional de Tecnología Aplicada (INTA), quienes han obtenido grados de sincronización entre 80-95%, usando progestágenos en ovinos de diferentes razas (Cueto y col., 1995). En este estudio el porcentaje de sincronización de estros, fue de 94.7% en el grupo que recibió un tratamiento corto con progesterona (GTC), y del 81.6% para el grupo con un tratamiento largo (GTL); sin que esta diferencia de 13.1% a favor del GTC sea significativa ($P > 0.05$). Al respecto, se han reportado porcentajes que van desde 91.3% a 95.9% de individuos que presentaron estro utilizando un esquema de corta duración, lo cual coincide con los resultados de este estudio (Menchaca y col., 2007^b; Ungerfeld y Rubianes, 2002, respectivamente). De la misma manera, el empleo de algunos análogos de la progesterona por corto tiempo (6 días), como el uso de esponjas con MPA, resultan en un alto porcentaje (92.3%) de ovejas en estro (Ungerfeld y Rubianes, 1999; Rubianes y col., 1998). Esto significa que los esquemas de corta duración (4-6 días) con progestágenos, son tan efectivos para la sincronización del celo en ovejas, como los esquemas largos (9-12 días).

En ambos grupos la distribución de estros después de retirar el tratamiento fue similar (Figura 2); en el GTC el 73.7% de las ovejas manifestaron celo en las primeras 48 h de observación y el 57.9% del GTL en el mismo periodo ($P>0.05$). Menchaca y Rubianes (2004), usando el mismo tratamiento tuvieron una sincronización de estros más homogénea, ya que el 90% de las ovejas manifestaron celo en las primeras 48 h. En este trabajo, a las 72 h de observación se logró un total acumulado de 94.7% en el GTC, lo cual coincide con lo informado por Martemucci y D'Alesandro (2011), quienes emplearon un protocolo de sincronización con FGA por 5 días, aplicando $PGF_2\alpha$ al inicio del tratamiento y eCG al final, obtuvieron 92.3% de estros acumulados a las 70 h.

A pesar de que ambos tratamientos aplicados lograron inducir el estro de manera eficaz, los porcentajes de concepción y de gestación fueron significativamente mayores ($P<0.05$) en las ovejas que recibieron el tratamiento corto con progesterona. Los porcentajes de concepción y de gestación fueron 36.3% y 39.5% más altos en el grupo de ovejas que recibieron el tratamiento corto. En general se ha encontrado que la tasa de concepción al utilizar progesterona natural o sus análogos sintéticos durante 5 a 7 días, varía en el rango de 59.6% a 91% (Ungerfeld y Rubianes, 2002; Raso y col., 2006), mientras que con los tratamientos largos (12 a 15 días) la tasa de concepción oscila entre 62.5% a 71.6% (Raso y col., 2006; Karaca y col., 2009). Al respecto Robinson y col. (1970), demostraron que la tasa de fertilidad en ovejas disminuía entre 9 y 21% después de la aplicación de tratamientos largos con progestágenos.

Estos efectos adversos en la fertilidad, al aplicar tratamientos largos, podrían estar asociados con los niveles hormonales que aportan los mismos. Hamra y col. (1986), señalan que los niveles de progesterona plasmática suelen alcanzar niveles superiores a 2ng/ml durante las primeras 24h de aplicación del CIDR a ovejas, pero estos disminuirán gradualmente a partir del día 4 hasta llegar a valores de 1.4ng/ml para el final del tratamiento (día 13). De igual manera, en cabras se ha demostrado que los niveles de progesterona plasmática después de la inserción del CIDR, alcanzan niveles $\geq 5\text{ng/ml}$ durante los primeros 3 a 4 días, pero después disminuyen, y difícilmente mantendrán concentraciones mayores a 2ng/ml (Rubianes y col., 1998). Es evidente que los tratamientos largos son incapaces de mantener concentraciones constantes de progesterona durante su periodo de aplicación; recientemente, Menchaca y col. (2007^b), demostraron que cabras sometidas a un protocolo corto (5 días) con progesterona (CIDR), alcanzaban concentraciones séricas de progesterona de $4.1 \pm 1.1\text{ng/ml}$ a las 24 h de su aplicación y que posteriormente estas disminuían a $1.8 \pm 1.8\text{ng/ml}$ para el día 5.

