



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**TESINA
“TECNOLOGIAS REPRODUCTIVAS EN OVINOS.**

**(-SINCRONIZACION DE CELO, INSEMINACION ARTIFICIAL Y
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES)”**

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA

JUAN CARLOS RANGEL PACHECO

PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR

DR. RODOLFO LUCIO DOMINGUEZ

MORELIA, MICHOACAN; DICIEMBRE DE 2007



AGRADECIMIENTOS.

A DIOS.

Por que en todo momento he sentido su presencia me ha dado la fortaleza necesaria para salir adelante en las metas que me he propuesto. ¡Gracias! por darme un momento más de vida para culminar mi carrera.

A MIS PADRES ROBERTO Y MARIA.

Les agradezco por su amor infinito, sacrificio y comprensión. Papas ¡¡¡Gracias!!! Por ser mi inspiración en esta carrera y brindarme apoyo incondicional, ya que sin ustedes no estaría concluyendo esta etapa de mi vida, y que con ayuda de su fortaleza y fe he logrado concluir mis estudios.

"Los amo"

A MIS HERMANOS CHUCHO Y JOSE ROBERTO.

Les agradezco por su apoyo, por que siempre he sentido su cariño ante todo y por formar parte de mi vida "Los quiero mucho".

A MI UNIVERSIDAD Y MAESTROS.

Por su sabiduría y por compartir sus experiencias y vivencias que expusieron para desarrollar en nosotros el espíritu de esta hermosa carrera

Gracias.
Juan Carlos Rangel Pacheco.

INDICE.

I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
2.1.2 ANTECEDENTES	2
2.2 Ciclo estral	6
2.2.1 Fase folicular	6
2.2.2 Fase lútea	7
2.3 Fisiología del ciclo estral	8
2.3.1 Proestro	9
2.3.2 Estro	9
2.3.3 Metaestro	11
2.3.4 Diestro	12
2.4 Estacionalidad reproductiva de la oveja	13
2.5 Métodos de sincronización del ciclo estral	15
2.5.1 Farmacológicos	16
2.5.2 Progestágeno	16
2.5.3 Prostaglandinas	21
2.5.4 Naturales	22
2.6 Factores que afectan en reproducción	24
2.7 Detección de celo	26
2.8 Preparación de los machos celadores	27
2.9 Inseminación artificial	29
2.9.1 Métodos de inseminación	30
2.9.2 Inseminación vaginal	31
2.9.3 Inseminación cervical	32
2.9.4 Inseminación intrauterina	35
2.10 Momento de la inseminación en estro sincronizado	37
2.10.1 Tiempo de inseminación con estro natural	38
2.11 Transferencia embrionaria	38
2.12 Colecta de embriones	40

2.13 Técnicas de colecta de embriones	40
2.13.1 Técnica quirúrgica	40
2.13.2 Técnica no quirúrgica o laparoscopia	40
2.14 Búsqueda de embriones	41
2.15 Congelación de embriones (CE)	42
2.16 Producción de embriones in vitro	43
2.16.1 Multiplicación de embriones	43
2.16.2 Bisección o división de embriones	43
III CONCLUSIONES	44
IV BIBLIOGRAFÍA	45

INDICE FOTOGRAFICO

Figura 1 Criadero de ovinos Dorper los Encinos Lagos de Morenos, Jal	2
Figura 2 Hembra Dorper Blanca campeona nacional	3
Figura 3 Criadero Quiterio mostrando hembra f1 dorper x pelibuey	3
Figura 4 Recolección de semen para inseminación artificial.	5
Figura 5 Hembras pelibuey esta raza no muestra estacionalidad	6
Figura 6 Machos pelibuey derecha, crías y hembras izquierdas.	13
Figura 7 Macho mostrando su efecto sobre las hembras	23
Figura 8 Factores que afectan los animales en la granja.	25
Figura 9 Macho marcador, detector de celo	26
Figura 10 Macho el cual preparan para ponerle delantal	27
Figura 11 Preparación quirúrgica del carnero, para actuar como marcador	28
Figura 12 Inseminación en ovinos	30
Figura 13 Contenedor de semen	34
Figura 14 Laparoscopia enfocada a la transferencia embrionaria	36
Figura 15 Embrión ovino, empezando a ser tratado para replicación.	39
Figura 16 Transferencia embrionaria por Laparoscopia	40
Figura 17 Transferencia embrionaria en ovinos	41
Figura 18 Embrión Ovino listo para replicación	43

