

**D. Cervera, G. Vargas, L. Navarrete, A. Aguiar, S. Erosa,
A. Domínguez y J. Ramón**

**EFFECTO DE UN TRATAMIENTO CON GNRH EN EL DIESTRO EN OVEJAS
DE PELO RECEPTORAS DE EMBRIONES**

Separata ITEA

INFORMACIÓN TÉCNICA ECONÓMICA AGRARIA, VOL. **107** N.º 1 (59-63), 2011

Nota técnica

Efecto de un tratamiento con GnRH en el diestro en ovejas de pelo receptoras de embriones

D. Cervera, G. Vargas, L. Navarrete, A. Aguiar, S. Erosa, A. Domínguez y J. Ramón*

Centro de Selección y Reproducción Ovina. División de Estudios de Posgrado e Investigación. Instituto Tecnológico de Conkal. Antigua Carretera Mérida-Motul km 16.3, 97345 Conkal, Yucatán. México

Resumen

Se estudio el efecto de un tratamiento con GnRH en el diestro en ovejas de pelo receptoras de embriones. Se utilizaron 10 ovejas donantes de la raza Katahdín y 30 ovejas receptoras de la raza Black Belly, adultas, multíparas y secas. La inducción y sincronización al estro se realizó mediante la inserción de una esponja vaginal con FGA durante 14 días. Las donantes recibieron un tratamiento de estímulo superovulatorio con 20 mg de FSHp en dosis decrecientes (4, 4, 3, 3, 2, 2, 1 y 1 mg) a intervalos de 12 horas, coincidiendo la retirada de la esponja con la 7° aplicación. Las esponjas se retiraron al mismo tiempo en donantes y receptoras (día 0). En el grupo de las receptoras, se aplicaron 200 UI de eCG a la retirada de la esponja. A las 36 horas del día 0, las donantes recibieron una dosis de 100 µg de GnRH intramuscular. La detección de los celos se realizó mediante machos vasectomizados a partir de las 20 hrs del día 0, a intervalos de 4 hrs. A las 56 horas del día 0 las hembras donantes se inseminaron por vía intrauterina con semen fresco (100 x 10⁶ ezp/dosis). La recuperación embrionaria se realizó a los 7 días de la retirada de las esponjas. Los embriones recuperados fueron evaluados por morfología procediendo a transferir por endoscopia dos embriones en estado de blastocisto por oveja, ipsilateral al cuerpo lúteo. Al momento de la transferencia, el tratamiento A (TA: n = 15), recibió una dosis de 100 µg de GnRH, mientras que el tratamiento T (TT: n = 15) recibió una dosis de agua destilada. El grupo de donantes dio como respuesta media 11,4 cuerpos lúteos (CL)/oveja tratada, con una tasa de recuperación del 85% y una tasa de viabilidad embrionaria del 76%. La hora de salida en celo promedio fue de 25,6 ± 0,6, 25,8 ± 0,6 y 26,4 ± 0,6 para donantes, TA y TT, respectivamente. La fertilidad promedio obtenida en ovejas receptoras de embriones del TA (80%), resultó más alta (p < 0.05) respecto al obtenido en el TT (46%), no así la prolificidad que resulto similar (165%). En conclusión, la aplicación de GnRH en el diestro en ovejas receptoras de embriones permite un incremento en la fertilidad sin afectar la prolificidad.

Palabras clave: ovejas Kathadin, Black belly, transferencia de embriones.

