

## AVANCES EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELO Y OVULACIÓN EN OVEJAS

C. Viñoles G.

Programa Nacional de Carne y Lana. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Tacuarembó, Uruguay

E-mail: [cvinoles@inia.tb.org.uy](mailto:cvinoles@inia.tb.org.uy)

### Resumen

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) permite mayores ventajas en programas de mejora genética. Para ello, debe ser asociada a tratamientos de sincronización de la ovulación, que permitan obtener elevadas tasas de preñez. El conocimiento de la dinámica folicular, a permitido realizar ajustes en los protocolos de sincronización de celos. Tratamientos de 12-14 días de duración con progestágenos y eCG a la retirada de los dispositivos intravaginales resultan en la ovulación de un folículo envejecido, que no siempre se asocia con una reducción de la tasa de preñez. Los análogos sintéticos de la  $PGF2\alpha$ , también pueden ser usados en protocolos de IATF, cuando la misma se aplica a intervalos de 7 días, pero su baja fertilidad limita el uso en forma masiva. La baja tasa de preñez se asocia con el ambiente hormonal en que se desarrolla el folículo ovulatorio, que limita además la tasa ovulatoria y aumenta la pérdidas embrionarias de mellizos. A pesar de que se han generado protocolos de sincronización que consideran la caída de los niveles de progesterona y la ovulación de un folículo joven, los protocolos tradicionales continúan siendo los de elección en programas de mejora genética.

### Introducción

La inseminación artificial (IA) es una biotecnología que permite la introducción y difusión de nuevo material genético en las majadas. Aunque la IA no depende de la aplicación de tratamientos de sincronización de estros, la duración del trabajo se reduce en forma notoria si se asocia con ésta alternativa. La IA a tiempo fijo (IATF) simplifica aún más el trabajo, ya que elimina la rutina de detección de celo diario. La sincronización de celos y de partos, permite aplicar estrategias de alimentación focalizada en diferentes momentos del ciclo reproductivo, lo que aumenta la eficiencia reproductiva global y el retorno económico del sistema (Martin *et al.*, 2004).

Las estrategias para sincronizar el celo en ovinos se han basado en producir una caída sincronizada de las concentraciones de progesterona circulantes. El control de una fase luteal artificial, mediante el uso de progesterona y progestágenos, y la regresión luteal promovida por el uso de análogos sintéticos de prostaglandinas, son las alternativas más usadas. La sincronización de la ovulación se logra mediante la aplicación de gonadotropinas luego de finalizado el tratamiento.

### Tratamientos que mimetizan la fase luteal

Los progestágenos naturales o sintéticos son una estrategia flexible, ya que pueden ser utilizados durante el anestro o la estación reproductiva (Scaramuzzi y Martin, 1984). Inicialmente, los métodos utilizados para controlar el ciclo estral involucraron la extensión del período de diestro con progestágenos, por un tiempo suficiente para permitir la ocurrencia espontánea de la luteólisis durante el período de tratamiento (Dutt y Casida, 1948). Tratamientos largos (TL) (e.g. 12–14 días) son utilizados en la actualidad en ovinos, para inducir y sincronizar el celo. Los tratamientos resultan en un alto porcentaje de animales demostrando comportamiento estral, pero la fertilidad es menor que durante un celo espontáneo (Robinson *et al.*, 1970).

La práctica común de empezar el tratamiento de sincronización sin conocer el momento del ciclo, lleva a variaciones entre ovejas en la combinación de progesterona endógena proveniente de la secreción luteal y la progesterona liberada por el dispositivo (e.g. esponjas) (Leyva *et al.*, 1998). Si el tratamiento es iniciado durante la fase luteal medio o tardía, el CL regresa y el ambiente endócrino es mantenido por el dispositivo solamente. Durante un tratamiento de 13 días de duración con esponjas intravaginales, los niveles circulantes de progesterona caen 5 a 6 días luego del inicio del tratamiento, debido a una disminución en la tasa de absorción (Hamra *et al.*, 1986). Como resultado, un efecto supra-luteal del tratamiento es esperado inicialmente, y

un efecto sub-luteal al final del tratamiento. Concentraciones de progesterona supraluteales durante la fase luteal temprana aceleran la tasa de desarrollo y recambio folicular, mientras que concentraciones sub-luteales reducen la tasa de recambio folicular y prolongan la vida del folículo ovulatorio (Rubianes *et al.*, 1996; Viñoles *et al.*, 2005). Los resultados de fertilidad mejoran cuando se aplican tratamiento cortos (TC) de 6 días de duración respecto a los TL, tanto en anestro estacional (75 vs. 68.8%, Ungerfeld y Rubianes, 1999); como en la estación reproductiva (87 vs. 63%, Viñoles *et al.*, 2001). Sin embargo, la ovulación de folículos envejecidos no siempre se relaciona con una menor fertilidad Johnson *et al.*, 1996; Evans *et al.*, 2001).