1. INTRODUCCION.

La ovinocultura mexicana en los últimos años ha mostrado una dinámica interesante que ha motivado a muchos productores a participar en ella. Por lo anterior, es importante conocer el entorno nacional y mundial de esta actividad con el propósito de hacer una planeación adecuada de las inversiones y explotaciones, buscando reducir el impacto del mercado globalizado y obtener resultados favorables evitando fracasos que son comunes cuando se invierte sin tener conocimiento de la problemática que se enfrentará(Espinosa et al., 2004,)

La producción nacional de carne de ovino (por 25 mil 400 animales) no es suficiente para cubrir en su totalidad la demanda interna (de 76 mil toneladas). Por ello, el coeficiente de dependencia alimentaría se ubica en el orden de 2 por cada 3 kg de carne consumidos en el país. Así, la ovinocultura es la actividad pecuaria con la menor capacidad nacional de abasto. Además, el atraso tecnológico en el que se encuentra se traduce en la obtención de apenas 0.6 corderos por oveja al año, en tanto que la tasa de extracción anual es de apenas 22 por ciento (Espinosa et al.,2004)

En la zona centro del país se encuentran los estados de mayor importancia en la producción de carne de ovina, formada principalmente por los estados de México, Hidalgo, Michoacán y Guanajuato , que constituyen el 80% del total de carne en el país (Córdova et al., 1999).

Para aplicar tecnologías reproductivas y tecnologías económicamente factibles es necesario aumentar la producción de los derivados de los ovinos a través de técnicas reproductivas que tengan como fin el mejoramiento genético controlado y sea eficiente (Devincenzi et al., 2004)

El objetivo del trabajo es realizar una indagación documental para hacer énfasis del adecuado uso de las tecnologías reproductivas más importantes en ovinos.

II REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.

2.1 ANTECEDENTES

Existe información, donde se ha comprobado que las tecnologías reproductivas en ovinos utilizando como base la sincronización del estro, permite además de mejorar la fertilidad en las explotaciones ovinas; acortar el periodo reproductivo, controlar la fecha de parto y uniformar la edad de los corderos. (León *et al.*, 2003).



*Fig 1 Criadero de ovinos Dorper los Encinos
Lagos de Morenos, Jal.*

Esto Implica la manipulación de los eventos hormonales que ocurren durante un ciclo estral normal, con la finalidad de tener un gran porcentaje de las hembras tratadas en un tiempo determinado. Las cuales pueden ser inseminadas artificialmente, transferidas embrionariamente o servidas por monta natural al momento de manifestar el estro, con la intención de que la mayor parte de las hembras tratadas queden gestantes (Calderón, 2006).

Los tratamientos hormonales para inducir la ovulación múltiple (OM) y la transferencia de embriones (TE), permiten utilizar de manera intensiva a las hembras genéticamente superiores, en forma similar al aprovechamiento que se realiza con los machos por medio de la inseminación artificial.



Fig 2 Hembra Dorper Blanca campeona nacional. (2005)

Algunas ovejas presentan una reproducción estacional, lo cual significa que su reproducción no tiene lugar de manera continua en ciclos de 17 días, sino que existen épocas de inactividad llamadas anestro estacional logrando que se obtengan hasta 3 partos en 2 años (Córdova et al., 1999).



Fig 3 Criadero Quiteria, Michoacán mostrando hembra f1 dorper x pelibuey

Los progestágenos, constituyen un grupo de hormonas esteroides que se caracterizan por ser liposolubles, termoestables y que además no se inactivan por vía digestiva. Estas propiedades permiten administrarlas por vía oral; a través de la mucosa vaginal o en implantes subcutáneos de liberación controlada.

