

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



**EVALUACIÓN DE TIEMPO DE RETIRO DE PROGESTÁGENOS SOBRE LA
TASA DE GESTACIÓN EN BORREGAS INSEMINADAS POR
MINILAPARATOMÍA CON SEMEN CONGELADO**

TESIS
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRO
EN CIENCIAS VETERINARIAS

PRESENTA
LORIAN ARENDSEE AVILES ARNAUT

DIRECTOR DE TESIS
DR. VICTOR MANUEL GONZALEZ VIZCARRA

CO-DIRECTOR
DR. MARTÍN FRANCISCO MONTAÑO GÓMEZ

MEXICALI, B.C. MÉXICO

FEBRERO 2014

Evaluación De Tiempo De Retiro De Progestágenos Sobre la Tasa De Gestación En Borregas Inseminadas Por Minilaparatomía con Semen Congelado Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias, que ha sido aprobada por el comité particular indicado:

Dr. Víctor Manuel González Vizcarra
Director de Tesis

Dr. Martín Francisco Montaña Gómez
Co-Director

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez
Asesor

Mexicali, B.C.

Febrero del 2014

RESUMEN

Evaluación De Tiempo De Retiro De Progestágenos Sobre La Tasa De Gestación En Borregas Inseminadas Por Minilaparatomía Con Semen Congelado

Esta investigación se realizó en el Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali B.C. México. Con el objetivo de evaluar el tiempo óptimo de retiro de la fuente de progesterona (CIDR). Se utilizaron 72 hembras de cruce Kathadin y Dorper, las cuales se distribuyeron en 4 grupos: T₁ n=17; T₂ n=19; T₃ n=20; T₄ n=16. Se les aplicó el CIDR el mismo día para todos los tratamientos y al momento de retirar el dispositivo se les administró 300 UI de eCG. El CIDR se retiró para: T₁: el día 10, T₂: el día 11, T₃: el día 12 y para el T₄: el día 13. La inseminación Artificial por minilaparotomía con semen congelado se llevó a cabo 48 horas después del retiro del CIDR. Las borregas se alimentaron con alfalfa y sudán molido con tamiz de una pulgada, sirviéndoseles dos veces al día la cantidad correspondiente al 3% de su peso vivo. La tasa de parición obtenida para el tiempo de permanencia de la fuente exógena de P₄ fue para; 10 d = 62.5%, 11 d = 43.7%, 12 d = 73.3% y para 13 d = 46.1%. La investigación se evaluó utilizando el estadístico de prueba Chi cuadrada (χ^2) del paquete estadístico SAS 9.3, con lo cual se obtuvo que con un $\alpha = 0.05$ no se encontró diferencia significativa de preñez entre tratamientos. Sin embargo, en el campo

es de suma importancia poder acortar el tiempo de permanencia del dispositivo, ya que ayuda a tener más partos por borrega por año.

ABSTRACT

This research was conducted at the Research Institute of Veterinary Sciences of the Universidad Autonoma de Baja California, Mexicali B.C. Mexico. With the objective of evaluating the optimal time to remove the source of progesterone (CIDR). 72 Females were used in crosses and Dorper Kathadin, distributed in 4 groups: T₁ n= 17; T₂ n= 19; T₃ n= 20; T₄ n=16. The CIDR was applicate the same day for all treatments, and the time to remove the CIDR were given 300 IU eCG. The time of withdrawal of the CIDR was different for each treatment: T₁: day 10, T₂: day 11, T₃: day 12 and for the T₄: day 13. The Artificial insemination by minilaparotomy with semen frozen was realize 48 hours after the withdrawal of the CIDR. The lambs were fed with alfalfa and Sudan grind with strainer of one inch, feeding them twice a day the amount corresponding to the 3% of the live weight. The calving rate that was obtained for the dwell time of the source of exogenous P₄ for; 10 d = 62.5 %, 11 d = 43.7 %, 12 d = 73.3 % and for 13 d = 46.1 %. The research was evaluated using the statistical test of Chi square (X²) of the statistical package SAS 9.3 , with which it was obtained that with an $\alpha = 0.05$ no significant difference was found between treatments for pregnancy. However, in the field is of the utmost importance to

be able to shorten the time of permanence of the device, because it helps to have more deliveries per ewe per year.

CONTENIDO

RESUMEN	3
ABSTRACT.....	4
INTRODUCCIÓN.....	7
REVISIÓN DE LITERATURA	10
<i>Estacionalidad Reproductiva</i>	10
<i>Hormonas de la Reproducción</i>	11
<i>Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)</i>	11
<i>Hormona folículo estimulante (FSH)</i>	12
<i>Hormona luteinizante (LH)</i>	12
<i>Esteroides</i>	13
<i>Estrógenos (E₂)</i>	13
<i>Progesterona (P₄)</i>	13
<i>Prostaglandinas (PG)</i>	14
<i>Inhibinas</i>	14
<i>Hormonas Placentarias</i>	14
<i>Gonadotropina coriónica equina (eCG)</i>	14
<i>Gonadotropina coriónica humana (hCG)</i>	15
<i>Métodos de Sincronización de Estro (SE) en Ovinos</i>	15
<i>Métodos Farmacológicos para la SE</i>	15
<i>Esponja Intravaginal</i>	16
<i>CIDR</i>	16
<i>Implante subcutáneo</i>	16
<i>Gonadotropinas</i>	17
<i>Prostaglandinas</i>	17
<i>Método Natural</i>	17
<i>Efecto macho</i>	17
<i>Importancia de la Detección de Celo</i>	19
<i>Fecundación de las Hembras</i>	19
<i>Monta natural</i>	20
<i>Técnicas de Inseminación Artificial</i>	20
<i>Inseminación Artificial (IA)</i>	20
<i>Inseminación pericervical</i>	21
<i>Inseminación transcervical</i>	21
<i>Métodos de Diagnóstico de Gestación</i>	22

<i>Inmunodiagnóstico</i>	23
MATERIALES Y MÉTODOS	24
Descripción del Área de estudio	24
Unidades Experimentales	24
Alojamiento	24
Alimentación	25
Manejo	25
Protocolo de Sincronización	26
Inseminación	27
RESULTADOS Y DISCUSION	30
CONCLUSIONES	32
LITERATURA CITADA	33

INTRODUCCIÓN

El manejo reproductivo ovino ha evolucionado durante los últimos años gracias al empleo de tecnologías como el uso de métodos de inducción y sincronización por medio de hormonas y la reproducción asistida, las cuales han ayudado a incrementar la productividad de los rebaños.

