

INFLUENCIA DEL MOMENTO DE MUESTREO SANGUÍNEO EN LA PREDICCIÓN DE FERTILIDAD DE OVEJAS RECEPTORAS DE EMBRIONES

Olivera, J.M., Folch, J., Cocero¹, M.J., Aguilar, B., Roche, A., Echegoyen, E., Sánchez, P., Alabart, J.L.

Unidad de Tecn. en Prod. Animal SIA-DGA Apdo 727, 50080 Zaragoza.
¹ Área Reprod. Animal. CIT/INIA. Ctra de La Coruña, Km 5,900. 8111-Madrid.

INTRODUCCIÓN

Estudios recientes en bovinos han revelado diferencias en la "aptitud" de las receptoras para iniciar y mantener la preñez, cuando se transfieren embriones con el mismo potencial de supervivencia (McMillan, 1999). Una identificación fácil de las receptoras más aptas podría incrementar el éxito de los programas ovinos MOET. La hipótesis planteada en nuestro trabajo es que, dicha aptitud, podría predecirse a través de la asociación multifactorial de parámetros sanguíneos y otras variables fisiológicas, cuando se mantiene fija la variable "calidad embrionaria". Resultados preliminares han mostrado la conveniencia de ampliar estos estudios a un mayor número de animales con el fin de obtener modelos más representativos de la realidad (Olivera, 1999). Los objetivos de la presente comunicación fueron: 1) seleccionar las variables que mejor modelan la fertilidad en receptoras ovinas, utilizando el análisis multivariable discriminante, y 2) determinar el día de muestreo sanguíneo que mejor predice la fertilidad en nuestras condiciones de trabajo (día de retirada de esponja vs. día anterior a la transferencia embrionaria).

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue generado de la suma de cinco experiencias de transferencia embrionaria (TE) realizadas entre primavera de 1998 y primavera del año 2000. Se evaluaron un total de 99 receptoras Rasa Aragonesa, adultas y secas. Los demás manejos y técnicas aplicados a donantes, embriones y receptoras han sido descritos previamente (Olivera, 1999).

Se tomaron muestras de sangre de las receptoras en ayuno (12hs), el día de la retirada de la esponja de FGA y un día antes de la TE. Los análisis bioquímicos se realizaron en un autoanalizador (Vitalab Selectra™, Lab. Merck). La progesterona (P4) se midió por RIA directo, usando kits comerciales (125 I-Progesterone Coatria, Lab. Biomérieux). Los pesos fueron evaluados con 12 hs de ayuno. La condición corporal se midió según escala 1-5 (Rusell, 1966).

La variable de clasificación fue la fertilidad (valores 0 o 1) al diagnóstico ecográfico (35 días). Las variables de predicción fueron los niveles plasmáticos de: proteína total, albúmina, urea, creatinina, beta-hidroxibutirato (BHB), colesterol, fósforo (P), calcio (Ca), hierro, sodio y potasio; enzimas: CK-NAC, GLDH, GOT, GPT; y variables fisiológicas: edad, intervalo parto-transferencia, diferencia de peso vivo (DPESO) y condición corporal media entre la puesta y retirada de esponja.

El análisis discriminante se realizó en 3 pasos para los dos días de muestreo sanguíneo. En el primer paso se obtuvo el conjunto de variables que mostraba mayores diferencias entre los grupos de fertilidad (0= vacía, 1= gestante), mediante un análisis por etapas. Se utilizó el método *Backward* (basado en análisis de varianza-covarianza) a $P>0.20$ para la eliminación de las variables del modelo (PROC STEPDISC de SAS). En un segundo paso, se determinó la función de dichas variables que mejor predice la fertilidad (PROC CANDISC de SAS). Por último, dicha función se utilizó para predecir la fertilidad de las receptoras en los dos momentos evaluados (PROC DISCRIM de SAS) (SAS Institute Inc., 1989). La predicción de ambos momentos de muestreo fue comparada a través de estos indicadores: Sensibilidad (Sen; % de diagnosticados como gestantes entre el total de gestantes), Especificidad (Esp; % de diagnosticados como vacías entre el total de vacías), porcentaje total de ovejas correctamente clasificadas (Ccla), y valor predictivo de resultado positivo (VpR+: % de realmente gestantes entre las predichas como

