

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

“EFICIENCIA EN LA SINCRONIZACIÓN DE ESTROS Y LA FERTILIDAD DE OVEJAS AL APLICAR UN DISPOSITIVO INTERNO DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE PROGESTERONA EN UN PROTOCOLO DE APLICACIÓN LARGO (12 DÍAS) O UNO CORTO (5 DÍAS)”

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA
JOCELYN PALACIOS ESLAVA

Asesores:
MVZ DCV Antonio I. Porras Almeraya
MVZ MPA Juan Alberto Balcázar Sánchez

México, D.F.,

2015



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.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
Localización.....	5
Animales.....	5
Tratamiento.....	5
Toma y procesamiento de muestras.....	6
Estimación de la tasa de retorno al estro y diagnóstico de gestación.....	7
Análisis estadístico.....	7
RESULTADOS.....	9
DISCUSIÓN.....	12
CONCLUSIÓN.....	15
LITERATURA CITADA.....	16

RESUMEN

PALACIOS ESLAVA JOCELYN. Eficiencia en la sincronización de estros y la fertilidad de ovejas al aplicar un dispositivo interno de liberación controlada de progesterona en un protocolo de aplicación largo (12 días) o uno corto (5 días). (bajo la dirección de: MVZ DCV Antonio Ismael Porras Almeraya y MVZ MPA Juan Alberto Balcázar Sánchez).

El objetivo del estudio fue comparar el grado de sincronización del estro y la fertilidad en ovejas al aplicar un dispositivo interno de liberación controlada (CIDR) con 0.3 g de progesterona natural, durante cinco (grupo tratamiento corto, GTC, n=14) o doce días (grupo tratamiento largo, GTL, n=14), además de 7.5 mg de prostaglandina F2 α al inicio y 100UI de gonadotropina coriónica equina al final del tratamiento. Se realizó durante la época reproductiva en el mes de noviembre en el municipio de Tequisquiapan, Querétaro contando con ovejas de las razas dorset, katahdin, suffolk y cruza. La detección de estros inició a las 24h posteriores al finalizar el tratamiento con intervalos de 12h y las ovejas detectadas recibieron monta natural en ese momento y 12h después. Las variables de respuesta fueron porcentajes de: ovejas en estro, retorno al estro, concepción y gestación. El 100% de las ovejas del GTL manifestaron signos de estro en promedio a las 34h posteriores al retiro del dispositivo, en contraste con el 78.6% de las ovejas del GTC a las 83h en promedio ($P<0.05$). El 21.4% de las ovejas del GTL que recibieron monta, retornaron al estro entre 16 y 19 días posteriores del retiro del dispositivo contra el 9.1% de las ovejas en el GTC ($P>0.05$). No se encontraron diferencias estadísticas entre los porcentajes de concepción del GTC (90.9%) y del GTL (78.5%) y los porcentajes de gestación, siendo de 71.4.2% en el GTC y de 78.5% en el GTL ($P>0.05$). Se concluye que la aplicación de un tratamiento corto con progesterona resultó tan efectivo como un tratamiento largo, sin detrimento de la fertilidad.

INTRODUCCIÓN

Es necesario que los sistemas intensivos de producción ovina logren una buena eficiencia reproductiva lo cual puede lograrse manipulando el periodo reproductivo mediante diferentes tratamientos hormonales. Como parte de dicho manejo la sincronización del estro permite reducir el tiempo destinado a su detección y la planificación de los nacimientos; entre otras ventajas el uso de biotecnologías como la inseminación artificial o en los programas de superovulación y transferencia de embriones (Abecia *et al.*, 2012).

Se han desarrollado diversas estrategias para sincronizar el estro y la ovulación; una de ellas consiste en aplicar sustancias luteolíticas para acortar la fase lútea del ciclo estral; la otra alternativa consiste en “alargar” dicha fase proporcionando progesterona o un análogo sintético, de ésta manera se altera la frecuencia de secreción de la hormona luteinizante (LH) y con ello se impide el desarrollo folicular final y la ovulación, hasta el termino del tratamiento. Al cesar el efecto del progestágeno se incrementa la frecuencia de secreción de la LH, lo que permite el crecimiento y maduración folicular final, lo que ocasiona un aumento en los niveles de estradiol los cuales desencadenan el pico preovulatorio de la LH y la ovulación (Abecia *et.al.*, 2012).