Los fármacos más utilizados en la inducción del estro son los progestágenos, seguidos de la administración de estrógenos y hormona folículo estimulante en forma de gonadotropina coriónica equina (eCG), también se ha utilizado GnRH (Gonzalez, 1980; Evans y Maxwell, 1990).

El uso en conjunto de progestágenos y eCG en dosis de 30 mg de FGA y 400-550 UI de eCG, según la condición corporal de las hembras, logra hasta un 97 % de estros en las primeras 48 horas y una fertilidad de 73% (Dominguez et al., 1988).

Rangel S. y Vivanco H (1993), señalan que para aumentar la eficiencia de la sincronización de celos se utiliza en conjunto una esponja y se administra 500 UI de eCG el día del retiro del dispositivo.

Martínez T. et al, en el 2006 realizaron un experimento en el que utilizaron CIDR por 12 días y administraron eCG a dos niveles: 150 UI y 300 UI inseminando por medio de laparoscopia. Y vieron que no hubo diferencias significativas en cuanto a fertilidad, sin embargo en cuanto a prolificidad si hubo

diferencias, obteniendo un mayor porcentaje el grupo al que se le administró 300 UI de eCG.

Uribe-Velázquez et al., en el 2008 evaluaron el efecto de la sincronización del estro con prostaglandina F2 alfa contra el CIDR por 12 días + 500 UI de eCG. El intervalo estro-ovulación disminuyó significativamente en el grupo de CIDR y aumentó las hormonas esteroidales en plasma.

Letelier C. et al., utilizaron CIDR por 9 días y administraron 400 UI de eCG y obtuvieron la mayor concentración de estros entre las 40-48 h de retirado el dispositivo así como una tasa de preñez del 70.3% y tasa de parición del 53.2 %.

REVISIÓN DE LITERATURA

Estacionalidad Reproductiva

Las ovejas son estacionales, debido a que su época reproductiva comienza cuando los días se hacen más cortos, sin embargo, en regiones cercanas al ecuador, o en lugares donde no hay climas extremos, se puede dar la reproducción de tipo no estacional. La estacionalidad también depende de la raza o cruza, y la nutrición del animal. (Salomón, S., 1990)

Ciclo Estral de la Oveja

El ciclo estral de la oveja tiene una duración de 17 d. Pero puede variar según la raza, etapa de la estación reproductiva y estrés ambiental. El estro puede durar de 24 a 36 h, pudiendo variar según la raza, edad, estación del año y la presencia del macho. (Hafez y Hafez, 2002).

Fase folicular: Durante esta fase varios folículos primarios de 2-3 mm de diámetro entran en fase de selección, sin embargo, solo 2 o 3 llegarán a ser dominantes (Ko *et al.*, 1991; Bartlewski *et al.*, 1999; Driancourt, 2001; Duggavathi *et al.*, 2003), y los otros folículos serán atrésicos. La hormona FSH es la responsable del crecimiento folicular, siendo secretada por la adenohipófisis (Picton *et al.*, 1990; Ginther *et al.*, 1995). Cuando los folículos están creciendo, secretan estradiol, lo que ayuda a que el celo se manifieste, ya que estimula la retroalimentación positiva en el eje hipotálamo-hipofisiario.

Lo que a su vez, aumenta la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) estimulando una secreción importante de FSH y LH, y éstas dan como resultado el pico preovulatorio, provocando la ovulación y formando el CL (Brebion *et al.*, 1995).

Fase Lútea: Las células del folículo, una vez liberado el ovocito, se transforman en células lúteas que integran el CL, secretando P_4 . El aumento de concentración de esta hormona y su mantenimiento a un nivel elevado durante 14 d constituye la fase lútea. Durante este periodo el crecimiento folicular continúa, pero la gran concentración de P_4 frena la actividad de descarga de GnRH por el hipotálamo bloqueando así la ovulación hasta la luteólisis siguiente (Brebion *et al.*, 1995).

Estro: Es la etapa en la que la hembra muestra comportamiento de actividad sexual y es receptiva al macho. Esto se presenta a partir de la mitad y hasta el final de la fase folicular del ciclo. Este comportamiento se debe a los estrógenos secretados por los folículos dominantes. El estro puede durar de 18 a 72 horas. (Ungerfeld, R 2002).

Hormonas de la Reproducción

Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

La GnRH es una hormona que se sintetiza en el núcleo 8 ventromedial, núcleo arqueado y eminencia media del hipotálamo. Proporciona un enlace humoral entre los sistemas neural y endócrino y es liberada por pulsos como respuesta de las señales neurales. En respuesta a las señales neurales, se liberan pulsos de GnRH hacia el sistema portal-hipofisiario llegando

directamente a las células de los gonadótropos de la adenohipófisis para la síntesis y liberación de LH y FSH (Hafez y Hafez, 2002; Brebion *et al.*, 1995). La secreción de esta neurohormona en la circulación porta-hipofisiaria varía bajo el efecto de factores externos e internos. Externos: fotoperiodo, olores, estrés. Internos: retroalimentación endócrina por los estrógenos (E_2) o P_4 . Los análogos sintéticos de GnRH poseen una actividad superior a la del péptido natural (Brebion *et al.*, 1995).

Hormona folículo estimulante (FSH)

La FSH es una hormona glucoproteíca producida por los gonadótropos de la adenohipófisis. El crecimiento y la maduración del folículo ovárico o folículo de Graaf es posible gracias a esta hormona (Hafez y Hafez, 2002). La FSH es necesaria ya que estimula la aparición de receptores de LH en el folículo y también y mantiene la secreción de estrógeno del ovario. La FSH es secretada en niveles basales durante el ciclo estral, presentando dos picos en su intensidad. El primero simultáneamente a la descarga preovulatoria de LH y el segundo 2 o 3 d después (Brebion *et al.*, 1995).