Dentro de este grupo de hormonas se encuentra la progesterona, la cual es un progestágeno natural, y los progestágenos sintéticos como el acetato de melengestrol (MGA), acetato de fluorogestona (FGA) y Norgestomet (Armenta 2003).

Los progestágenos sintéticos se aplican en diferentes periodos del ciclo estral, su eficacia se incrementa al utilizarse en combinación con otras hormonas como las gonadotropinas extrahipófisiarias tales como la gonadotropina coriónica humana (hCG), y la gonadotropina coriónica equina (eCG) que ejercen una actividad de FSH y LH (Córdova et al., 1999).

Otra Practica común en la sincronización de celos en ovinos, es la utilización de un agente luteolítico como la $\text{PGF}_{2\alpha}$ al iniciar el tratamiento con progestágenos.

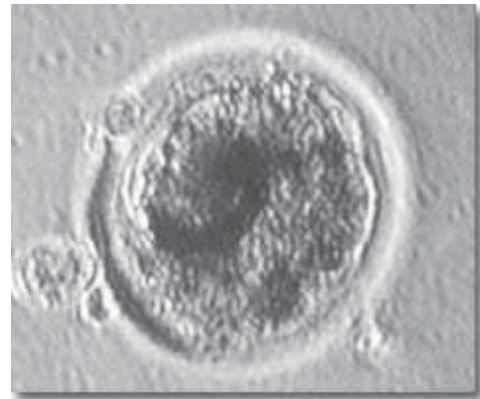
Estos resultados hacen suponer que la aplicación del agente luteolítico es efectiva; sin embargo, es posible que al momento de retirar la fuente de progesterona, exista un cuerpo lúteo natural activo que reduzca la presentación de celos en ovejas tratadas, siendo posible incrementar este porcentaje con la utilización de $\text{PGF}_{2\alpha}$ al final del tratamiento con Acetato de Fluorogestona (Orozco et al., 2005).

La inseminación artificial es una técnica por la cual, el semen de los machos es depositado artificialmente en el tracto reproductivo de las hembras para producir la fecundación de los óvulos maduros. Incrementa notablemente el aprovechamiento de un semental, al permitir obtener un gran número de crías del mismo padre. Esto es posible debido a que mediante un adecuado **proceso** de dilución, se obtiene un número importante de dosis por eyaculado.



Fig 4 Recolección de semen para inseminación artificial.

El transplante de embriones es un método de reproducción artificial basado en la transferencia de embriones producidos por una hembra donante (madre genéticamente superior) a hembras receptoras (madres portadoras) que lo gestan hasta su nacimiento.



A comienzos de la estación reproductiva, las ovejas presentan generalmente una primera ovulación, no acompañada por su comportamiento sexual característico, debido a la ausencia de un cuerpo lúteo previo. En algunos animales se presentan celos de una duración más corta que lo normal como consecuencia de una regresión prematura del cuerpo lúteo. Por ambos motivos el lapso de tiempo transcurrido entre los primeros celos que se manifiestan el inicio de la estación de cría es variable. (Córdova et al., 1999).

El ciclo estral se puede dividir en 2 fases: folicular y lútea. La fase folicular es relativamente corta (3-4 días), mientras que la fase lútea ocupa el resto del ciclo (Gibbons y Cuento, 2004).

2.2 Ciclo estral

Las hembras adultas de muchas especies de mamíferos experimentan una serie repetida de cambios ováricos, especialmente en lo referente a la secreción de hormonas esteroides, que influyen en el aparato reproductor y en la conducta sexual del animal. Este ciclo de fenómenos endocrinos en el ovario se manifiesta en el ciclo estral de casi todos los mamíferos.



Fig 5 Hembras pelibuey esta raza que no muestra estacionalidad.