Los tratamientos con progestágenos han sido los más utilizados, por ejemplo la aplicación de esponjas intravaginales impregnadas con acetato de

fluorogestona (FGA) o utilizando dispositivos internos de liberación controlada de progesterona (CIDR), (Fierro *et. al.*, 2013).

Es conocido que la aplicación de protocolos de larga duración (9 a 14 días) utilizando progesterona o sus análogos sintéticos resulta en un buen grado de sincronización de estros, pero con baja fertilidad (Abecia *et.al.*, 2012). Este efecto adverso en la fertilidad podría estar asociado con el nivel hormonal que aporta el tratamiento; al respecto Hamra y colaboradores (1986), informaron que en ovejas tratadas con progesterona (CIDR) durante trece días, los niveles de la hormona eran superiores a 2 ng/ml dentro de las primeras 24 horas después de su aplicación, pero a partir del cuarto día de la aplicación estos niveles comenzaban a disminuir gradualmente hasta obtener valores de 1.4 ng/ml al final del tratamiento. Esta variación en los niveles plasmáticos de progesterona podría ocasionar que el folículo dominante sea expuesto a niveles considerados sub-lúteos de progesterona (2ng/ μ l), (Menchaca y Rubianes, 2004), lo que pudiera provocar que la vida media del folículo y del ovocito se alargue en detrimento de la fertilidad (Viñoles *et.al.*, 1999). Menchaca y colaboradores (2007) al realizar un estudio en cabras en época reproductiva administraron un análogo de la PGF 2 α al inicio del tratamiento con progesterona (CIDR) en un protocolo de cinco días (corta duración) y al finalizarlo con 250UI de eCG (Gonadotropina coriónica equina); observaron que ocurría un recambio folicular, ocasionando que un alto porcentaje de hembras presentaran un folículo dominante joven al momento de la ovulación (85%), lo que incrementó la fertilidad de los animales así tratados.

Se conoce que durante la estación reproductiva los tratamientos con progestágenos requieren de la aplicación de sustancias luteolíticas, al inicio o al final del mismo, para lizar los cuerpos lúteos presentes y sensibles a su acción (Menchaca y Miller, 2007). Además se ha propuesto que la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG) al momento del retiro del dispositivo induce un adecuado desarrollo final del folículo, la sincronización del pico de LH y con ello la ovulación (Menchaca y Rubianes, 2004).

El objetivo del presente trabajo fue comparar el grado de sincronización del estro y la fertilidad al aplicar un dispositivo liberador de progesterona durante cinco o doce días, durante la estación reproductiva de las ovejas además de la aplicación de prostaglandina F₂ α al inicio del tratamiento y eCG al finalizarlo.

Material y métodos

Localización

El estudio se llevó a cabo durante el empadre de otoño en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal en Altiplano (CEIEPAA) de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el municipio de Tequisquiapan, Querétaro (latitud norte 20° 36' y altitud 1920 msnm). El clima es BSw (semi-seco estepario, con lluvias en verano), con temperatura promedio de 17.5° C y precipitación pluvial anual promedio de 388.42 mm. (INEGI, 2005)

Animales

Se utilizaron un total de 28 ovejas primaras, con una edad promedio de 1.5 años, de las razas dorset, katahdin, suffolk y cruza (suffolk x katahdin). El estado corporal al inicio del estudio fue de 3 en una escala de 1 a 5 (Gaias, 2011). Contaron con libre acceso al agua y una dieta de mantenimiento con base en forrajes de corte (heno de alfalfa y pasto nativo). El manejo previo al empadre consistió en la desparasitación y la trasquila de la grupa.