Hormona luteinizante (LH)

De igual forma que la FSH, la LH se produce en los gonadótropos de la adenohipófisis, y también es una glucoproteína. (Hafez y Hafez, 2002). Su secreción se da de manera periódica, por medio de pulsos que varían según la estimulación de las células hipofisiarias por la GnRH, cada pulso de LH corresponde a un pulso de GnRH. Los niveles basales de LH actúan conjuntamente con FSH y participan en la maduración final del folículo

dominante para inducir la secreción de E_2 . La oleada preovulatoria de LH estimula el desarrollo del CL y la síntesis de P_4 (Brebion *et al.*, 1995; Hafez y Hafez, 2002).

Esteroides

Los esteroides son moléculas derivadas del colesterol, el cual es un lípido producido en muchos tejidos. Según se vaya modificando la cadena del colesterol, se van desglosando diferentes hormonas.

Estrógenos (E_2)

Los estrógenos participan en el desarrollo de las características sexuales secundarias de la hembra, a nivel de SNC para inducir el comportamiento estral. Ejercen el control de retroalimentación positiva y negativa en la liberación de LH y FSH en el hipotálamo. En el útero ayudan a potencializar los efectos de la oxitocina y $PGF_{2\alpha}$ para aumentar la amplitud y frecuencia de las contracciones (Hafez y Hafez, 2002).

Progesterona (P_4)

Es producido por el CL, placenta, glándulas suprarrenales. La LH estimula su secreción. Es la principal hormona para mantener la gestación, prepara el endometrio para la implantación aumentando la actividad secretoria de las glándulas endometriales e inhibiendo la movilidad del miometrio para el mantenimiento de la preñez. Junto con los Estrógenos induce el comportamiento sexual. (Brebion *et al.*, 1995; Hafez y Hafez, 2002;).

Prostaglandinas (PG)

El precursor de las prostaglandinas es el ácido araquidónico. La PGF2 α tiene acción luteolítica, por eso es la responsable de finalizar la fase lútea del ciclo estral y permite el inicio de un nuevo ciclo estral. También contribuye a la contracción del músculo liso en los aparatos gastrointestinal y reproductivo, la ovulación, formación del CL, el parto y la eyección de leche (Hafez y Hafez, 2002).

Inhibinas

Son secretadas por las gónadas, regulan la secreción de FSH. Provocan una retroalimentación negativa sobre la síntesis de FSH. (Ungerfeld R, 2002).

Activinas: Se encuentran en el líquido folicular que estimula la liberación de FSH. (Hafez y Hafez, 2002).

Hormonas Placentarias

Gonadotropina coriónica equina (eCG)

La eCG es una glucoproteína con subunidades alfa y beta similar a las de la LH y FSH, con un mayor contenido de ácido siálico, responsable de una vida media más larga. El útero equino secreta esta gonadotropina placentaria. Los cálices endometriales que se han formado alrededor del día 40 de la preñez y persisten hasta el día 85 son la fuente de origen de eCG. Tiene acciones de FSH y LH, siendo dominantes las de FSH. Circula en la sangre de la yegua y no es excretada en orina. Estimula el desarrollo de folículos, estos se luteinizan

debido al efecto de LH de la eCG, estos CL accesorios producen progestágenos que mantienen la preñez de la yegua (Hafez y Hafez, 2002).

Gonadotropina coriónica humana (hCG)

La glucoproteína hCG consiste en subunidades alfa y beta. La hCG es principalmente luteotrópica y tiene poca actividad de FSH. Es sintetizada por las células sincitiotrofoblásticas en la placenta de los primates, se encuentra tanto en la sangre como en la orina (Hafez y Hafez, 2002).

Métodos de Sincronización de Estro (SE) en Ovinos

La sincronización es la técnica reproductiva más utilizada en el mundo, logrando manipular el ciclo estral por medio de la administración de hormonas, las cuales aumentan el porcentaje de hembras en celo en una misma fecha e incrementa la fertilidad por medio de monta natural o IA (Wildeus, 1999).

Métodos Farmacológicos para la SE

Los tratamientos hormonales de inducción y sincronización de celos induce una fase folicular provocando la finalización simultánea de una fase lútea, para lograr esto, se puede utilizar progesterona o productos similares como los progestágenos: acetato de fluorogestona (FGA) y el acetato de medroxiprogesterona (MAP), estos se administran por medio de esponjas intravaginales, CIDR o implantes subcutáneos.

Esponja Intravaginal.

Se ha utilizado dentro y fuera de la estación reproductiva de los pequeños rumiantes. Las esponjas están hechas de poliuretano y pueden estar impregnadas con 60 mg de acetato de mederoxiprogesterona (MAP) o con 45 mg de acetato de fluorogestona (FGA). Y su uso durante 10 a 16 d suele ser exitosa para la sincronización del estro. (Ainsworth y Wolynetz, 1982; Iglesias et al., 1997).

Pero su eficiencia depende de factores como la respuesta al estro que tenga cada animal, la fertilidad, la raza, condición corporal, así como el tratamiento suplementado en conjunto con la esponja, ya sea FSH o eCG, el sistema de empadre.

CIDR

El CIDR fue creado en Nueva Zelanda y son dispositivos elaborados a base de elastómeros de silicón, y contienen 300 mg de P₄.

Implante subcutáneo. A este método también se le conoce como Syncromate B, el implante se introduce en la oreja y contiene 6 mg de norgestomet. El implante puede durar de 9 a 14 d, y se utiliza en combinación con eCG y/o PGF_{2α}.

Implante subcutáneo.

El implante en la oreja que suministra norgestomet (NOR), es el método del syncromate B (SMB; Rhone-Merieux, Athens, GA) que es un sistema

desarrollado para ganado productor de carne pero es comúnmente usado a la mitad o una tercera parte en ovejas y cabras (Mellado y Valdez, 1997).

Gonadotropinas

Estas se utilizan en conjunto con los otros métodos de sincronización, provocando la inducción de la ovulación tanto en hembras en anestro como en época reproductiva. El eCG es el más utilizado sin embargo, puede llegar a provocar superovulación, además de que su uso continuo reduce la fertilidad (Baril et al., 1998). La GnRH también se administra en conjunto con otros métodos, generalmente se utilizan 100 µg después retirar el dispositivo utilizado, lo cual ayuda a adelantar la ovulación en hembras en época reproductiva, pero no en anestro (Ryan et al., 1992).

Prostaglandinas.

Se recomienda administrarla solo en hembras ciclando, es por eso que es menos utilizada, ya que solo se aplica en época reproductiva. Las ovejas reciben dos inyecciones con un intervalo de 11d (Wildeus, 1999).