Summary

Effect of a diestrous GnRH treatment in embryo recipient hair ewes

The effect of a diestrous GnRH treatment on fertility and prolificacy of embryo recipient hair ewes was studied using 10 Kathadin donors and 30 Black Belly recipients. All ewes were adult, dry and multiparous. Induction and synchronization of oestrus were carried out by FGA sponges during 14 days. Sponges were withdrawn at the same time in donor and recipient ewes. Superovulatory treatment was

* Autor para correspondencia: E-mail: julio.ramon@itconkal.edu.mx

carried out with 20 mg of pFSH in decreasing doses (4, 4, 3, 3, 2, 2, 1 and 1 mg) at 12-h intervals, the sponge withdrawal coinciding with the 7th dose. In recipients, 200 IU of eCG were applied at sponge withdrawal. Donors received a 100 µg intramuscular dose of decapeptid GnRH 36 h after sponge withdrawal. Oestrus detection was realised by vasectomised rams from 20 h after sponge withdrawal, at intervals of 4 h. Donors were intrauterine inseminated with fresh semen 56 h after sponge withdrawal (100 x 10⁶ spz/dose). Embryo recovery was realised 7 days after sponge removal. All embryos were morphologically evaluated and blastocysts were transferred in pairs to the uterine horn ipsilateral to an ovulated ovary by laparoscopy. At transfer, treatment group (n = 15), received 100 µg of decapeptid GnRH, whereas control group (n = 15) received a distilled water dose. The mean donors response was 11.4 corpora lutea (CL)/ewe, with a recovery rate of 85% and an embryo viability rate of 76%. The beginning of oestrous in donors, and in treated and control recipients were 25.6 ± 0.6, 25.8 ± 0.6 and 26.4 ± 0.6 h, respectively (mean ± SEM). Fertility was higher in GnRH-treated than in controls (80 vs. 46%; P < 0.05). Prolificacy was similar in both groups (165%). In conclusion, the application of GnRH in embryo recipient ewes at transfer increases fertility without affecting prolificacy.

Key words: Kathadin ewes, Black belly ewes, embryo transfer.

Introducción

La ovulación múltiple y la transferencia de embriones (OMTE) es una técnica que permite obtener de una donante un número alto de embriones para ser transferidos a otras hembras receptoras. Sin embargo, aunque a los protocolos de estímulo superovulatorio se han incorporado algunas hormonas tales como la GnRH (Hormona liberadora de gonadotropinas), que permite inducir, sincronizar la ovulación (Karsh *et al.*, 1992), mejorar la fertilización (Walker *et al.*, 1986) y el desarrollo embrionario (Ramón *et al.*, 2004), esto no es garantía de que se pueda llevar a término la gestación, siendo la mortalidad embrionaria un factor limitante importante para lograr gestaciones a término (Ramón, 1997). Principalmente, las pérdidas por mortalidad embrionaria son debidas a disfunciones hormonales en el diestro o un retraso de las señales de reconocimiento materno de la gestación emitidas por el embrión (Thatcher *et al.*, 1989), por tanto, resulta necesario desarrollar nuevos métodos que aumenten supervivencia embrionaria. El objetivo del presente estudio fue medir el efecto de un tratamiento con GnRH en el diestro en ovejeras de pelo receptoras de embriones.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en otoño (15 de Octubre de 2009) en el Centro de Selección y Reproducción Ovina (CeSyRO) del Instituto Tecnológico de Conkal, ubicado en el municipio de Conkal al noreste del Estado de Yucatán (20°59' latitud Norte y 89°39' longitud oeste) con un clima de tipo Aw0 (García, 1987).

Se utilizaron 10 ovejeras donantes de la raza Katahdín y 30 ovejeras receptoras de la raza Black Belly, todas ellas adultas, múltiparas, secas y una condición corporal promedio de 3.3 (Russel *et al.*, 1969). La sincronización se realizó mediante la inserción de una esponja vaginal impregnada con 20 mg de Acetato de Fluorogestona micronizada (FGA; Cronogest®, Intervet) durante 14 días. Las donantes recibieron un tratamiento superovulatorio con 20 mg de hormona foliculo estimulante porcina (FSHp; Foltropin®, Bioniche) en dosis decrecientes (4, 4, 3, 3, 2, 2, 1 y 1 mg) a intervalos de 12 horas durante los 4 últimos días. El retiro de la esponja en ambos grupos coincidió con la 7^ª aplicación de FSHp, en las receptoras se aplicó una dosis de 200 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG: Folligon®, Intervet). A las 36