Tratamiento

Las ovejas se dividieron en forma aleatoria en dos grupos de catorce hembras cada uno. El primer día, a todas las ovejas se les aplicó 7.5 mg IM de un análogo de la prostaglandina F2 α (Dinoprost¹) más un dispositivo

¹ Lutalyse® Pfizer 5mg/ml

interno de liberación controlada impregnado con 0.3 g de progesterona natural². En uno de los grupos el tratamiento con progesterona se aplicó durante cinco días (grupo con tratamiento corto, GTC), y en el otro el tratamiento se administró durante doce días (grupo con tratamiento largo, GTL). Al momento de retirar el dispositivo cada oveja recibió 100UI IM de gonadotropina coriónica equina³. A partir de las 24 horas posteriores al retiro del dispositivo, los animales se sometieron a un programa de detección de estros, dos veces al día (12h de intervalo) durante nueve días, con machos celadores provistos con mandil, se consideró que una oveja estaba en celo cuando permaneció inmóvil y permitió la monta del macho celador. A las ovejas detectadas en celo se les dio servicio en ese momento y doce horas después con nueve machos asignados y de fertilidad comprobada.

Toma y procesamiento de muestras

De todas las ovejas se tomaron muestras sanguíneas cinco días previos al inicio del tratamiento con la finalidad de conocer si se encontraban ciclando, el segundo muestreo se realizó antes de la aplicación de la prostaglandina y el dispositivo intravaginal. Los muestreos continuaron cada tercer día durante el tratamiento de tal forma que se realizaron seis muestreos para el GTC y 10 muestreos para el GTL de cada oveja. Fueron obtenidos mediante punción de la vena yugular utilizando tubos colectores heparinizados que se mantuvieron

² CIDR®.-Pfizer

³ eCG- Folligón® Intervet).

en refrigeración (4°C) hasta el momento de su centrifugación (3500 rpm durante 10 min), realizada dentro de la primera hora después de obtenida la muestra.

El plasma fue separado y mantenido en congelación (-20° C) hasta su posterior análisis. Para determinar los niveles plasmáticos de progesterona las muestras se procesaron por radioinmunoanálisis en fase sólida utilizando un kit comercial⁴ el cual tuvo una sensibilidad de 0.02 ng/ml y coeficientes de variación intra e inter-ensayo de 8.8% y 9.7% respectivamente. En ambos grupos de ovejas se obtuvieron muestras de sangre a los dieciocho días posteriores al retiro del tratamiento con la finalidad de identificar a las hembras que repitieron el celo. De esta manera se obtuvieron seis muestras de sangre de cada oveja con tratamiento corto y diez muestras de cada oveja del tratamiento largo.

Estimación de la tasa de retorno al estro y diagnóstico de gestación

El programa de detección de celos se siguió aplicando a todas las ovejas tratadas, para estimar la tasa de retorno al estro. Para llevar a cabo el diagnóstico de gestación se realizó un examen ultrasonográfico modo B

⁴(Coat-A-Count.® Siemens)

imagen de tiempo real (por vía rectal) con un transductor lineal de 7.5 MHz (Aloka 500) cincuenta días después del servicio.

Análisis de los resultados

En el presente estudio se midieron las siguientes variables de respuesta en cada grupo:

- Porcentaje de ovejas en estro: número de ovejas detectadas en estro después del retiro del dispositivo del total de ovejas tratadas por cien.
- Porcentaje de retorno al estro: número de ovejas que mostraron signos de estro alrededor de los 16 a 19 días después del servicio, del total de ovejas servidas por cien.
- Porcentaje de concepción: número de ovejas diagnosticadas gestantes entre el número total de ovejas servidas por cien.
- Porcentaje de gestación: número de ovejas diagnosticadas gestantes entre el número total de ovejas tratadas por cien.

Se realizó una prueba para la diferencia de proporciones utilizando la distribución de t-student, para comparar entre grupos el porcentaje de ovejas en estro, retorno al estro, concepción y gestación así como los niveles de progesterona entre los muestreos (Daniel, 1979).

Resultados

El 100% (14/14) de las ovejas del GTL mostraron signos de estro dentro del tiempo de observación que inició a las 24 horas posteriores al retiro del CIDR, en contraste, sólo el 78.6% (11/14) de las hembras del GTC manifestaron celo en un periodo de 24 a 180 horas después de retirar el dispositivo, esta diferencia entre grupos (21.4%) es estadísticamente significativa ($P<0.05$).