Método Natural

Efecto macho

En las ovejas, el estro puede ser inducido con la exposición de hembras anéstricas (Martín et al., 1986; Chemineau, 1987) machos enteros o castrados androgenizados. Esto es independiente de la profundidad del anestro estacional (Scott y Johnstone, 1994) y asociado con la primer ovulación en 2 a

3 d. Este efecto es mediado a través de cambios pulsátiles de liberación de GnRH hipotalámica y el incremento tónico de LH. La primera ovulación es usualmente silenciosa y de baja fertilidad, con prematura regresión del CL. La segunda ovulación 5 d después es acompañada de estro fértil con duración normal de la fase lútea. La respuesta al efecto macho está influenciada por muchos factores como la capacidad de servicio y la libido del macho (Perkins y Fitzgerald, 1994), la intensidad de la estimulación con contacto inmediato, resulta en mayor respuesta que contacto sólo a través de los sentidos de la vista, olfato y auditivo, o contacto separados por una malla, además de la condición corporal (Walkden-Brown *et al.*, 1993).

La primera limitación para usar el efecto macho en la SE es debido a la baja fertilidad al primer ciclo y la pérdida de sincronía en los estros siguientes. La vida corta del CL inducido por el efecto macho puede estar asociada con diferente composición celular que cuando el estro se desarrolla después de una sincronización con FGA en época reproductiva (Chemineau *et al.*, 1993). La administración de P₄ exógena (20 mg) al momento de la introducción del macho previene los ciclos cortos y extiende el periodo de inducción de la ovulación provocada por el macho de 20.5 a 58.8 h en la oveja (Lassoued *et al.*, 1995). Umberg *et al.* (1994) sincronizaron estros con protocolos basados en NOR y MGA con o sin gonadotropinas (PG-600), en ovejas Dorset, Hampshire y Suffolk anéstricas, encontrando que el efecto macho fue tan efectivo al inducir la ovulación como con la utilización de PG-600. En estudios realizados en Canadá, el efecto macho incrementó la fertilidad en ovejas sincronizadas

con FGA en julio pero no fue eficiente en otra época del año (Rajamahendran *et al.*, 1993) indicando que el efecto macho tiene mayor eficacia en hembras anéstricas.

Importancia de la Detección de Celo

Cuando se utiliza la IA o se desarrolla un programa de transferencia de embriones (TE), es necesario conocer el momento de la aparición del celo para elegir el momento de la inseminación. La variación del momento de las ovulaciones es un factor limitante en la tasa de fecundidad, más aun cuando se utiliza semen congelado (Brebion *et al.*, 1992).

Para determinar el inicio del estro, se utiliza un macho vasectomizado o entero provisto de un mandil, se expone a las hembras con un intervalo de 4 a 6 h desde la hora 20 a la 60 después de la terminación del tratamiento de sincronización. El criterio para el diagnóstico del inicio del celo se basa en la aceptación del macho por la hembra. Pueden tomarse en consideración varios criterios de comportamiento; durante el celo la hembra se mueve en torno al macho agitando la cola cuando se acerca, la vulva esta congestionada y a veces presenta moco transparente, puede haber monta entre hembras y disminuye el consumo de alimento (Brebion *et al.*, 1995)

Fecundación de las Hembras

La fecundación de las hembras se puede conseguir por monta natural libre o controlada, o por IA con semen fresco o congelado. Es importante disponer de machos con pruebas de fertilidad. En caso de monta natural los machos deberán estar en la mejor condición corporal (CC), a fin de favorecer la libido y

producción de semen, y tener aptitud suficiente para realizar varias montas (Chemineau *et al.*, 1991).

Monta natural.

En un sistema de empadre natural, machos y hembras se dejan juntos durante el periodo estimado de celo, a razón de un macho por 20 a 40 hembras, de acuerdo al sistema de explotación (estabulado o extensivo). En el sistema de empadre controlado, el macho sólo se presentará a las hembras para efectuar montas dirigidas en momentos escogidos. Las montas más eficaces son sin duda las realizadas entre las 12 y 24 h después de la aparición del celo. La monta dirigida permite una utilización más racional del macho, evitando las montas ineficaces al inicio del estro. Se debe tomar en cuenta que fuera de la época reproductiva algunos machos no manifiestan suficiente líbido junto con baja fecundidad de los espermatozoides (Vallet y Baril, 1990).

Técnicas de Inseminación Artificial

Inseminación Artificial (IA)

La IA es el procedimiento biotécnico mas antiguo y eficaz en la medicina de la reproducción de los animales.

La IA se realizó con éxito por primera vez en 1763 en truchas. Años después, 1779 y 1785, se empezó a experimentar con anfibios y con perros. Sin embargo, fue tras la II Guerra Mundial que la IA se empezó a desarrollar en casi todo el mundo.

Además de aportar ventajas higiénicas, la IA permite:

- aparear en cualquier lugar y tiempo animales reproductores seleccionados específicamente,
- desarrollar eficientes técnicas de conservación del espermatozoides.
- Aumentar el número de descendientes de los reproductores.
- Selección y progreso zootécnico
- Ventajas económicas al ahorrar sementales.

La utilización de la IA depende de la especie, por ejemplo, en bovinos lecheros, la IA es esencial, sin embargo, en la reproducción ovina es menos utilizada.

Existen cuatro métodos para inseminar a las ovejas: el vaginal, pericervical, transcervical, y el intrauterino o laparoscópico.

Inseminación pericervical

Es una técnica considerada fácil, en la cual se utiliza semen fresco. El semen es colocado en la entrada del cérvix, utilizando un espéculo y una fuente de luz. Sin embargo se debe ser cuidadoso pues al lastimar el canal cervical se podría reducir la fertilidad (Lightfoot y Salamon, 1970; Anderson et al., 1973).

Inseminación transcervical

Es una técnica en la cual se utiliza una pinza para fijar uno de los labios de la entrada de la vagina y poder así traspasar el cérvix con un dispositivo y colocar el semen. Con esta técnica se han obtenido hasta un 64 % de preñez al depositar el semen en el útero (Nuñez et al., 2000).

