

## EFFECTO DE LA eCG EN LA SUPEROVULACIÓN DE OVEJAS CON DOSIS DECRECIENTES DE FSH OVINA

Olivera, J.M.; Alabart, J.L.; Alcaide<sup>1</sup>, V.; Arrese<sup>2</sup>, F.; Beltrán De Heredia<sup>2</sup>, I.; Cocero<sup>3</sup>, M.J.; Fuentes<sup>4</sup>, S.; García-Cervigón<sup>1</sup>, M.; Manso<sup>1</sup>, A.; Mintegi<sup>2</sup>, L.; Roche, A.; Folch, J.

Unidad de Tecn. en Prod. Animal SIA-DGA Apdo 727, 50080 Zaragoza.

<sup>1</sup> CERSYRA. Avda. del Vino 6, 13300 Valdepeñas.

<sup>2</sup> NEIKER, <sup>2</sup>ARDIEKIN, S.L. Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46, 01080 Vitoria.

<sup>3</sup> Área Reprod. Animal. CIT/INIA. Ctra de La Coruña, Km 5,900, 8111 Madrid.

<sup>4</sup> Aberekin, S.A., Barrio de Arteaga, 25, 48106 Derio (Bizkaia)

### INTRODUCCIÓN

El protocolo de administración de gonadotropinas en la superovulación de donantes es un factor importante en el resultado final de programas de transferencia de embriones en ganado ovino.

Estudios previos a nivel nacional han comparado la respuesta superovulatoria y el número de embriones viables tras la administración de ocho dosis iguales de FSH ovina (oFSH), u ocho dosis de contenido decreciente (Cocero et al., 1999). Este ensayo mostró una respuesta favorable, aunque no significativa (NS), al tratamiento con dosis decrecientes de oFSH.

Vivanco, W.H. (2000), encontró sobre un gran número de ovejas, mejores resultados asociando eCG al final de un tratamiento decreciente de FSH porcina (pFSH), en comparación con su inclusión al inicio del mismo. Con el fin de comprobar si el primer efecto se obtendría también utilizando oFSH, se comparó la administración de ocho dosis iguales de oFSH, con ocho dosis de contenido decreciente añadiendo eCG (200 UI) a la 6ª dosis (Folch et al., 2000). Este ensayo reveló una respuesta superovulatoria más homogénea y 1.64 embriones transferibles adicionales (NS), con el tratamiento de oFSH decreciente añadiendo eCG. Sin embargo en este trabajo no se pudo concluir si el efecto se debió al tratamiento decreciente con oFSH o a la inclusión de eCG

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el tratamiento de oFSH decreciente, añadiendo ó no eCG en la 6ª dosis, en tres localidades y razas diferentes.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó un total de 26 ovejas adultas y secas en tres ensayos iguales, realizados en la misma época del año (Otoño del 2000): ensayo "Vitoria" raza Lacha (n=8); ensayo "Valdepeñas" raza Manchega (n=8) y ensayo "Zaragoza" raza Rasa Aragonesa (n=10).

Las donantes fueron sincronizadas con esponjas de 40 mg de FGA (Intervet, SA) mantenidas durante 13-14 días. Las esponjas se cambiaron a los 7 días. La superovulación se realizó aplicando 8.8 mg (dosis total) de oFSH (NIADDK-oFSH-17, Ovagen™, Laboratorios ICP) en dosis decrecientes (1.32 x 2; 1.1 x 4, y 0.88 x 2 mg) a intervalos de 12 horas, desde 60 h antes hasta 24 h después de retirar el progestágeno (6ª inyección). A la mitad de las ovejas de cada ensayo se les aplicó 200 UI de eCG (Foligón, Intervet SA) a la retirada de la esponja (n=13, Grupo eCG). El resto de las ovejas no recibieron la eCG (n=13, Grupo no eCG). Al momento de la

primera inyección se aplicó en todos los animales Cloprostenol (0.4 ml de Estrumate™, Schering-Plough, S.A).