Esta variación en los niveles plasmáticos de progesterona ocasiona que el folículo dominante sea expuesto a niveles subóptimos de progesterona (aproximadamente 1ng/ml en la oveja), lo que provoca que su vida media se alargue (Viñoles y col., 1999). Revah y Buttler (1996), demostraron que cuando las vacas se exponen a bajas concentraciones de progesterona su fertilidad disminuye, debido a que la vida media del folículo dominante y del ovocito que alberga se alargaban, provocando que al momento de la ovulación se libere un

“ovocito viejo” de mala calidad. En ovejas, también se conoce que los tratamientos largos con progesterona promueven la persistencia de folículos dominantes, lo que alarga la vida de los ovocitos, afectando gravemente la fertilidad (Johnson y col., 1996; Viñoles y col., 1999; Ungerfeld y Rubianes, 1999; Flynn y col., 2000; Viñoles y col., 2001). Menchaca y col. (2007^a), señalan que los protocolos de corta duración permiten el recambio folicular, ocasionando que aproximadamente el 85% de las hembras, presenten un folículo dominante joven al momento de la ovulación, por lo que la extensión del protocolo no está justificada.

Por otra parte, Diskin y Morris (2008), señalan que cuando las ovejas se inseminan en el momento oportuno su tasa de fertilización es cercana al 100%; si se considera que en el GTC ninguna de las ovejas que se inseminó (n=36) repitió celo alrededor del día 17 y que el porcentaje de concepción a primer servicio fue del 75%, se pudiera inferir que la mortalidad embrionaria tardía (después del día 16-19 pos servicio) en este grupo sería del 25%. Mientras que en el GTL el porcentaje de concepción a primer servicio fue del 38.7%, pero de las 19 ovejas que no gestaron 12 repitieron celo alrededor del día 17, esto podría interpretarse como una mortalidad embrionaria temprana (antes del día 16-19 pos servicio), y quizá podría asociarse a una pobre calidad del ovocito (Córdova-Izquierdo y col., 2008). Revah y Buttler (1996), observaron que los ovocitos que provienen de los folículos que persisten, se caracterizan por presentar una maduración prematura, es decir, que la baja fertilidad observada seguida de la ovulación de este tipo de ovocitos, aparentemente es debido a que ocurre una temprana reanudación de la meiosis en este.

En este estudio, la tasa de concepción y de gestación fue de 51.5% y 44.7% en aquellas ovejas inseminadas con el diluyente a base de leche descremada más yema de huevo, independientemente del grupo al que pertenecían (GTC o GTL). En un estudio previo, se observó un efecto positivo en la fertilidad cuando se añadía yema de huevo al diluyente, como protector de membrana, al respecto Donovan y col. (2004), obtuvieron un 70% de concepción en ovejas inseminadas cervicalmente con semen diluido en leche descremada más yema de huevo, a concentración de 200 millones de espermatozoides.

Tanto la yema de huevo como la leche descremada, aportan principalmente fosfolípidos, que actúan estabilizando las membranas celulares sin que se produzcan cambios aparentes en la composición de las mismas, minimizando así los efectos nocivos de los cambios de temperatura (Graham y Foote, 1987; Parks y Graham, 1992). En años más recientes se ha utilizado únicamente a la lipoproteína de baja densidad (LDL) como parte del diluyente del semen, debido principalmente a su efecto estabilizador y reparador de la membrana espermática, además del incremento en la movilidad de los espermatozoides (Moussa y col., 2002; Moustacas y col., 2011). Probablemente, este efecto contribuyó a que en el presente estudio se obtuviera una mejor fertilidad, ya que hipotéticamente los espermatozoides depositados atravesaron, más eficientemente, la barrera que representaba el cérvix.

Adicionalmente, se conoce que la lipoproteína de alta densidad (HDL), localizada en los folículos y en el fluido del oviducto (Brantmeier y col., 1987; Ehrenwald y col., 1988), facilita la salida de colesterol de la membrana plasmática del espermatozoide, iniciándose la capacitación espermática (Thérien y col., 1997). Por lo tanto, una vez que los espermatozoides han sido depositados en el tracto genital de la hembra, las proteínas seminales contenidas en la superficie espermática contactan con los fosfolípidos de alta densidad presentes en el oviducto, adquiriendo la facultad de secuestrar el colesterol y otros fosfolípidos. Esta pérdida de lípidos, principalmente colesterol, resulta en una alteración de permeabilidad de la membrana espermática, la que permite la entrada de calcio; esto convierte a los fosfolípidos en lisofosfolípidos capaces de desestabilizar membranas y así comenzar con la reacción acrosomal (Ehrenwald y col., 1988). Con base en esta información, es probable que en el presente estudio al diluir el semen con la leche descremada más la LDL, se estabilizaron las membranas espermáticas, se aumentó la movilidad del espermatozoide facilitando su paso a través del cérvix y al mezclarse con las secreciones uterinas, contrarrestaron el efecto de las HDL; favoreciendo de esta manera la fertilidad.