Inseminación intrauterina: Por medio de esta técnica, el semen es depositado en los cuernos uterinos, para esto, es necesario realizar una laparatomía

medio-ventral con la ayuda de un laparoscopio (Killen y Moor, 1970 y Killen y Caffery, 1982).

Métodos de Diagnóstico de Gestación

La detección temprana de la preñez es considerada de valor económico para la industria ovina. Las hembras adultas no preñadas pueden ser eliminadas, reduciendo el gasto en alimentación, y las corderas no preñadas pueden ser vendidas alcanzando precios más altos que cuando sean adultas (Gearhart *et al.*, 1988). Varios métodos han sido usados para el diagnóstico de preñez en ovejas. Estos pueden ser clasificados en prácticas simples como no retorno al estro, palpación abdominal, palpación de la arteria uterina, y métodos más sofisticados como radiografía, determinación hormonal, determinación de proteínas de la preñez y ultrasonografía (Karen *et al.*, 2001).

Radiográfico: Es una técnica muy eficaz, logrando 100 y 90% de eficacia para el diagnóstico de preñez y determinación del número de fetos, después de 70 d de gestación, respectivamente. (Ford *et al.* 1963) Además es una técnica rápida; 400 a 600 animales pueden ser examinados en condiciones de campo. El costo del equipo y el potencial de dañar la salud del operador pueden limitar su uso en el campo (West, 1986).

Palpación abdominal rectal: La preñez es diagnosticada insertando gentilmente una barra de vidrio (1.5 cm de diámetro y 50 cm de largo) lubricada dentro del recto de la oveja paralela a su dorso. La mano libre es apoyada en la región ventral del abdomen mientras la barra es manipulada con la otra mano (Hulet, 1972). Esta técnica tiene mayor eficiencia (100%) a partir de los 85 a los 109 d

después del servicio (Hulet, 1972; Chauhan *et al.*, 1991. La ventaja de esta técnica es que es simple, barata y rápida (150 hembras pueden ser examinadas por h). sin embargo, sus desventajas son que tiene una baja eficiencia en el diagnóstico de preñez múltiple y es muy peligrosa respecto a lesiones rectales (Tyrrell y Plant, 1979) y aborto (Turner y Hidson, 1975; Ishwar 1995).

Inmunodiagnóstico

La medición de la concentración de P4 en sangre es un indicador real de un CL funcional. La concentración de P4 en plasma puede ser determinada en ovejas a partir del día 18 después del servicio utilizando inmunoensayo enzimático (EIA) y radioinmunoensayo enzimático (RIA) con alta confiabilidad (Amezcuza-Moreno, 1988; Susmel y Piasentier, 1992; Gvozdic y Ivkov, 1994).

Ultrasonografía. El modo de tiempo real B es una técnica aguda, rápida, segura y práctica en el diagnóstico de preñez. Determinando el número de fetos y estimando la edad de gestación (Karen *et al.*, 2001). Los resultados de la ultrasonografía abdominal dependen de la experiencia del operador para determinar gestación simple o múltiple (White *et al.*, 1984).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del Área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en el Centro de Reproducción Ovina del Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali B.C. México. Con dirección en Km 3.5 carretera a San Felipe, Fraccionamiento Laguna Campestre. Y ubicación geográfica de 32°24'27.71" Latitud Norte y 115°23'03.68" Longitud Oeste. El clima es de tipo desértico, donde el mes más frío es enero, con una temperatura mínima promedio de -1.66 °C y 13 °C de temperatura media siendo julio el mes más cálido con una temperatura máxima, mínima y promedio de 45, 20 y 33 °C respectivamente. La temperatura media anual es de 22 °C (INEGI, 2010).

Unidades Experimentales

Para el experimento se utilizaron 72 hembras pertenecientes a la cruce de las razas Kathadin y Dorper. Dichas hembras fueron seleccionadas según su condición corporal, número de partos y edad. Se formaron 4 grupos aleatoriamente quedando de la siguiente manera: T₁ n=17; T₂ n=19; T₃ n=20; T₄ n=16.

Alojamiento

A cada grupo se le asignó un corral con un área de 72m² (6 m por 12 m). Los corrales cuentan con un bebedero automático compartido, y comederos

lineales de banquetta de concreto de 220 psi. La sombra tiene una altura de 3.20m y 6 m de ancho.

Alimentación

Todas las hembras fueron alimentadas con alfalfa (*Medicago sativa*) y sudán (*Sorghum sudanese*). El forraje se molió con tamiz de una pulgada. Sirviéndoseles dos veces al día la cantidad correspondiente al 3% de su peso vivo. También disponían de un bloque de sal y minerales Ca:P relación 3:1 por corral. La composición de la dieta se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1: Composición de la dieta

Composición de la dieta		Análisis de la dieta		Requerimientos	
Ingrediente	%	TND	1,110 (kg)	TND	1.5 (kg)
Alfalfa	75	CP	.318 (kg)	CP	.263 (kg)
Sudan	25	CA	.029 (kg)	CA	.008(kg)
Total	100	P	.005 (kg)	P	.004 (kg)

(TND) total de nutrientes digestibles, (CP) proteína cruda, (CA) calcio, (P) fosforo

Manejo

Quince días antes del inicio del protocolo de sincronización, las hembras fueron despezuñadas, vitaminadas y desparasitadas con ivermectina 1ml por cada 50 kg de peso.

Protocolo de Sincronización

El protocolo utilizado consistió en la aplicación de CIDR para ovicaprino marca Pfizer con 0.3 g de Progesterona. El dispositivo fue colocado el mismo día para todas las hembras y el tiempo de retiro fue: T_1 se les retiró el dispositivo el día 10, para el T_2 fue el día 11, para T_3 el día 12, y para T_4 el día 13.

Al momento de retirar el CIDR se les administró 300 UI de eCG Intramuscular y 48 horas después, se realizó la inseminación.

