

EL USO DE MELATONINA EXÓGENA TRAS EL PARTO EN OVEJAS RASA ARAGONESA SUBNUTRIDAS MEJORA LA VIABILIDAD EMBRIONARIA DURANTE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA

Vázquez*, M.I.; Abecia, J.A.; Forcada, F. y Casao A.

Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria.
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177, 50013. Zaragoza. (*)isavazq@unizar.es

INTRODUCCIÓN

En el ganado ovino existen diversos factores que influyen sobre la productividad, siendo la estacionalidad reproductiva y la nutrición dos de los factores más importantes, especialmente en la región Mediterránea, donde la disponibilidad de los recursos alimenticios es muy fluctuante a lo largo del año. Ambos factores afectan directamente la viabilidad y la producción embrionaria, y en consecuencia, la eficiencia reproductiva en los sistemas de explotación ovina. Es sabido que la subnutrición incrementa la mortalidad embrionaria y reduce las tasas de gestación (Rhind et al., 1989, Lozano et al., 2003), principalmente debido a una inadecuada calidad del ovocito o del desarrollo temprano del embrión (Abecia et al., 2006).

Por otra parte, se ha documentado que los tratamientos con melatonina exógena son un método efectivo para inducir la ciclicidad y aumentar la fertilidad (Forcada et al., 1995, Zufiiga et al., 2002, Abecia et al., 2007). En este sentido, Abecia et al. (2008) describen los efectos de la melatonina sobre los ovarios y los embriones en ovejas. Debido a que la melatonina aumenta la supervivencia embrionaria y las tasas de fertilización *in vitro* (Valasi et al., 2006, Forcada et al., 2006), parece lógico pensar que esta hormona podría ser una herramienta útil para revertir o paliar los efectos adversos que causa la subnutrición sobre la supervivencia embrionaria en esta especie. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo ha sido evaluar los efectos de la melatonina y la subnutrición sobre la viabilidad de los embriones provenientes de ovejas post-parto durante la estación reproductiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la granja experimental de la Universidad de Zaragoza (41° 41'N), durante los meses de noviembre a febrero, utilizando 24 ovejas adultas, de la raza Rasa Aragonesa, con un peso vivo (PV) medio (\pm s.e.m.) de $65,9 \pm 1,8$ kg y una condición corporal (CC) media de $2,80 \pm 0,06$, durante la estación reproductiva (ER).

En el momento del parto, las ovejas fueron distribuidas en 2 grupos: el primer grupo recibió un implante subcutáneo de melatonina (Melovine®, CEVA Salud Animal, Barcelona, España) en la base de la oreja (+MEL) en ese momento, el segundo grupo incluyó las ovejas sin implantar (-MEL). Tras un periodo de amamantamiento de 45 días, con un solo cordero, se realizaron los destetes y las ovejas fueron sincronizadas utilizando un tratamiento intravaginal con esponjas impregnadas con progestágenos durante 14 días, al cabo de los cuales se administraron 350 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) (Sincropart® PMSG, CEVA Salud Animal) por vía intramuscular. Desde el momento de la colocación de las esponjas hasta la recuperación de los embriones (día 5 post estro), las ovejas de ambos grupos (+MEL y -MEL) fueron distribuidas al azar para ser alimentadas 1,5 (grupo control, C) o 0,5 (grupo bajo, B) veces los requerimientos diarios de mantenimiento (M), respectivamente (AFRC, 1993), con libre acceso al agua.

De esta manera, los 4 grupos experimentales fueron: (1) ovejas alimentadas con dieta control y que no recibieron implantes de melatonina al parto (C-MEL), (2) ovejas alimentadas con dieta control y que recibieron implantes de melatonina al parto (C+MEL), (3) ovejas alimentadas con dieta baja y que no recibieron implantes de melatonina al parto (B-MEL) y (4) ovejas alimentadas con dieta baja y que recibieron implantes de melatonina al parto (B+MEL).

Desde las 24 h posteriores a la retirada de las esponjas intravaginales, en todas las hembras se controló la aparición de los celos cada 8 h y se realizó la cubrición controlada (celo=Día 0). El día 5 post celo se realizó una laparotomía ventral media con anestesia general a todas las ovejas cubiertas, durante la cual se realizó el lavado con PBS de el/los cuernos uterinos ipsilaterales al ovario que presentaba el/los cuerpos lúteos (CL)

aparentemente funcionales, con el fin de recuperar y valorar los embriones presentes. Los embriones obtenidos fueron cultivados *in vitro* durante 48 h, con el objeto de evaluar la viabilidad embrionaria. Se definió: tasa de fertilización= n° de embriones fertilizados/ n° de estructuras recuperadas (ova+embriones); tasa de viabilidad= n° de embriones viables/ n° de estructuras recuperadas; tasa de desarrollo *in vitro* = % de embriones que tras un periodo de 48 h de maduración *in vitro* alcanzan el estadio de blastocistos.