horas de la retirada de las esponjas las donantes recibieron una dosis intramuscular de 100 µg de GnRH decapéptida (Fertagyl®, Intervet) para inducir y sincronizar la ovulación. A partir de las 20 horas de la retirada de las esponjas, mediante machos vasectomizados se detectaron los celos a intervalos de 4 horas. Las ovejas donantes se inseminaron intrauterinamente con semen fresco colectado de un macho Katahdin de fertilidad probada, a una dosis de 100×10^6 espermatozoides por oveja a las 56 ± 1 h de la retirada de las esponjas. El semen fue diluido (1:1:3) con un diluyente comercial (Triladyl®) al que se le adiciono un 20% de yema de huevo y agua tridestilada. A los 7 días de la retirada de las esponjas se midieron por endoscopia los cuerpos lúteos (CL). El cuerno que presentó menos de tres CL o CL en regresión no fue lavado. La recuperación de los embriones se realizó mediante la técnica descrita por Ramón et al. (1991). Los embriones fueron calificados de acuerdo al criterio de Witenberger-Torres y Sevellec (1987). Sesenta embriones viables (2/oveja) calidad 1 en estado de blastocisto

fueron transferidos por endoscopia en el cuerno ipsilateral a la ovulación. La mitad de ellas (TA: n = 15) recibieron al momento de la transferencia una dosis de 100 µg de GnRH Decapéptida. El resto de las ovejas (Testigo: TT) recibieron una dosis de agua destilada. Los resultados de fertilidad y prolificidad se analizaron al parto mediante el test de X^2 con Statistix 8.0 (Analytical Software. 2003).

Resultados

No se observaron diferencias entre tratamientos respecto a la hora de inicio del estro.

La respuesta al tratamiento con FSHp + GnRH en donantes fue de 11,4 CL/oveja tratada, con una tasa de recuperación del 85% y una tasa de viabilidad embrionaria del 76% (Tabla I). La fertilidad obtenida en ovejas receptoras de embriones tratadas con GnRH en el diestro resultó más alta ($p < 0.05$) que las no tratadas (Tabla II), no así la prolificidad que fue similar.

Tabla 1. Respuesta superovulatoria de ovejas Katahdin tratadas con FSHp + GnRH.
Table 1. Superovulatory response of Kathadin ewes treated with pFSH + GnRH.

	h/celo ($\bar{x} \pm E.S.$)	No.*	CL	CLC*	ER	EV
Donantes	25,6 \pm 0,6	12	137	114	97	74

h/celo: hora de salida en celo; CL: Cuerpos Lúteos; CLC: CL Considerados (solo cuernos lavados); ER: Embriones Recuperados; EV: Embriones Viables; * Se lavaron solo 10.

Tabla 2. Fertilidad y Prolificidad de ovejas de pelo receptoras de embriones tratadas con GnRH en el diestro (TA) vs Testigo (TT)
Table 2. Fertility and prolificacy in recipients treated with Diestrous GnRH (TA) vs no treated (TT)

Tratamientos	h/celo ($\bar{x} \pm E.S.$)	No.	Fertilidad (%)	Prolificidad (%)
TA	25,8 \pm 0,6	15	80 ^a	170 ^a
TT	26,4 \pm 0,6	15	46 ^b	160 ^a

a, b: ($P < 0,05$).