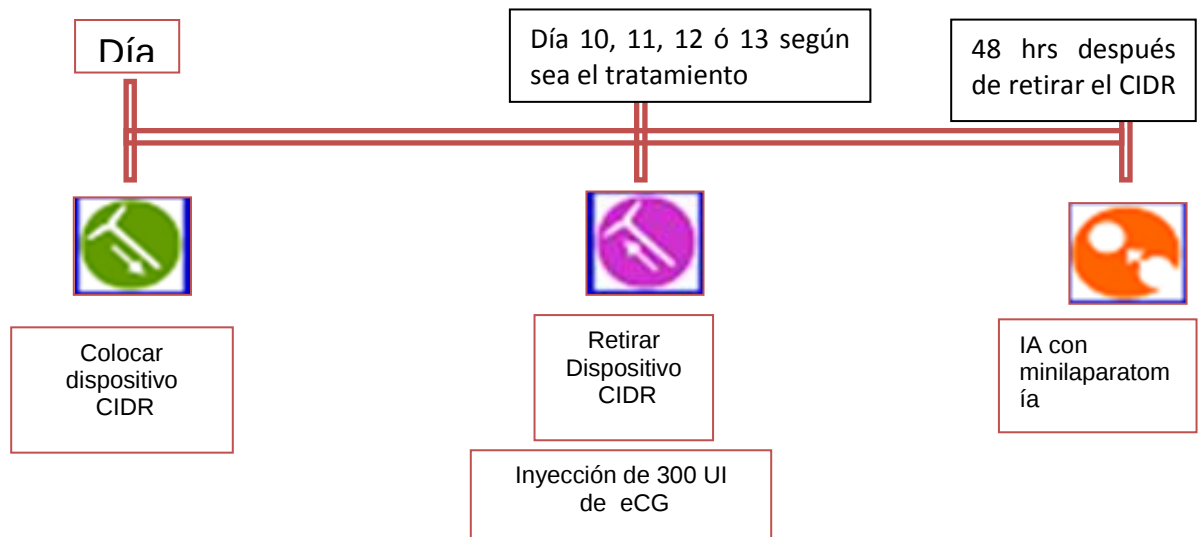


Tabla 2:

Tratamiento	Día de colocación de CIDR	Día de retiro de CIDR	Día de aplicación de eCG	Día de inseminación
T ₁	0	10	10	11
T ₂	0	11	11	12
T ₃	0	12	12	13
T ₄	0	13	13	14

Inseminación

Para la inseminación, las hembras estuvieron en ayuno de agua y alimento 12 horas antes del procedimiento. El grupo fue llevado a un corral de manejo, donde fueron tranquilizadas con xilacina (0.3mg/kg) administrada intramuscularmente. Posteriormente, se colocaba a la hembra en una camilla en posición de decúbito dorsal en un ángulo de 45° hecha especialmente para este tipo de procedimiento, la cual permite la inmovilización del animal en posición reclinada dorsal, con la cabeza hacia abajo y las extremidades traseras sujetadas con una soga, para evitar movimientos involuntarios. Después de sujetar a la hembra a la camilla lo primero que se hizo fue lavar la

zona con jabón quirúrgico y rasurar con rastrillos marca BIC a unos 3cm de la ubre. Una vez rasurada la zona se aplicó lidocaína sin epinefrina al 2% como anestésico local de lado izquierdo y derecho de la línea media, administrando 2 ml por sitio de punción. El Dr. Víctor Manuel González Vizcarra realizó todas las cirugías, haciendo una incisión en la piel de 3 cm con una hoja de bisturí, a 3 cm de la base de la ubre al lado izquierdo o derecho de la línea media. Esta primera incisión se realizó con mucho cuidado para evitar perforar alguna vena. Posteriormente, se realizó una punción con un trocar de 7mm hasta alcanzar la cavidad abdominal.

Se localizaron los cuernos uterinos y con una pinza Foerster y se extrajeron fuera de la cavidad abdominal, la inseminación se realizó inyectando en el tercio medio y en dorsal del cuerpo uterino depositándose la mitad de la dosis de semen en cada cuerno.

El semen congelado que se utilizó provenía del Rancho la Reforma, Monterrey, N.L. de sementales de la raza Dorper que se encontraba almacenado en un tanque de nitrógeno líquido a -196°C .

Al momento de la inseminación se sacaba una pajilla del termo de nitrógeno líquido con una pinza, rápidamente se coloca en el termo descongelador con agua a una temperatura de 37°C , se dejaba descongelar por 30 segundos, se sacaba la pajilla del termo evitando la luz directa, se secaba y se cortaba el extremo donde estaba sellada. Luego se colocaba en un instrumento construido especialmente para este procedimiento, por lo que

no se puede describir y finalmente se procedía a inyectar media dosis de la pajilla en cada cuerno uterino.

Se introducían nuevamente los cuernos a la cavidad abdominal, y se suturaba la pared muscular y la piel. Posteriormente el área era desinfectada y por último se les aplicaba una inyección intramuscular de antibiótico. Finalmente, la hembra era regresada a su corral y se les ofrecía agua y alimento.

Se formó un grupo con las hembras que perdieron el CIDR, a éstas se les introdujo el semental a partir del día 14 de marzo.

RESULTADOS Y DISCUSION

La tasa de parición de acuerdo al tiempo de permanencia de la fuente exógena de P₄ fue para; 10 d = 62.5%, 11 d = 43.7%, 12 d = 73.3% y para 13 d = 46.1%, teniendo mayor porcentaje de preñez el T₃ y siguiendo el T₁. Para evaluar los resultados del experimento se utilizó el estadístico de prueba Chi cuadrada (X²) del paquete estadístico SAS 9.3. Con el cual los resultados obtenidos en el experimento de permanencia de los días del CIDR fueron que con un $\alpha = 0.05$

no hay diferencia significativa de preñez.

Molina et al. (2005) utilizó CIDR por 12 días, y reportó un 78.8% de gestación solo con CIDR, 77.8 % con CIDR aplicando dos dosis de prostaglandina en ausencia de CL, y 83.3% con CIDR aplicando dos dosis de prostaglandina en presencia de CL, todo esto con monta natural. Dichos resultados son superiores a los del presente trabajo, pero tomemos en cuenta que ellos utilizaron la monta natural. Martínez et al. (2006) reportó que utilizando CIDR y monta natural, CIDR + 150 UI eCG con IA por laparoscopia y CIDR + 300 UI eCG con IA por laparoscopia obtuvo 40%, 40% y 46% de gestación, este último resultado coincide con el obtenido en el T₄ del presente trabajo. Sin embargo, no se menciona cual es el tiempo de permanencia del CIDR.