Las donantes fueron inseminadas por vía intrauterina con 100 millones de espermatozoides por cuerno uterino, entre 50 y 55 h después de retirar las esponjas. Los embriones fueron recuperados por el mismo técnico en las tres experiencias al 8º día de retirar la esponja, siguiendo el método descrito previamente (Ramón et al., 1991). Los embriones obtenidos fueron evaluados y calificados según su viabilidad.

El análisis estadístico realizado evaluó, mediante análisis de varianza (GLM Procedures, SAS), el efecto del protocolo utilizado (oFSH decreciente con ó sin eCG), del ensayo ("Vitoria", "Valdepeñas", "Zaragoza"), y la interacción protocolo-ensayo sobre: el número de folículos (FOL), cuerpos lúteos no ovulados (cuerpos lúteos sin fosa de ovulación o folículos luteinizados), cuerpos lúteos regresados (CL Regr.), cuerpos lúteos normales (CL), estructuras embrionarias (embriones y no fertilizados; ESTR.), no fertilizados (No Fert), embriones totales (E), embriones viables (EV) por oveja. Se evaluó también el porcentaje de recuperación (ESTR./CL\*100; % REC), de embriones viables (EV/E\*100) y de donantes sin embriones (%D s/E) por protocolo. Los porcentajes fueron comparados por el test de chi-cuadrado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó interacción entre protocolo y ensayo ( $p>0.05$ ).

Se observó un efecto ensayo en la variable número de cuerpos lúteos ( $18.8\pm 10.1$  vs.  $7.4\pm 6.9$ ; ensayos "Vitoria" y "Valdepeñas", respectivamente;  $p<0.05$ ). Esto podría atribuirse a un efecto raza, manejo, etc., en estas dos localidades.

Con respecto al efecto del protocolo, se observaron diferencias entre los grupos en número de folículos, cuerpos lúteos y estructuras embrionarias, sin alcanzar el nivel de significación ( $0.05<p<0.10$ ) (Tabla 1). El porcentaje de recuperación fue menor en el Grupo eCG ( $p<0.001$ ). Los porcentajes de recuperación entre ensayos no fueron diferentes (62, 69 y 67%; ensayos "Vitoria", "Valdepeñas" y "Zaragoza", respectivamente;  $p>0.05$ ). Por tanto, la diferencia encontrada entre los protocolos podría deberse al hecho de que algunos cuerpos lúteos considerados como normales en el Grupo eCG fueran realmente folículos luteinizados por la acción de la eCG. Esto disminuiría el porcentaje real de recuperación de ese protocolo. En este grupo hubo una oveja con 14 cuerpos lúteos no ovulados (ensayo Valdepeñas) y 3 ovejas con cuerpos lúteos regresados (2 en Valdepeñas y 1 en Zaragoza). El porcentaje de embriones viables fue similar entre protocolos (77.4 y 77.6%; Grupo eCG y Grupo no eCG, respectivamente;  $p>0.05$ ). El porcentaje de donantes sin embriones fue mayor en el Grupo eCG (30.8 vs. 15.4%), pero no significativo ( $p>0.05$ ).

Tabla 1. Respuesta superovulatoria a la estimulación ovárica con oFSH decreciente con ( $n=13$ ) y sin eCG ( $n=13$ ) (medias  $\pm$  e.e/oveja, y porcentajes/Protocolo)

GRUPO	FOL	CL Regr	CL	ESTR	% REC	No Fert	E	E V	%D s/E
Con eCG	0.5 $\pm$ 0.7	1.0 $\pm$ 2.5	10.5 $\pm$ 7.8	6.1 $\pm$ 3.9	49.2	0.5 $\pm$ 0.7	5.6 $\pm$ 4.2	4.4 $\pm$ 3.6	30.8
Sin eCG	0.1 $\pm$ 0.3	0.0 $\pm$ 0.0	16 $\pm$ 8.5	12.0 $\pm$ 9.7	75.0	1.2 $\pm$ 3.3	10.7 $\pm$ 10.0	8.3 $\pm$ 7.6	15.4