Las ovejas exhiben estro, o calores a intervalos regulares durante la estación reproductora. El estro es el periodo fértil y si la hembra no concibe, se repite cada 16-17 días en la mayoría de las ovejas (14-19 días). En los animales más jóvenes este intervalo puede ser de 1-2 días menor. La cadena de acontecimientos que se repiten y conducen los periodos estrales regulares reciben el nombre de ciclo estral (Salomón, 1990).

2.2.1 Fase folicular

El crecimiento folicular se encuentra bajo el control de las dos gonadotropinas liberadas en la hipófisis, llamadas hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). La FSH estimula el crecimiento temprano de los folículos y la LH es necesaria para completar las últimas fases del crecimiento. Además de provocar el crecimiento folicular, las gonadotropinas hacen que el folículo secreta hormonas sexuales femeninas, estrógenos, que se liberan al torrente circulatorio.

Los folículos de Graff producen cantidades, relativamente grandes de estrógenos en la sangre, retrofuciona en la hipófisis, teniendo un efecto inhibitorio sobre la secreción de gonadotropinas. Esto colabora para evitar un estímulo excesivo a los ovarios. Sin embargo, cuando el nivel de estrógenos es lo suficientemente alto se dispara la oleada de LH que produce cambios en la pared del folículo que conducen a la ruptura y liberación del folículo. La oleada de LH también es la responsable de la maduración meiótica del ovocito es decir la conservación de un ovocito primario en ovocito secundario.

Los estrógenos circulantes en el torrente sanguíneo durante la fase folicular ,son los responsables de la inducción del comportamiento estral en las hembras. El nivel de estrógenos en la sangre se eleva y alcanza el máximo justamente antes de la aparición del estro. La oleada preovulatoria de LH ocurre al principio del estro, siguiendo luego, a las 18-24 horas, la ovulación.

Además de los estrógenos, el folículo que madura produce también la hormona inhibida, que selectivamente inhibe la secreción de FSH por parte de la hipófisis. Al limitar la secreción de FSH, la inhibida evita el crecimiento folicular adicional cuando existen folículos de Graff con los que se limita el ritmo de la ovulación (Salomón, 1990).

2.2.2 Fase lútea

Después de la ovulación el folículo de Graff roto, se llena con un coágulo de sangre constituyendo lo que se conoce con el nombre de cuerpo hemorrágico. Por la influencia de la oleada de LH, las células de la granulosa, en la pared del folículo roto, proliferan y se transforman en células luteínicas que subsiguientemente llenan el antro del folículo. A los 4-5 días el cuerpo hemorrágico se transforma en cuerpo amarillo sólido, llamado también cuerpo lúteo, este proceso se conoce con el nombre de luteinización (Salomón, 1990).

El cuerpo lúteo secreta progesterona, hormona sexual femenina que prepara al útero para que acepte a un óvulo fertilizado o embrión. El nivel de progesterona en el torrente sanguíneo alcanza un máximo después de unos 6

días y permanece alto durante la gestación, en caso de que el animal haya concebido; si la hembra no es capaz de concebir, transcurridos unos 11-12 días, el cuerpo lúteo disminuye el tamaño, empalidece (cuerpo albicans) y comienza a descender la secreción de progesterona (Salomón, 1990).

Como los altos niveles de progesterona tienen una influencia inhibitoria sobre la secreción de gonadotropinas hipofisiarias, el crecimiento folicular se encuentra limitado. Al eliminarse esa inhibición al final de la fase lútea aparece una nueva onda de crecimiento folicular y el proceso de un nuevo ciclo (Salomón, 1990).

La inhibición del cuerpo lúteo se debe a la presencia de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ que se producen en el útero, casi al final de la fase lútea. Si el animal queda gestante se suprime la producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ permaneciendo activo el cuerpo lúteo. Se ha utilizado prostaglandina sintética para destruir prematuramente el cuerpo lúteo, durante el ciclo estral. Este tratamiento, al que indefectiblemente sigue una ola de crecimiento folicular, puede ser utilizado para sincronizar el estro y la ovulación (Salomón, 1990).