Mellisho et al. (2006) utilizó esponjas intravaginales por 13 días y administro 300 UI de eCG en primíparas y en multíparas, obteniendo 71.4% y 64.7% de gestación respectivamente por medio de inseminación laparoscópica. Estos

resultados son cercanos a los reportados en el presente trabajo con el $T_3 = 73.33\%$. Uribe et al. (2008) utilizaron CIDR durante 12 d + 500 UI eCG y CIDR durante 14 d + 500 UI eCG, pero reportan tasa de ovulación y niveles hormonales pero no porcentaje de preñez.

En otro experimento Catacora et al. (2012) aplicó CIDR por 7 días, CIDR por 12 días + 1mg de ecp, CIDR por 12 días y CIDR por 14 días, observando 42.86%, 0%, 38.46% y 21.46% de gestación a los 46 días y 38.6%, 0%, 28.46% y 7.14% a los 90 días. Estos resultados son menores a los reportados en el presente trabajo.

CONCLUSIONES

Se concluye que la utilización de protocolos de sincronización de estro con fuente exógena de P_4 mas la aplicación de 300 UI de eCG el día de retiro del dispositivo para Inseminar artificialmente por minilaparatomía utilizando semen congelado, es de suma importancia ya que de acuerdo con los resultados obtenidos bajo las condiciones en que se condujo este experimento, al utilizar una fuente exógena de P_4 por 10 y 12 días se logra el mejor porcentaje de parición, pues se obtuvo 62.5 % y 73.3 % respectivamente.

Días de permanencia	Preñez de IA	Preñez de MN	total
10	10 16.67 62.50 29.41	6 10 37.5 23.08	16 26.67
11	7 11.67 43.75 20.59	9 15 56.25 34.62	16 26.67
12	11 18.33 73.33 32.35	4 6.67 26.67 15.38	15 25
13	6 10 46.15 17.65	7 11.67 53.85 26.92	13 21.67

LITERATURA CITADA

- Ainsworth, L., y M. S. Wolynetz. 1982. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestagens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pressary. *J. Anim. Sci.* 54:1120-7.
- Amezcu-Moreno, M. D. R. 1988. Pregnancy diagnosis in ewes by means of the determining of blood progesterone concentration on day 18 after insemination using enzyme immunoassay. *Vet. Mexico.* 19:386.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, y N. C. Rawlings. 1999. Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. *Anim. Reprod. Sci.* 57:67-88.
- Boscós, C.M., F.C. Samartzi, S. Dellis, A. Rogge, A. Stefanakis, y E. Krombovitis. 2002. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology.* 58:1261-1272.
- Brebion, P., G. Baril, y P. Chesné. 1995. Manual de formación práctica para el trasplante de embriones en ovejas y cabras. Autor corporativo ONU-FAO. Ed. FAO. Roma, Italia, p. 1-68.
- Baril, G. V., J. Freitas, y J. Saumande. 1998. Progestagen-treatments for the induction/synchronization of oestrus in goats: update on recent research. *Revue. Med. Vet.* 149:359-366.
- Chauhan, F.S., U.K. Sandabe y E. O. Oyedipe. 1991. Predicting number of fetus in small ruminants. *Indian Vet. J.* 68:751-754.
- Chemineau, P. 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrus cycles in anovulatory goats-a review. *Livest. Prod. Sci.* 17:135-147.
- Dominguez, F.C., J.C. Tejerino, R.J. Miró y R.M. Carbajo. 1988. Inducción y sincronización de celos durante el anestro estacionario en la oveja Ripollés mejorada, mediante esponjas vaginales (FGA) y PMSG inyectable. *Facultad de Veterinaria de León.* XXXIV: 77-87.
- Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology.* 55:1211-1239.
- Duggavathi, R., P. M Bartlewski, D. M. W. Barrett, y N. C. Rawlings. 2003. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of

small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology*. 60:495-510.

Evans, G. y W.M.C. Maxwell. 1990. Inseminación artificial de ovejas y cabras. *Acribia*. España pp: 66-67.

Ginther, O. J., K. Kot, y M. C. Wiltbank. 1995. Association between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the oestrus cycles ewes. *Theriogenology*. 43:689-703.

Gonzalez, T. 1980. Uso de hormonas exógenas en la reproducción ovina. Tesis de Lic. FMVZ. UNAM. México pp: 13-15.

Gvozdic, D., y V. Ivkov. 1994. Early pregnancy diagnosis in ewes. *Acta Vet*. 44:215-219.

Hafez, E. S. E., y B. Hafez. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª Ed. McGraw Hill Interamericana editors.

Hullet, C.V. Determining foetal numbers in pregnant ewes. 1973. *J. Anim. Sci*. 36:325-330.

Iglesias, R., R. M. R., N. H. Ciccioli, y H. Irazoqui. 1997. Ram induced reproduction in seasonally anovular Corriedale ewes: MAP doses for oestrus induction, ram percentages and post-mating progestagen supplementation. *Anim. Sci*. 64:119-125.

Ishwar, A. K. 1995. Pregnancy diagnosis in sheep and goat: A review. *Small Rumin. Res*. 17:37-44.

Killen, I.D., Caffery, G. y Holt N. 1982. Fertility of ewes following intrauterine insemination with the aid of a laparoscope. *Proc. Austr. Soc. Reprod. Biol*. 14:104.

Ko, J. C. H., J. P. Kastelic, M. R. Del Campo, y O. J. Ginther. 1991. Effects a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifer. *J. Reprod. Fertil*. 91:511-519.

Lassoued, N., G. Khaldi, Y. Cognie, P. Chemineau, y J. Thimonier. 1995. Effect of progesterone on ovulation rate and oestrus cycle length induced by the male effect in the Barbarine ewe and Tunisian local goat. *Reprod. Nutr. Dev*. 35:415-426.