El PV y la CC de todas las hembras se determinaron al momento del parto, del destete, de la colocación y de retirada de las esponjas intravaginales, y de la recuperación de los embriones. Los efectos de los tratamientos sobre el desarrollo y la calidad de los embriones fueron evaluados usando el Proc Gen Mod (SAS Institute, USA) con una distribución Poisson especificada en el modelo experimental 2x2. Los valores expresados como porcentajes fueron transformados a arcoseno antes de ser comparados con la prueba Chi cuadrado. Los resultados son expresados como media \pm s.e.m.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los 21 días en que los animales recibieron la dieta experimental, se observó una pérdida significativa de PV en las ovejas con la dieta 0,5M (B-MEL: $9,6\pm 1,3$ y B+MEL: $10,5\pm 0,3$ kg; $P<0,001$), mientras que las ovejas que consumieron la dieta 1,5 M (C-MEL y C+MEL) mantuvieron su peso vivo. Al momento de la recuperación de los embriones (21 d desde el inicio de las dietas experimentales), las medias en los PV y las CC fueron significativamente menores en las ovejas del grupo B que en las ovejas del grupo C ($P<0,001$).

No hubo efecto de la dieta ni de la melatonina sobre la tasa de ovulación o sobre el número de embriones recuperados por CL (Tabla 1), pero se observó que el uso de melatonina exógena tendió a mejorar el n° de estructuras recuperadas por oveja (-MEL: $0,75\pm 0,3$ y +MEL: $1,50\pm 0,3$; $P=0,09$). Además, en ovejas subnutridas, se observó que el n° de embriones viables/CL y las tasas de viabilidad y de preñez a día 5 post-celo fueron significativamente mayores en las ovejas implantadas con melatonina que en las no implantadas (Tabla 1, $P<0,05$). Nuestros resultados parecen confirmar trabajos previos que describen que la melatonina exógena reduce significativamente el número y la tasa de embriones no-viables (degenerados y retardados) en ovejas superovuladas (Forcada et al., 2006) o mejora la viabilidad de los embriones obtenidos de ovejas controles y subnutridas en anestro (Vázquez et al., 2008). Los mecanismos involucrados en la mejora de la viabilidad embrionaria por la melatonina podrían basarse en sus efectos luteotróficos, observados tanto *in vivo* como *in vitro* (Durotoye et al., 1997; Abecia et al., 2002), así como también a sus efectos sobre el eje hipotálamo-hipofisario (Malpoux et al., 1997).

En conclusión, los resultados del presente trabajo demuestran que el tratamiento con melatonina exógena al parto mejora la viabilidad embrionaria en ovejas después de un periodo de subnutrición, lo que sugiere que, el uso de dicha hormona podría ser una alternativa de manejo útil para revertir o paliar los efectos adversos de la subnutrición en ovejas durante la estación reproductiva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia, J. A., Forcada, F., Zuñiga, O. 2002. Vet. Res. Commun. 26: 151-158.
Abecia, J. A., Sosa, C., Forcada, F., Meikle, A. 2006. Reprod. Nutr. Dev. 46: 367-378.
Abecia, J. A., Valares, J. A., Forcada, F., Palacin, I., Martin, S., Martino, A. 2007. Small Rum. Res. 69: 10-16.
Abecia, J. A., Forcada, F., Casao, A., Palacín, I. 2008. Animal 2(3): 399-404.
Agricultural and Food Research Council. 1993. CAB International, Wallingford, UK.
Durotoye, L. A., Webley, G. E., Rodway, R. G. 1997. Res. Vet. Sci. 62: 87-91.
Forcada, F., Zarazaga, L., Abecia, J. A. 1995. Theriogenology 43(7): 1179-1193.
Forcada, F., Abecia, J. A., Cebrián-Perez, J. A., Muiño-Blanco, T., Valares, J. A., Palacin, I., Casao, A. 2006. Theriogenology 65(2): 356-365.
Lozano, J. M., Lonergan, P., Boland, M. P., O'Callaghan, D. 2003. Reproduction 125: 543-553.