2.3 Fisiología del ciclo estral

Las hembras de los animales domésticos entran en celo a intervalos regulares bastante precisos, pero con diferencia entre las especies. El intervalo entre el comienzo de un periodo de celo hasta el comienzo del siguiente se llama ciclo estral. Se regula de manera directa por la acción de hormonas del ovario y de forma directa por otras secretadas por el lóbulo anterior de la hipófisis. El ciclo se divide en las fases llamadas proestro, estro, metaestro y diestro (Frandsen, 1995).

2.3.1 Proestro

El proestro empieza con la regresión del cuerpo lúteo y la caída de los niveles de progesterona y se prolonga hasta el inicio del estro. La principal característica que distingue al proestro es el rápido crecimiento folicular. Los efectos de los estrógenos se pueden observar en la parte final de este periodo en el sistema de conductos y en el comportamiento de acercamiento al estro (Bearden y Fuquay, 1982).

Bajo el estímulo de la FSH y de la LH de la adenohipófisis, el ovario produce cantidades crecientes de estrógenos que provocan aumentos de tamaño de útero, vagina y folículos ováricos. Esta primera fase estral es de “preparación”, durante esta fase el folículo, con su óvulo, aumentan de tamaño principalmente por existir más líquido cargado de estrógenos en su interior.

Los estrógenos, absorbidos desde los folículos circulantes en la sangre estimulan la creciente vascularización y el crecimiento celular de los genitales, como preparación del estro y la gestación subsecuente (Frandsen, 1995).

2.3.2 Estro

El estro es el periodo del ciclo estral durante el cual la hembra manifiesta un comportamiento de actividad sexual, siendo el único tiempo en que aceptará al macho. El estro ocurre entre la mitad y el final de la fase folicular del ciclo. Los estrógenos secretados por los grandes folículos son los responsables de los cambios anatómicos y de comportamiento relacionados con el estro (Salomón, 1990). El estro, como periodo de receptividad sexual, es regulado por la concentración elevada de estrógeno, que también estimula la liberación de LH. El estro es concomitante con la fase folicular del ciclo estral cuando la FSH disminuye, debido a la retroalimentación negativa de estrógenos e inhibina.

La disminución de FSH evita la activación de más folículos. Durante el estro, o poco después, hay ovulación como respuesta a concentraciones graduales de LH estimulada por Norgestomet... precisamente antes de la ovulación, el folículo está

grande y turgente, y el óvulo enclaustrado se ve sometido a cambio de maduración.

La ovulación por lo general ocurre 12-24 horas después que el folículo empieza a ablandarse. En la mayor parte de las especies, por lo regular el estro termina cuando ocurre la ovulación. En este momento la FSH se duplica y la LH aumenta 10 veces más, y el ovulo es expulsado del folículo para hacerlo pasar por la parte craneal del conducto uterino (Frandsen, 1995).

Aunque normalmente se considera al macho como agresivo, una hembra en estro persigue al macho y mantiene su atención sobre él. Por lo tanto, a menudo se puede ver un macho con un harem de hembras en estro rodeándole y compitiendo por su atención. De esta forma en macho puede elegir las hembras a montar, con lo que algunas que estén en estro pueden no ser montadas o marcadas por el macho. Las hembras jóvenes que no presentan un estro agresivo pueden pasar inadvertidas en rebaños donde existan hembras adultas (Salomón, 1990).

Durante el estro existe un incremento de flujo sanguíneo y de actividad secretora en las glándulas del útero, cervix y vagina. La vulva y la vagina se encuentran congestionadas. Aparece abundante secreción de moco, que se almacena en la vagina y, ocasionalmente fluye desde la vulva. El tipo y consistencia de moco cambia a lo largo del periodo estral, y esto puede ser utilizado para determinar el estado del estro en relación al tiempo apropiado de inseminación. Al comienzo del estro el moco es claro, después de 12-18 horas es entre claro y opaco y copioso y alas 25-30 horas se hace más espeso y de consistencia cremosa.