Sólo una de las once ovejas (9.1%) que recibieron monta del GTC, mostró nuevamente estro entre los 16 y 19 días posteriores al primer servicio, mientras que en el GTL tres de las catorce ovejas (21.4%) retornaron a estro en el mismo periodo de tiempo sin ser dicha diferencia estadísticamente significativa.

La duración del tratamiento con progesterona no afectó la fertilidad, ya que no se encontraron diferencias estadísticas entre los porcentajes de concepción a primer servicio; siendo en el GTC el 90.9% (10/11) y en el GTL de 78.6% (11/14) ($P>0.05$). Al haber un menor número de ovejas en celo en el GTC disminuyó su porcentaje de gestación a 71.4% (10/14) pero sin que hubiese diferencia significativa con el 78.5% (11/14) logrado en el GTL ($P>0.05$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentajes de ovejas detectadas en estro, ovejas que retornaron al estro, concepción y gestación de los grupos de tratamiento corto y largo con progesterona (5 o 12 días), 7.5mg PGF2 α al inicio y 100 UI de eCG al final del tratamiento.

Grupo	n*	% Ovejas en estro	% Retorno al estro	% Concepción	% Gestación
GTC	14	78.6% ^a (11/14)	9.1% ^a (1/11)	90.9% ^a (10/11)	71.4% ^a (10/14)
GTL	14	100% ^b (14/14)	21.4% ^a (3/14)	78.6% ^a (11/14)	78.6% ^a (11/14)