El objetivo de la administración de gonadotropinas al finalizar el tratamiento es asegurar la sincronía de la ovulación, para realizar IATF. El más utilizado de estos tratamientos es la gonadotropina coriónica equina (eCG o PMSG), aplicada en dosis de entre 200 y 500 UI (dependiendo de la raza y tamaño corporal), ocurriendo la ovulación a las 60 horas de retiradas las esponjas (Maxwell, 1986). La IATF debe realizarse 48 a 60 horas de retirado el progestágeno, dependiendo de la vía de IA utilizada (cervical o intrauterina) y del método de preservación seminal utilizado (Cognie *et al.*, 1980). El uso reiterado de eCG puede provocar depresión de la fertilidad, asociado a la formación de anticuerpos anti eCG en ovejas y cabras Roy *et al.* (1999). Sin embargo, la respuesta en términos de fertilidad, prolificidad y concentración de anticuerpos generados, es diferente entre majadas, entre ovejas de una misma majada, y entre diferentes épocas del año (Fierro, 2010).

Los tratamientos con progestágenos también presentan problemas prácticos, como las pérdidas de esponjas y la necesidad del uso de antibióticos para evitar vaginitis y adherencias vaginales (Fierro, 2010). Trabajos recientes sugieren que el uso de antibióticos reduce el olor y la cantidad de mucus, pero no tiene efectos beneficiosos sobre la preñez, por lo cual no sería necesario su uso (Viñoles *et al.*, 2011).

#### **Tratamiento luteolíticos**

Una vez que la  $PGF_2\alpha$  (PG) fue identificada como el factor luteolítico durante el ciclo estral de la oveja (McCracken *et al.*, 1972), se desarrollaron PG sintéticas para su uso en la inducción prematura de la luteólisis durante el diestro (Cooper, 1974). Sin embargo, los tratamientos tradicionales con PG (en dosis simple o doble con intervalos de nueve a 12 días) no podían ser utilizados en protocolos de IATF por la gran dispersión en la manifestación de estros (24 a 120 horas), y por la consistente baja fertilidad de los mismos (Hackett *et al.* 1981). Esta dispersión de estros tiene relación con la edad del cuerpo lúteo (CL) y con el estado de desarrollo folicular al momento de aplicar la PG (Kastelic y Ginther, 1991; Viñoles y Rubianes, 1998). Cuanto más desarrollado esté el CL, más demorará la  $P_4$  en alcanzar niveles sub-luteales y la oveja en manifestar estro y ovulación (Houghton *et al.*, 1995). El estado de la población folicular de cada individuo afecta el intervalo al estro (Kastelic y Ginther, 1991; Viñoles y Rubianes, 1998). Si al momento de inyectar la PG el folículo dominante de la onda está en fase de crecimiento, el estro y la ovulación ocurrirán antes. Sin embargo, si el folículo dominante está en su fase de regresión, un nuevo folículo debe emerger y madurar, por lo que el estro y la ovulación ocurrirán más tarde (Viñoles y Rubianes, 1998)

Durante mucho tiempo se afirmó que el CL en la oveja era sensible a la PG entre los Días 5 y 14 del ciclo estral (Acritopoulou y Haresign, 1980). Sin embargo, se ha demostrado que es posible inducir la luteólisis a partir del Día 3 pos-ovulación (Rubianes *et al.*, 2003). Estos resultados permitieron desarrollar un protocolo de sincronización de estros con la administración de dos dosis de PG separadas siete días. De ésta manera sin conocer el momento del ciclo estral durante el cual se administra la primera dosis, al momento de administrar la segunda dosis los CLs tendrán tres a cinco días de vida y todas las ovejas se encontrarán en la primer onda de desarrollo folicular (Fierro, 2010). El uso de éste protocolo permitió la sincronización del 78% de los estros entre las 24 y 48 horas, y las ovulaciones entre las 48 y 72 horas de administrada la segunda dosis; lo que permitió su uso para IATF (Menchaca *et al.*, 2004). Sin embargo, la sincronización del desarrollo folicular determinado por éste protocolo no mejoró los resultados de preñez, que superan levemente el 50% (Menchaca *et al.*, 2004). Un protocolo de tres inyecciones de prostaglandina con intervalo de 7 días, resultó en una baja preñez (47%), comparado con un tratamiento de esponjas de MAP por 14 días y 250 UI de eCG al retiro de la misma (85%; Viñoles *et al.*, 2011). Recientemente se demostró que la baja tasa de preñez en las ovejas sincronizadas con el protocolo de doble dosis de PG a intervalo de 7 días comparadas con ovejas en celo espontáneo, se asoció con alteraciones en el medio ambiente hormonal en que se desarrolla en folículo ovulatorio (Fierro *et al.*, 2011). Por lo tanto, no se recomienda utilizar el celo inducido por la PG en ningún protocolo de sincronización.