gestantes). La comparación de estos porcentajes se realizó por el test de chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de gestación real a la ecografía fue de 72.7% (72/99). Las variables seleccionadas como relacionadas con la fertilidad se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Variables seleccionadas por el análisis discriminante en los dos momentos de muestreo (medias de mínimos cuadrados \pm e.e. en vacías y gestantes)

VARIABLE	DÍA RETIRADA DE ESPONJA		DÍA ANTERIOR A TE	
	GESTANTES (n=72)	VACÍAS (n=27)	GESTANTES (n=72)	VACÍAS (n=27)
DPESO (Kg)	2.7 \pm 0.3 ^a	1.4 \pm 0.4 ^b	2.6 \pm 0.2 ^a	1.4 \pm 0.4 ^b
BHB (mg/dl)	2.4 \pm 0.1 ^a	2.7 \pm 0.2 ^a	2.4 \pm 0.12 ^a	3.2 \pm 0.2 ^b
P (mg/dl)	6.2 \pm 0.2 ^a	5.7 \pm 0.3 ^a	-	-
Ca (mg/dl)	9.5 \pm 0.2 ^a	8.9 \pm 0.3 ^a	-	-

a, b: $P < 0.05$; a, a: NS

Al día de la retirada de esponja (d0) cuatro variables fueron seleccionadas afectando la fertilidad. La media de mínimos cuadrados para la ganancia de peso (DPESO) fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en receptoras gestantes que en vacías. Los niveles de P y Ca fueron mayores en gestantes pero no significativos ($0.05 < P < 0.1$). Contrariamente, los niveles de BHB fueron menores en gestantes, no alcanzando tampoco niveles de significación. La función de estas variables que mejor predice la fertilidad para este momento (CANFd0) fue:

$$\text{CANFd0} = + 0.74 \cdot \text{DPESO} - 0.58 \cdot \text{BHB} + 0.45 \cdot \text{P} + 0.57 \cdot \text{Ca}$$

Las receptoras que parieron tenían mayores valores de CANFd0 que aquellas que no lo hicieron (0.21 vs. -0.58; $P < 0.01$; Fig. 1). Receptoras con valores de CANFd0 mayores que -0.18 fueron clasificadas como preñadas y aquellas con valores menores, como vacías. Así, se logró predecir correctamente el 62.5% de las receptoras gestantes (Sen) y el 74% de las vacías (Esp). En conjunto, el total de Ccla fue de 65.6%. El VpR+ para el d0 fue de 86.5%.

Al día anterior a la TE. (d7) sólo dos variables fueron seleccionadas como afectando la fertilidad. La media de mínimos cuadrados para la DPESO fue significativamente mayor ($P < 0.01$) en receptoras gestantes que en vacías. Contrariamente, los niveles de BHB fueron significativamente menores ($P < 0.05$) en receptoras gestantes. La función de estas variables que mejor predice la fertilidad (CANFd7) para este momento de muestreo fue:

$$\text{CANFd7} = + 0.71 \cdot \text{DPESO} - 0.98 \cdot \text{BHB}$$

Las receptoras que parieron tenían mayores valores de CANFd7 que aquellas que no lo hicieron (0.21 vs. -0.57; $P < 0.01$; Fig. 1). Receptoras con valores de CANFd7 mayores que -0.18 fueron clasificadas como preñadas y aquellas con valores menores, como vacías. Así, se logró predecir correctamente el 75% de las receptoras gestantes (Sen) y el 48% de las vacías (Esp). En conjunto, el total de ovejas Ccla fue de 67.6%. El VpR+ para el d7 fue de 79.4%.