Algunos autores han encontrado respuestas superovulatorias bajas en ovejas cuando utilizaron productos con FSH de alta pureza (con baja contaminación de LH) (McMillan W. H. y Hall, D.R.H. 1990). Por ello, otros autores preconizan el uso asociado de eCG a estos tratamientos superovulatorios (Maxwell y Wilson, 1989; Vivanco, 2000). Los resultados presentados en este trabajo muestran, sin embargo, una respuesta desfavorable en el Grupo eCG. Es posible que esto se deba a que la dosis de eCG utilizada (200 UI) haya sido elevada para los fenotipos de ovejas y época del año considerada. Por otra parte, los trabajos que asocian eCG a la superovulación decreciente (Vivanco, H.W. 2000), no hacen referencia al comportamiento de este protocolo sin la misma, que sirviera de comparación con el diseño de nuestro ensayo. En bovinos, el uso de preparados de FSH con actividad de LH (FSH:LH ratio 1:1) ha producido una mayor respuesta superovulatoria, pero asociado a un elevado porcentaje de estructuras embrionarias no fertilizadas o degeneradas (Kelly, 1997).

En conclusión, la administración de ocho dosis decrecientes de oFSH sin añadir eCG proporcionó una media de 5.5 CL, 5.1 E, y 3.9 EV más por oveja, que en el caso de las donantes tratadas con oFSH añadiendo eCG (NS). Se observó también una respuesta más homogénea en el Grupo sin eCG (menor número de folículos, ausencia de cuerpos lúteos no ovulados y cuerpos lúteos regresados, menor porcentaje de donantes sin embriones, etc).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cocero M<sup>a</sup>J.; Gonzalez A.; Santiago J.; Garcia M.; Lopez A. 1999. Efecto del protocolo de administración de FSH ovina sobre los rendimientos superovulatorios en ovejas Manchegas. ITEA, Vol. Extra 20 N<sup>o</sup>2
- Folch, J.; Olivera, J.; Cocero, M.J.; Aguilar, B.; Alabart, J.L. 2000. Comparison of two FSH treatments for superovulation of ewes. Proceedings of Annual Meeting of European Embryo Transfer Society. Setiembre 7 y 8, Santander, España.
- Kelly, P.; Duffy, P.; Roche, J.F.; Boland, M.P. 1997. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. *Animal Reproduction Science*, 46: 1-14.
- McMillan W. H. and Hall D.R.H. 1990. Superovulation in the ewe: effects of stage of cycle and PMSG in oFSH (Ovagen) treated ewes. Proc. Aust. Soc. Rep. Biol. Conf. Sept. 24-26. Perth. W.A. P:38.
- Maxwell, W.M.C., and Wilson, H.R. 1989. Superovulation and embryo recovery in ewes treated with a single injection of PMSG and FSH-P. Aust. Soc. for Reprod. Biol. Proceed. of the 21th Annual Conf., Monash University Australia.
- Ramon, J.P.; Folch, J.; Fernández-Arias, A.; Alabart, J.L.; Cocero, M.J. y Echegoyen, E. 1991. La técnica de la transferencia de embriones en ganado ovino. ITEA, Vol. Extra, 11(1), 61-63.
- SAS Institute Inc., SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volume 2, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989. 846 pp.
- Vivanco, H W. 2000. "ET Beyond 2000". Proceedings of the Australian Embryo Transfer Society. Perth Conference. Observation City, WA. 28-30 June p:6-27.

---

Financiado por CDTI (MINER). Agradecimientos: a E. Echegoyen, I. Escota y P. Sánchez por su colaboración en la recuperación de embriones.