La duración del estro en las ovejas varia de 18-72 horas. Este periodo varía con la edad, raza, situación geográfica y contacto con machos. El estro es más corto en los animales jóvenes que en los maduros (Salomón, 1990).

2.3.3 Metaestro

El periodo del metaestro empieza al finalizar el estro y dura alrededor de 3 días. Principalmente es un periodo de formación del cuerpo lúteo. Al finalizar al proestro y en el estro, las grandes concentraciones de estrógenos incrementan la vascularidad del endometrio; esta vascularidad se hace máxima aproximadamente un día después del estro. Al disminuir los niveles de estrógenos puede haber ruptura de vasos sanguíneos capilares, lo que causa una pequeña pérdida de sangre. Esta se notará como una mancha de sangre en la cola, aproximadamente a la 35 o 45 horas después del final del estro (Bearden y Fuquay, 1982).

El metaestro es la fase que sigue de la ovulación, durante la cual el cuerpo lúteo funciona. La duración del metaestro puede depender del tiempo en que la LTH (hormona luteotrófica) es secretada por el lóbulo anterior de la hipófisis; durante este lapso hay disminución del estrógeno y aumento de la progesterona del ovario.

En el curso del metaestro, la cavidad dejada por la ruptura del folículo comienza a reorganizarse; el revestimiento de dicha cavidad crece gracias al aumento de vascularización. Las células que no fueron expulsadas aumentan de tamaño, se multiplican y se cargan de gotitas de grasa. A esta estructura reorganizada se llama cuerpo lúteo, o cuerpo amarillo, cuya secreción, progesterona, evita la nueva evolución de folículos y, por consiguiente, la aparición intempestiva de otros periodos estrales, pues el estro no ocurre en tanto está presente y activo el cuerpo lúteo.

Si ocurre la preñez son necesarias las secreciones de un cuerpo lúteo funcional para la implantación apropiada en el útero del óvulo fecundado, para la nutrición del embrión en desarrollo y para la evolución de los alvéolos de la glándula mamaria. Si el óvulo no es fertilizado ni ocurre la preñez, el cuerpo lúteo involuciona. En la oveja la involución del cuerpo lúteo va seguida de nuevas cantidades de folículos ováricos, que inician un nuevo proestro (Frandsen, 1995).

2.3.4 Diestro

El diestro se caracteriza como el periodo del ciclo donde el cuerpo lúteo es totalmente funcional. En la oveja comprende el día 4 a los días 13, 14 o 15 (Bearden y Fuquay, 1982). En este periodo, aún cuando el animal no quede preñado, el cuerpo amarillo se transforma en un órgano funcional que elabora grandes cantidades de progesterona (y algún estrógeno), que ingresan a la circulación general y afectan el desarrollo de las glándulas mamarias y el crecimiento del útero.

El miometrio se hipertrofia por la influencia de la progesterona y las glándulas uterinas secretan un material viscoso espeso que servirá de nutrición al embrión. En caso de llegar un embrión al útero, el cuerpo amarillo (de gestación()) persistirá durante toda la preñez, desapareciendo completamente, después del parto, permitiendo la reiniciación de los ciclos (Ortega, 2005).

De no ocurrir gestación, el cuerpo lúteo decrece en tamaño, se vuelve pálido y su secreción comienza a decaer. Con el decaimiento del nivel de progesterona sanguínea al final de la fase lútea, se inicia el crecimiento de nuevos folículos.

La secreción de un agente luteolítico, producido por el útero, la prostaglandina $F_{2\alpha}$, liberada por el útero de los 12-13 días, determina la pérdida de la actividad biológica del cuerpo lúteo en las ovejas no gestantes y permite que se inicie de nuevo otra fase folicular. Si la hembra quedase gestante, la concentración persistente de progesterona bloquearía el sistema de control del hipotálamo y por lo tanto el ciclo estral quedaría interrumpido (Cueto y Gibbons, 2000¹).