Laster, D.B., y H. A. Glimp. 1974. Influence of breed in response to exogenous hormones in estrus and anestrus ewes. *J. Anim. Sci*. 39: 1129,

- Letelier, C.A., Contreras-solis, I, García-Fernandez, R.A., Ariznavarreta, C., Tresguerres, J.A.F., Flores, J.M. et al. 2009. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentration are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology*, v.71, p.676-682.
- Mancilla, D. 1993. Eficiencia reproductiva tres meses posparto en dos épocas de parición. 6° Congreso Nac. De Prod. Ovina. San Luis Potosí, México pp: 123-125.
- Martin, G. B., C. M. Oldham, y Y. Cognie, D. T. Pearce. 1986. The physiological response of anovulatory ewes to the introduction of rams- a review. *Livest. Prod. Sci.* 15:219-247.
- Mellado, M., y R. Valdez. 1997. Synchronization of estrus in goats under range conditions treated with different dose of new or recycled norgestomet implants in two seasons. *Ruminant. Res.* 25:155-160.
- Perkins, A., y J. A. Fitzgerald. 1994. The behavioral component of the ram effect: The influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J. Anim. Sci.* 72:51-55.
- Picton, H. M., C. G. Tsonis, y A. S. McNelly. 1990. Causes a time dependent stimulation of preovulatory follicular growth in the absence of pulsatile LH secretion in ewes chronically treated with gonadotrophin-releasing Hormone Agonist. 126:297-307.
- Rajamahendran J., J. Raniowski, V. Ravindran. 1993. Effects of PMSG and ram contact on the reproductive performance of progestagen-treated ewes during breeding and anestrous season. *Small Ruminant Research.*, 10 pp. 341-347.
- Ryan, J. P., J. R. Hunton, y W. M. C. Maxwell. 1992. Time of ovulation in Merino ewes superovulated with PMSG and FSH-P. *Reprod. Fertil. Dev.* 4:91-97.
- Salomon, S. 1990. Inseminación Artificial en Ovejas y Cabras. Madrid España. Edit. Acribia pp.41-51, 64-73.
- Salomon, S y R.J. Lightfoot. 1970. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. The effects of insemination technique, oxytocin and relaxin on lambing. *Journal Reproduction and Fertility.* 22:409-423.
- Scott, I.C., P.D. Johnstone. 1994. Variations between years in the ram effect when Coopworth or poll Dorset rams are introduced to seasonally anovular Coopworth ewes. *J. Agric. Res.* 37:187-193.

- Susmel, P., y E. Piasentier. 1992. Assesment of pregnancy in Bergamasca ewes by analysis of plasma progesterone. *Small Rumin. Res.* 8:325-332.
- Ungerfeld, R. 2002. Reproduccion en los Animales Domesticos. Montevideo, Uruguay. Edit. Melibea pp: 305-319.
- Vallet J. C. y Baril G. 1990. Effect of time of laparoscopic intrauterine insemination in superovulated dairy goats. 6th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association, Lyon, France. 1:188
- Walkden-Brown, S.W., B.J. Restall, y Henniawati. 1993. The male effect in the Australian Cashmere goat. Ovarian and behavioural response of seasonally anovulatory does following the introduction of bucks. *Anim. Reprod. Sci.* 32:41-53.
- West, D.M. 1986. Pregnancy diagnosis in the ewe. Current therapy in Theriogenology. Ed. Phila-delphia.
- White, I. R., A. J. F. Russel y D.G. Fowler. 1984. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. *Vet. Rec.* 115:140-143.
- Wiltbank, J.N., Sturges, J.C., Wideman, D., LeFever, D.G. and Favikner, L.C. Control of estrus and ovulation using subcutaneous implants and estrogens in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 33: 600-606. 1971.
- Wildeus, S. 1999. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. symposium. Disponible: <http://www.asas.org/JAS/symposia/proceedings>. consultado el 30 de mayo de 2006.
- Edwin Mellisho S.1,2; René Pinazo H.1; Lilia Chauca F.3; Próspero Cabrera V.1 y Victoria Rivas P.4”” (2006). Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas Black Belly con semen congelado. “Rev. investig. vet. Perú v.17 n.2 Lima jul./dic 2006.
- Catacora, N.L.(*); M.G. Perez; E.A. Condori. (2012). “EFECTIVIDAD DE PROGRAMAS DE SINCRONIZACION DE CELO SOBRE LA TASA DE PREÑEZ Y NATALIDAD EN BORREGAS CRIOLLAS EN ESTACION NO REPRODUCTIVA.” *Spermova* 2012; 2(1): 36 – 37.
- Jaime Jorge Martínez Tinajero, María Teresa, Sánchez Torres Esqueda, Lauro Bucio Alanís, Rolando Rojo Rubio, Germán D. Mendoza Martínez, José Luis Cordero Mora, Octavio Mejía Villanueva. (2006).”EFECTO DE eCG E INSEMINACIÓN LAPAROSCÓPICA SOBRE EL COMPORTAMIENTO

REPRODUCTIVO EN OVEJAS F1 (DAMARA × MERINO)". Revista Científica, FCV-LUZ/ Vol. XVI, N 1, 72-77, 2006.

Uribe-Velásquez, Luis Fernando; Lênz Souza, María Inés; Loaiza Echeverri, Ana María. (2008). Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina-f2a vs CIDR + 500 UI de eCG en ovejas bergamacia durante el inicio de la fase lútea." Rev. cient. (Maracaibo);18(4):368-373, jul.-ago. 2008.

Pedro Molina-Mendoza¹, Teresa Sánchez-Torres-Esqueda¹, Enrique O. García-Flores¹, Antonio Martínez-García¹, Mario Cárdenas-León², Jesús Peralta-Ortiz¹, José L. Cordero-Mora¹, Alejandro Hizarza-Espinoza¹ y Maria E. Ortega-Cerrilla¹.(2005)." MANIPULACIÓN DE LA PRESENCIA DEL CUERPO LÚTEO EN LA SINCRONIZACIÓN DE ESTRO EN OVEJAS DORSET". VOLUMEN 39, NÚMERO 1, 2005.

LF Uribe-Velásqueza*, E Obab, MIL Souzac. (2008)."Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización" Arch Med Vet 40, 83-88 (2008).

Martínez T. J.J., et al. Efecto de eCG e inseminación laparoscopica sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (Damara x Merino). Revista Científica, FCV-LUZ, vol. XVI No. 1, 72-77. 2006. Maracaibo, Venezuela.

Uribe-Velasquez L.F., et al. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina F2 alfa contra CIDR + 500 UI de eCG en ovejas Bergamacia durante el inicio de la fase luteal.Revista científica, FCV-LUZ, vol. XVIII, No. 4 368-373. 2008. Colombia.

Rangel, S. y Vivanco, H. 1993. Efecto de dosis, tiempo de administración y fuente de PMSG en ovejas Romney Marsh tratadas en anestro. Memorias de la XII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Santiago de Chile. Pp. 78-79.