Discusión

Los resultados en CLs y ER son similares a los obtenidos a través de este mismo protocolo en ovejas pelibuey (Ramón *et al.*, 2004), no así en el número de EV que resultó superior en un 24%, probablemente debido a una mejor acción de la GnRH en la sincronización de la ovulación en ovejas más pesadas (Thatcher *et al.*, 1989) tal y como son las ovejas de la raza Kathadin del presente estudio. En este sentido, Okada *et al.* (2001) reportan un efecto detrimental de la GnRH sobre la actividad ovárica, sugiriendo que el momento de su aplicación afecta la tasa de ovulación y recuperación de los embriones. Este resultado no fue observado en el grupo de donantes, dado que la aplicación de GnRH se realizó a tiempo fijo (36 h de la retirada de las esponjas), mientras que el grupo antes mencionado lo aplicó de forma independiente a cada una de las ovejas al detectar su inicio del estro.

La alta fertilidad observada en el TA sin reconocer diferencias en prolificidad, podría atribuirse a que es conocido que la GnRH prolonga la vida media del cuerpo lúteo mediante la luteinización de folículos que deberían normalmente causar luteólisis y/o inducir un CL accesorio (Thatcher *et al.*, 1989; Taponen *et al.*, 2003) de ahí que la sobrevivencia embrionaria podría ser mejorada por el incremento de la vida media del CL permitiendo al "conceptus" estar sujeto a un mejor ambiente uterino durante más tiempo y así estar en posibilidades de secretar oportunamente la señal embrionaria que es necesaria para establecer la gestación, mejorando así la fertilidad (McMillan *et al.*, 1986).

Conclusión

La aplicación de GnRH en el diestro en ovejas receptoras de embriones permite un incremento en la fertilidad sin afectar la prolificidad.

Agradecimientos

Los autores agradecen a CONACYT - FOMIX proyecto 107996, por el financiamiento otorgado.

Bibliografía

- Analytical Software. 2003. Statistix. 8 for Windows. Tallahassee FL.
- García E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Copen. Instituto de Geografía. UNAM. Pp. 238.
- Russel AJF, Doney JM and Gun RG. 1969. Subjective assesment of body fat in live sheep. J. Agric. Sci., Camb. 72: 451-454.
- Karsh FJ, Moenter SN and Caraty A. 1992 The proovulatory surge of gonadotropin releasing hormone. In: Modes of action of GnRH and GnRH analogs. Serono Symposia USA. 241 p.
- McMillan KM, Taufa VK and Day AM. 1986. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) in cattle. III Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. Anim. Reprod. Sci. 11:1-10.
- Okada A, Andoh T, Mizuochi Y, Yoshii K, Ishida N and Fukui Y. 2001. Effects of Dosage and Treatment Phase of Two GnRH Analogues at the Estrous Stage on Superovulation in Ewes. J. Reprod. Dev. 47: 275-281.
- Ramón JP. 1997. Factores de mortalidad embrionaria en ovejas. Agrociencia. 31 (1): 113-120.
- Ramón JP, Folch J, Fernández-Arias A, Cocero MJ y Echegoyen E. 1991. La técnica de transferencia de embriones en el ganado ovino, ITEA. Vol Extra 11(1): 61-63.
- Ramón JP, Molina L, Cruz A, Navarrete L, Aguiar A, Erosa S, Ortíz J y Gonzalez E. 2004. Effect of a treatment with GnRH on the embryonic viability in superovulated hair ewes. In: 15 ICAR. Porto Seguro, Brazil.
- Taponen J, Hjerpe P, Kopra E, Rodríguez-Martínez H, Katila T and Kindahl H. 2003. Prematu-

- re prostaglandina F2 α secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. *Theriogenology*. 60 (2): 379-393.
- Thatcher WW, McMillan KL Hansen PJ and Drost M. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*, 31:149-164.
- Walker SK, Smith DH and Seamark RF. 1986. Timing of multiple ovulations in the ewe after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. *J. Reprod. and Fertil.* 77: 135-142.
- Witenberger-Torres S and Sevellec C. 1987. Atlas du developpement embryonnaire precoce chez les ovins. INRA, Publ. 51 p.
- (Aceptado para publicación el 20 de diciembre de 2010)