- Malpoux, B., Viguie, C., Skinner, D. C., Thiéry, J. C., Chemineau, P. 1997. *Brain Res. Bull.* 44(4): 431-438.
- Rhind, S. M., Mckelvey, W. A. C., Mcmillen, S., Gunn, R. G., Elston, D. A. 1989. *Animal Production* 48: 149-155.
- SAS Institute Inc., 1999. SAS/STAT. Software Version 8. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Valasi, F., Tsiligianni, T., Papanikolaou, T., Dimitriadis, I., Vainas, E., Samartzi, F., Amiridis, G.S. 2006. *Reprod Domest Anim* 41(4): 341-341.
- Vázquez, M. I., Forcada, F., Casao, A., Sosa, C., Palacín, I., Abecia, J. A. 2008. *Anim. Reprod. Sci.* doi:10.1016/j.anireprosci.2008.04.004
- Zuñiga, O., Forcada, F., Abecia, J. A. 2002. *Anim. Reprod. Sci.* 72(3-4): 165-174.

Tabla 1. Respuesta ovárica y producción de embriones en la estación reproductiva de ovejas de raza Rasa Aragonesa con 45 días de periodo post parto, alimentadas con una dieta 1,5 M (C) o 0,5 M (B) veces sus necesidades de mantenimiento y tratadas (+MEL) o no (-MEL) con melatonina exógena en el momento del parto (70 d antes de la recuperación de los embriones), durante la estación reproductiva.

	GRUPOS			
	C-MEL	C+MEL	B-MEL	B+MEL
Nº de ovejas	6	6	6	6
Nº de ovejas en celo	6/6	6/6	6/6	6/6
Tasa de ovulación	2,17±0,3	2,17±0,3	1,50±0,3	2,0±0,3
Nº de embriones fertilizados/CL	0,30±0,2	0,30±0,2 ^c	0,50±0,2	0,75±0,2 ^d
Tasa de fertilización (%)	100 ^c	50 ^d	100	90
Nº de embriones viables/CL	0,30±0,2	0,20±0,2	0,12±0,1 ^a	0,50±0,2 ^b
Tasa de viabilidad (%)	100 ^{a,c}	37,5 ^d	25 ^b	65 ^a
Tasa de desarrollo <i>in vitro</i> (%)	80	100	75	87,5
Tasa de preñez (%)*	50,0 (3/6)	33,3 (2/6)	16,6 (1/6) ^a	66,6 (4/6) ^b

Diferentes superíndices (a, b) en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

Diferentes superíndices (c, d) en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.1).

*Porcentaje de ovejas con embriones viables en el Día 5 post-celo.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por CICYT (AGL2004-00432 y AGL2007-63822) y DGA (A-26).

THE USE OF EXOGENOUS MELATONIN AFTER LAMBING IN UNDERNOURISHED RASA ARAGONESA EWES IMPROVES EMBRYO VIABILITY DURING THE REPRODUCTIVE SEASON

ABSTRACT: This study investigated the effect of exogenous melatonin and undernutrition on embryo viability in postpartum ewes during reproductive season. At parturition, 24 adult Rasa Aragonesa ewes were assigned into two groups: treated (+MEL) or not (-MEL) with a subcutaneous implant of melatonin (Melovine®, CEVA) the day of lambing. After 45 days of single suckling, lambs were weaned, ewes synchronized with intravaginal pessaries and fed to provide 1.5 (Control, C) or 0.5 (Low, L) times daily maintenance requirements. Therefore, ewes were divided into four groups: C-MEL, C+MEL, L-MEL and L+MEL. At oestrus (Day=0) ewes were mated and embryos were recovered by mid-ventral laparotomy on Day 5 and classified according to their developmental stage and morphology. No effect of diet or melatonin treatment was observed either on ovulation rate or number of recovered ova/corpus luteum (CL). Melatonin treatment improved significantly the number of viable embryos/CL (B-MEL: 0.12±0.1, B+MEL: 0.50±0.2; P<0.05), viability rate (B-MEL: 25%, B+MEL: 65%; P<0.05) and pregnancy rate (B-MEL: 16.6%, B+MEL: 66.6%; P<0.05), in undernourished ewes. In conclusion, this study shows that melatonin treatment improves ovine embryo viability in undernourished postpartum ewes during reproductive season.

Keywords: exogenous melatonin, undernutrition, postpartum ewes, embryo viability.