^{a, b} literales diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

GTC: Grupo de Tratamiento Corto; GTL: Grupo de Tratamiento Largo

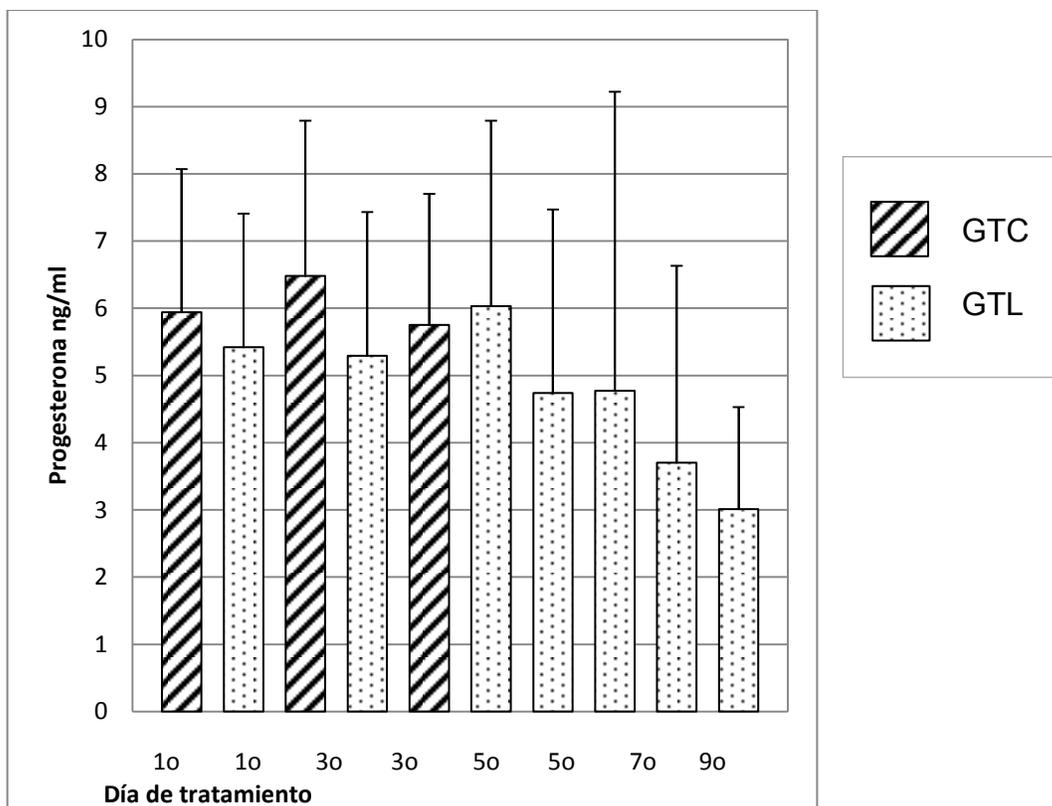
*n: número de ovejas tratadas

**Manifestación de estro en un periodo de 24 a 180 h.

El índice de prolificidad obtenido para el GTL fue de 1.64 (18 corderos de 11 ovejas gestantes) mientras que para el GTC se obtuvo 1.5 (15 corderos de 10 ovejas gestantes).

Entre grupos, no se observaron diferencias estadísticas en los niveles de progesterona (ng/ml) durante los primeros cinco días del tratamiento [GTC: 5.94 \pm 2.13 al 1er día; 6.48 \pm 2.31 3er día y 5.75 \pm 1.95 al 5º día. En el GTL: 5.42 \pm 1.99 1er día; 5.29 \pm 2.14 3er día y 6.03 \pm 2.76 para el 5º día]. En el GTL los niveles promedio de progesterona, después del quinto día, disminuyeron de manera paulatina (GTL: 4.74 \pm 2.73 al 7º día; 4.77 \pm 4.45 al 9º día; 3.7 \pm 2.93 al 11º día y 3.01 \pm 1.52 el 12º día) (Figura 1).

Figura 1. Niveles plasmáticos de progesterona durante la aplicación de un dispositivo interno de liberación controlada de progesterona por cinco (GTC) o doce días (GTL)



Discusión

Durante la estación reproductiva los tratamientos para regular la actividad reproductiva con progestágenos requieren de la aplicación de sustancias luteolíticas ya sea que se apliquen al inicio o al final del mismo, para ocasionar la lisis de los cuerpos lúteos presentes (Menchaca *et.al.*, 2007). En el presente trabajo se decidió aplicar la prostaglandina al inicio del tratamiento con la finalidad de lisar cualquier cuerpo lúteo que estuviera presente y de esta manera monitorear únicamente los niveles de progesterona liberados por el dispositivo intravaginal a lo largo de ambos tratamientos.

Es posible que la menor proporción de ovejas que presentaron estro sincronizado en el GTC se deba a que algunos animales recibieron la prostaglandina en un momento temprano de su ciclo estral, y no contaban aún con un cuerpo lúteo o éste era inmaduro e insensible a la acción de la prostaglandina (Fierro *et al* 2013); lo que se ve reflejado en los niveles detectados de progesterona plasmática. En consecuencia, la manifestación del celo en el GTC ocurrió tardíamente (dentro de 24 a 180h) y de manera dispersa al terminar el tratamiento con la progesterona. Ocasionando que el periodo destinado a la detección de celos se ampliara. Fierro y colaboradores (2013) refieren que el cuerpo lúteo de la oveja que se forma después de la ovulación es refractario a la acción de la prostaglandina F2 α durante los dos primeros días del ciclo estral. Su sensibilidad puede asociarse a factores individuales como la duración del ciclo estral formándose con mayor rapidez en las ovejas

cuyo ciclo estral es más corto, además de la madurez fisiológica del cuerpo lúteo (Pope y Cárdenas, 2004).

En consecuencia es recomendable que la sustancia luteolítica se aplique al finalizar el tratamiento para evitar que las ovejas que están en la etapa temprana de su ciclo estral tengan un cuerpo lúteo inmaduro e incapaz de responder a dichas sustancias, y de ésta manera la manifestación del celo sea en un periodo corto al retiro del progestágeno, esto permite una mejor planeación durante el empadre o cuando se aplican otras técnicas reproductivas como la inseminación artificial.