Al respecto, en el presente estudio se obtuvieron porcentajes de concepción y de gestación de 64.7% y 57.9% al utilizar la LDL en el diluyente del semen, esto significa que la tasa de fertilidad fue 13% superior que en aquellas ovejas inseminadas con el diluyente al que se le agregó la yema de huevo, sin embargo esta diferencia no fue significativa. Esto podría indicar que el uso de la LDL en un diluyente a base de leche descremada es igualmente eficaz que el uso de la yema de huevo.

CONCLUSIONES

El uso de un esquema corto de sincronización, por 5 días, con progesterona (CIDR) fue tan efectivo para la sincronización del estro como el esquema de larga duración (12 días).

La tasa de fertilidad alcanzada con el uso de un tratamiento corto (5 días) con progesterona, fue superior que la obtenida con un tratamiento largo (12 días) con progesterona.

Con la adición de lipoproteína de baja densidad (LDL) o yema de huevo al diluyente del semen, se obtiene una tasa de fertilidad similar, después de la inseminación artificial vía cervical.

REFERENCIAS

1. a) Anton M. Composition and structure of hen egg yolk. Capítulo 1. Bioactive Egg Compounds. 2007.
2. b) Anton M. Low-density Lipoproteins (LDL) or Lipovitellenin fraction. Capítulo 2. Bioactive Egg Compounds. 2007.
3. Balcázar A y Porras A. Manual de prácticas en manejo reproductivo de ovinos y caprinos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 2010.
4. Boscos C, Samartzi F, Dellis S, Rogge A, Stefanakis A, Krambovitis E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*. 2002; 58: 1261-1272.
5. Brantmeier S, Grimmer R. Concentrations of high density-lipoproteins vary among follicular sizes in the bovine. *J Dairy Sci*. 1987; 70:2145-2149 (Abstract).
6. Córdova-Izquierdo A, Córdova-Jiménez MS, Córdova-Jiménez CA, Guerra-Liera J. Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. *Reproducción en ovejas y cabras. Rev Vet*. 2008; 19: 67-79.
7. Cavaco-Goncalves S, Marques C, Horta A, Figueroa J. Increased cervical electrical activity during oestrus in progestagen treated ewes: Possible role in sperm transport. *Anim Reprod Sci*. 2006; 93: 360-365.
8. Cueto M, Gibbons A. Manual de inseminación artificial en la especie ovina. Manual de divulgación. Comunicación técnica de producción animal del INTA Bariloche, 1995.

9. Diskin M y Morris D. Embryonic and early fetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Dom Anim.* 2008; 43: 260-267.
10. Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endocrinol.* 2002; 23: 211-228.
11. Donovan A, Hanrahan J, Kummer E, Duffy P, Boland M. Fertility in the following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronized estrus. *Anim Reprod Sci.* 2004; 84: 359-368.
12. Ehrenwald E, Parks J, Foote R. Cholesterol efflux from bovine sperm. I induction of the acrosome reaction with lysophosphatidylcholine after reducing sperm cholesterol. *Gamete Res.* 1988; 20: 145-157.
13. Farfán J, Forero J, Pardo F, Atuesta J, Grajales H. Efecto del tiempo de tratamiento con progestágenos sobre las características del celo sincronizado y su fertilidad en ovinos y caprinos bajo condiciones del trópico de altura Colombiano. *Livestock Research for Rural Development.* 2009: 21.
14. Flynn JD, Duffy P, Boland MP, Evans ACO. Progestagen synchronization in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. *Anim Reprod Sci.* 2000; 62: 285-296.
15. Foulkes J. The separation of lipoproteins from egg yolk and their effect on the motility and integrity of bovine spermatozoa. *J Reprod Fert.* 1977; 49: 277-284.
16. Graham J, Foote R. Effects of several lipids, fatty acid chain length and degree of unsaturation on the motility of bull spermatozoa after cold shock and freezing. *Cryobiology.* 1987; 24: 42-52.