#### **Consideraciones finales**

Aunque en los últimos años las tecnologías disponibles nos han permitido generar importante información respecto a los cambios que provocan los diferentes tratamientos hormonales sobre el desarrollo folicular, y realizar los ajustes correspondientes, los protocolos alternativos propuestos no mejoran el porcentaje de preñez, por lo que los protocolos de sincronización tradicionales continúan siendo los más confiables y más utilizados en la actualidad.

### Referencia Bibliográfica

- Martin, G.B., et al. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science* 82-83: 231-45.
- Scaramuzzi, R.J. and Martin, G.B. 1984. Pharmacological agents for manipulating oestrus and ovulation in the ewe. In: *Reproduction in sheep*, D.R. Lindsay and D.T. Pearce, Editors. 1984, Australian Academy of Science Australian Wool Corporation: Canberra. 316-325.
- Dutt, R.H. and Casida, L.E. 1948. Alteration of the estrual cycle in sheep by use of progesterone and its effect upon subsequent ovulation and fertility. *Endocrinology* 43: 208-217.
- Robinson, T.J., et al. 1970. Fertility following synchronization of oestrus in the sheep with intravaginal sponges. I. Effects of vaginal douche, supplementary steroids, time of insemination, and numbers and dilution of spermatozoa. *Australian Journal of Agricultural Research* 21: 767-781.
- Leyva, V., Buckrell, B.C. and Walton, J.S. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50(3): 395-416.
- Hamra, A.H., et al. 1986. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone controlled internal drug-release dispenser, implants and sponges. *Animal Reproduction Science* 11: 187-194.
- Rubianes, E., de Castro, T. y Carbajal, B. 1996. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Canadian Journal of Animal Science* 76: 473-475.
- Viñoles, C. et al. 2005. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction* 129(3): 299-309.
- Ungerfeld, R. y Rubianes, R. 1999. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science* 68: 349-353.
- Viñoles, C., et al. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55(4): 993-1004.
- Johnson, S.K., et al. 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 13(1): 69-79.
- Evans, A.C., et al. 2001. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestagen estrus synchronization protocol in ewes. *Theriogenology* 56(5): 923-36.
- Maxwell, W.M.C. 1986. Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus. 2. Effect of dose of spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility. *Animal Reproduction Science* 10: 306-316.
- Cognie, Y., G. Perret, and C.M. Oldham. 1980. Reproductive aspects of intensive sheep breeding. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 13: 305-308.
- Roy, F., et al. 1999. Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. *Biology of Reproduction* 61(1): 209-18.
- Fierro, S. 2010. Pérdidas reproductivas en ovejas sincronizadas con prostaglandina. *Tesis de Maestría. Programa de Postgrados*. Universidad de la República: Montevideo.
- Viñoles, C., et al. 2011. Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronisation with prostaglandin, sponges, or sponges with bactericide. *Animal Production Science* 51: 565-569.
- McCracken, J.A., et al. 1972. Prostaglandin F<sub>2</sub> identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nat. New Biol.* 238(83): 129-34.
- Cooper, M.J. 1974. Control of oestrus cycles in heifers with a synthetic prostaglandin analogue. *Veterinary Record* 95: 200-203.
- Hackett, A.J., et al. 1981. Comparison of two methods of synchronizing estrus and subsequent lambing in a commercial sheep flock. *Canadian Journal of Animal Science* 61: 67-72.
- Kastelic, J.P. and Ginther, O.J. 1991. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Animal Reproduction Science* 26(1-2): 13-24.
- Houghton, J.A., et al. 1995. Day of estrous cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *J Anim Sci.* 73(7): 2094-101.
- Viñoles, C. and Rubianes, E. 1998. Origin of the preovulatory follicles after induced luteolysis during the early phase in ewes. *Canadian Journal of Animal Science* 51: 1351-1361.
- Acritopoulou, S. and Haresign, W. 1980. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF<sub>2</sub>α given at different stages of oestrus cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 58: 219-223.
- Rubianes, E., Menchaca, A. y Carbajal B. 2003. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F<sub>2</sub>α. *Anim. Reprod. Sci.* 78(1-2): 47-55.
- Menchaca, A., et al. 2004. Prostaglandin F<sub>2</sub>α treatment associated with timed artificial insemination in ewes. *Reprod. Domest. Anim.* 39(5): 352-5.
- Fierro, S., et al. 2011. Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology*. In press.