Existen estudios donde se ha encontrado un efecto positivo en la fertilidad al aplicar tratamientos cortos con progestágenos; Ungerfeld y Rubianes (1999) al trabajar con un grupo de sesenta y seis ovejas en el final de la época no reproductiva para al inducir el estro, encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en los porcentajes de concepción (54.5% contra 31.3%) y de gestación (51.1% contra 27.8%) con un tratamiento corto (seis días) o largo (once días) usando progesterona y empleando monta natural. Ellos señalan que los efectos adversos en la fertilidad al aplicar un tratamiento largo, podrían explicarse en función de los niveles de progesterona alcanzados durante el tratamiento, ya que la liberación de progesterona por parte del dispositivo no es constante, lo que estaría asociado a anormalidades durante el desarrollo folicular y la calidad del ovocito en detrimento de la fertilidad.

Los niveles plasmáticos de progesterona fueron similares entre los grupos durante los primeros cinco días de aplicación, posteriormente estos fueron disminuyendo en las ovejas del GTL, pero se mantuvieron por arriba de los 3 ng/ml hasta el momento de su retiro. Quizá esto permitió que no se encontraran diferencias significativas entre los porcentajes de gestación y concepción del GTC contra el GTL; a pesar de que el porcentaje de concepción del GTC fue 12.4% mayor que el del GTL, a diferencia de otros trabajos (Ungerfeld y Rubianes 1999; Martemucci y D'Alessandro 2011) donde los tratamientos largos con progesterona tienen un efecto adverso en la fertilidad.

Ungerfeld y Rubianes (1999) reportan que la tasa de crecimiento durante la maduración final del folículo preovulatorio promovida por la administración de eCG no se ve afectada con la duración del tratamiento previo con progesterona; esto puede verse reflejado en que los índices de prolificidad fueron similares (GTC: 1.5 y GTL: 1.63) en ambos grupos de tratamiento.

El uso de tratamientos cortos con progesterona permite que los dispositivos de su aplicación puedan ser utilizados por segunda vez sin existir diferencias entre tasas de gestación y la sincronización del estro frente a dispositivos nuevos, contribuyendo a un menor costo en protocolos de sincronización y de ésta manera ser más accesibles ante los productores. (Souza, 2011)

Conclusión

El uso de un protocolo de corta duración (5 días) con un dispositivo intravaginal de progesterona combinado con PGF2 α y eCG resultó igual de efectivo en porcentajes de no retorno al estro, concepción y gestación así como el índice de prolificidad, que un protocolo tradicional de larga duración (12 días).

Literatura citada

Abecia JA, Forcada F, González-Bulnes A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 2012; 130: 173-179.

Daniel WW, *Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud*. Limusa. 1979 México

Fierro S, Gil J, Viñoles C, Olivera-Muzante J. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology* 2013; 79: 399-408.

Gaias G. Body condition score and body composition of Sarda dairy ewes. Universidad de Sassari. Dirección de Ciencia Animal y Tecnología Ciclo XXIV. 2011, Italia.

Hamra A, Massri Y, Marcek J, Wheaton J. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone-controlled internal drug-release dispensers, implants and sponges. *Animal Reproduction Science*. 1986; 11:187-194.

Martemucci G, D'Alessandro A.G. Synchronization of oestrus and ovulation by short timed combined FGA, PGF 2α , GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal Reproduction Science*. 2011; 123: 32-39.

Menchaca A, Miller V. Endocrine luteal and follicular responses after the use of short-term protocol to synchronize ovulation in goats. *Animal Reproduction Science*. 2007; 102: 76-87.

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. *Animal Reproduction Science*, 2007, 102, 76-87.

Menchaca A, Rubianes E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, 2004, 16, 403-413.

Pope W.F., Cárdenas H., Sensivity of sheep to exogenous prostaglandin F₂ α early in the estrous cycle. *Small Ruminant Research*. 2004; 55: 245-248.

Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Tequisquiapan, Querétaro, INEGI, Marco Geoestadístico Municipal, 2005 versión 3.1 disponible en <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/22/22017.pdf>

Souza J.M.G., Torres C.A.A., Maia A.L.R.S., Brandão F.Z., Bruschi J.H., Viana J.H.M., E.Oba, Fonseca J.F. Autoclaved, previously used intravaginal progesterone devices induces estrus and ovulation in anestrous Toggenburg goats. *Animal Reproduction Science*. 2011; 29: 50– 55

Ungerfeld R, Rubianes E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Journal of Animal Science*. 1999, 68, 349-353.

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.