17. Greyling JPC, Van Niekerk CH. Different synchronization techniques in Boer goat does outside the normal breeding season. *Small Rum Res.* 1991; 5: 233-243.
18. Hamra A, Massri Y, Marcek J, Wheaton J. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone-controlled internal drug-release dispensers, implants and sponges. *Anim Reprod Sci.* 1986; 11:187-194.
19. Hawk H y Conley H. Investigation of sperm transport failures in ewes administered synthetic progestagen. *J of Anim Sci.* 1972; 34: 609-613.
20. Hawk H y Echternkamp S. Uterine contractions in the ewe during progestagen-regulated oestrus. *J Reprod Fert.* 1973; 34: 347-349.
21. Johnson S, Dailey R, Inskeep E, Lewis P. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Dom Anim Endocrinol.* 1996; 13: 69-79.
22. Karaca F, Ataman MB, Cayan K. Synchronization of estrus with short- and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. *Small Rum Res.* 2009; 81: 185-188.
23. Manes J, Fiorentino M, Kaiser G, Hozbor F, Alberio R, Sanchez E, Paolicchi F. Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Rum Res.* 2010; 94: 201-204.
24. Martemucci G, D'Alessandro G. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF₂ α , GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Anim Reprod Sci.* 2011; 123: 32-39.

25. Mejía O, Nuñez J, Angulo R, Ortiz A, Flores C. Curso teórico-práctico de congelación de semen en ovinos. Material de consulta. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1995.
26. Menchaca A y Rubianes E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod, Fert and Dev.* 2004; 16: 404-4023.
27. a) Menchaca A, Crispo M, Vilariño M, Rubianes E. Avances en la aplicación de biotecnologías reproductivas en ovinos y caprinos. VII Sinopsio Internacional de Reproducción Animal. Irac, 2007.
28. b) Menchaca A, Miller V, Salveraglio V, Rubianes E. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. *Anim Reprod Sci.* 2007; 102: 76-87.
29. Moussa M, Martinet V, Trimeche A, Tainturier D, Anton M. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology.* 2002; 57: 1695-1706.
30. Moustacas V, Zaffalon F, Lagares M, Loaiza-Eccheverri A, Varago F, Neves M, Heneine L, Arruda R, Henry M. Natural, but not lyophilized, low density lipoproteins were an acceptable alternative to egg yolk for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology.* 2011; 75: 300-307.
31. Parks E, Graham J. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology.* 1992; 38: 209-222.
32. Quinlivan T y Robinson T. Numbers of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen-treated ewes. *J Reprod Fert.* 1969; 19: 73-86.

33. Raso M, Buratovich O, Villa M. Comparación de 4 tratamientos de sincronización de celos en ovinos. *Ganadería, ovinos, reproducción*. 2006.
34. Revah I, Butler R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J of Reprod and Fert*. 1996; 106: 39-47.
35. Robinson T, Moore N, Lindsay D, Fletcher I, Salamon S. Fertility following synchronization of oestrus in the sheep with intravaginal sponges. I) Effects of vaginal douche, supplementary steroids, time of insemination, and numbers and dilution of spermatozoa. *Aust J Agric Res*. 1970; 21: 767-781.
36. Rubianes E, de Castro T, Kmaid S. Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. *Theriogenology*. 1998; 49: 356 (Abstract).
37. Rubianes E, Menchaca A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim Reprod Sci*. 2003; 78:271-287.
38. Spitzer J y Carpenter R. Estrus and pregnancy rates following synchronization with chronolone intravaginal sponge or norgestomet ear implant in cycling ewes. *Theriogenology*. 1981; 16: 287-294.
39. Suárez G, Zunino P, Carol H, Ungerfield R. Changes in the aerobic vaginal bacterial mucos load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrous ewes. *Small Rum Res*. 2006; 63: 39-43.
40. Thérien I, Soubeyrand S, Manjunath P. Major proteins of bovine seminal plasma modulate sperm capacitation by high-density lipoprotein. *Biol Reprod*. 1997; 57: 1080-1088.

41. Ungerfeld R y Rubianes E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rum Res.* 2002; 46: 63-66.
42. Ungerfeld R, Rubianes E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *J Anim Sci.* 1999; 68: 349-353.
43. Viñoles C, Forsberg M, Banchero G, Rubianes E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology.* 2001; 55: 993-1004.
44. Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology.* 1999; 51: 1351-1361.
45. Wheaton J, Carlson K, Windels H, Johnston L. CIDR: a new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Anim Reprod Sci.* 1993; 33: 127-141.
46. Wildeus S. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J Anim Sci.* 2000; 77: 1-14.
47. Zeleke M, Greyling J, Schwalbach L, Muller T, Erasmus J. Effect of progestagen and PMSG on oestrus synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Rum Res.* 2005; 56: 47-53.