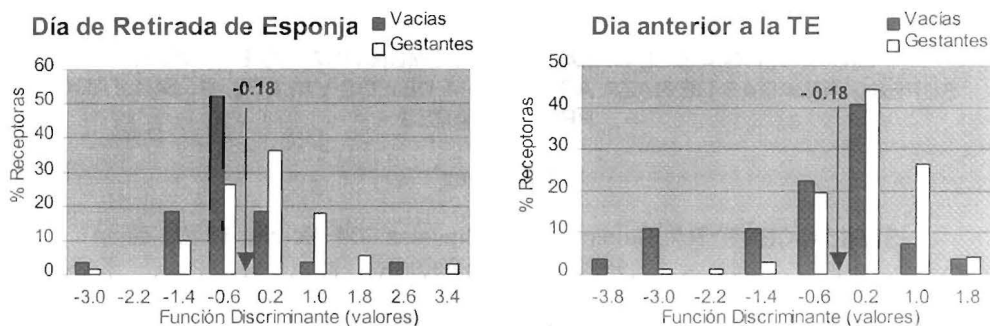


Figura 1. Diagrama de frecuencias de la función discriminante para la variable fertilidad en dos días de muestreo sanguíneo (las flechas indican el punto de corte).

No se encontraron diferencias significativas en la predicción interna comparada de ambos momentos de muestreo para ninguno de los indicadores utilizados.

Se conoce que los efectos nutricionales se expresan a través de intermediarios tales como esteroides ováricos, influenciando así, la síntesis y liberación de factores esenciales de crecimiento que favorecen la implantación embrionaria (O'Callaghan, 1999). Existe documentada relación entre la pérdida de peso y/o condición corporal por déficit energético, el aumento de niveles de BHB y ácidos grasos no esterificados (NEFAS) y la subsiguiente ciclicidad y fertilidad en rumiantes (Whitaker, 1993). Esto concuerda con la relación que evidencia nuestra función de fertilidad (CANF) para receptoras vacías en ambos momentos de muestreo. La bibliografía asocia el P inorgánico y la relación Ca/P a infertilidad en rumiantes carenciados (Scharp, 1979).

Se concluye, que esta metodología permitiría, analizando variables que presentan mayores diferencias entre receptoras gestantes y vacías, elevar los porcentajes de fertilidad en los programas MOET. La fertilidad fue predicha con la misma eficiencia en ambos días de muestreo sanguíneo. Con el fin de corroborar los resultados obtenidos, debemos realizar la validación externa de ambos modelos, eligiendo las receptoras a utilizar en sucesivas experiencias de transferencia embrionaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- McMillan-WH; Donnison-MJ. 1999. Understanding maternal contributions to fertility in recipient cattle: development of herds with contrasting pregnancy rates. *Animal-Reproduction-Science* 57: 3-4, 127-140.
- O'Callaghan, D. and Boland, M.P. 1999. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Animal Science* 68: 299-314.
- Olivera, J.; Alabart, J. L.; Cocero, M; Folch, J. 1999. Predicción de la fertilidad en ovejas receptoras de embriones mediante variables fisiológicas y de bioquímica sanguínea. *Revista ITEA, Vol. Extra 20 N° 2: 708-710.*
- Russel, A.J.F; Doney, J.M.; Gunn, R.G. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* 72: 451-454
- SAS Introduction to Discriminant Procedures. In: SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Vol 1, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989; 45.
- Scharp, D.W. 1979. Effect of adding superphosphate to the drinking water on the fertility of dairy cows. *Australian Veterinary Journal* 55: 5, 240-243.
- Whitaker, D.A.; Smith, E.J.; Kelly, J.M.; Da-Rosa, Go. 1993. Some effects of nutrition and management on the fertility of dairy cattle. *Veterinary Record* 133:3, 61-64

Financiado por INIA (Proyec. SC-94073) Agradecimientos a AECl, por financiar beca predoctoral del primer autor; a D. Andueza e I. Escota por su colaboración técnica.