2.4 Estacionalidad reproductiva de la oveja

La oveja es una especie poliéstrica estacional que tiene un ritmo anual de actividad re productiva regulado por cambios en el feto periodo (Yeates, 1949; Hansen, 1985). Generalmente el pico de la actividad ovárica ocurre durante el otoño pero la duración de la época reproductiva varía ampliamente dependiendo del origen de la raza (Morley, 1948; Hafez, 1953; López, 1989). En regiones cercanas al Ecuador la duración del fotoperiodo varía menos durante el año, por lo que algunos autores han sugerido que los ovinos tropicales pueden reproducirse sin restricciones estacionales a lo largo del año (López, 1989; Mc Dowell 1998).

En México se ha observado que la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey puede disminuir en ciertas épocas del año. Inicialmente algunos autores sugirieron que la reducción estacional en la actividad reproductiva de la oveja pudo deberse a la variación estacional en la cantidad y calidad de los pastos. No obstante, otros estudios han demostrado que aún cuando se mantenga en condiciones de buena alimentación a lo largo del año, la oveja Pelibuey presenta periodos de disminución en la actividad ovárica, que coinciden con los patrones estacionales observados en las razas ovinas de lana, esto último sugirió que existía un efecto directo del fotoperiodo sobre la actividad ovárica en las hembras (Heredia *et al.*, Martínez *et al.*, 1995).



Fig 6 Machos pelibuey derecha, crías y hembras izquierda.

Recientemente, Cerna *et al.*, (2000), concluyeron que la actividad reproductiva y la secreción de melatonina y prolactina en la oveja Pelibuey, son consecuencias de las variaciones que ocurren en el fotoperiodo a 19° 13' latitud Norte, y que bajo condiciones naturales, el fotoperiodo parece ser el principal regulador de la actividad ovárica en las hembras.

Durante el verano, los ovarios de las ovejas en anestro desarrollan folículos y secretan estradiol si reciben estimulación con LH. La actividad folicular cambia durante todo el año en sincronía con los patrones circulantes de secreción de prolactina y la duración del día, pero al parecer las fluctuaciones de prolactina no se relacionan con la estacionalidad del apareamiento en la oveja.

La frecuencia de las descargas de LH dependen de la respuesta al efecto de retroalimentación negativa del estradiol; tal respuesta es baja durante la estación de actividad sexual, aumenta en la transición del anestro y permanece elevado hasta el inicio de la siguiente temporada reproductiva, cuando vuelve a disminuir. La melatonina, una hormona pineal, modula la respuesta a los cambios en el fotoperiodo en ovejas (Hafez y Hafez, 2002).

La melatonina, hormona natural presente en el organismo de todos los mamíferos que se libera en el torrente sanguíneo durante las horas de oscuridad se produce en la glándula pineal, un órgano cónico del tamaño de un guisante situado cerca de la zona central del cerebro. La liberación de melatonina en la sangre por parte de la glándula pineal está regulada por el hipotálamo, la parte del cerebro que gobierna el medio interno del organismo para mantener la temperatura y los equilibrios hormonales.

El hipotálamo recibe indicaciones sobre la cantidad de luz solar absorbida por el ojo; la oscuridad hace que el hipotálamo estimule la liberación de melatonina, tras el inicio de la noche (10 minutos) se elevan hasta alcanzar concentraciones entre 100-500 pg/ml. Además, es rápidamente metabolizada en 6-hidroxi-melatonina por el hígado, siendo excretada vía orina en forma sulfatada; por tanto, sus niveles vuelven a bajar en la mañana (Chemineau, 1992).

El papel de la melatonina sobre la reproducción estacional del ganado ovino es bien conocido, de manera que su actividad principal parece ejercerse a nivel hipotalámico, modificando la frecuencia de liberación de Ngr., con lo que paralelamente implica a la liberación de LH hipofisiaria y por lo tanto a la actividad gonadal. No obstante, su mecanismo concreto de acción a nivel del sistema nervioso central no está totalmente determinado, pues la mayor actividad de microimplantes de melatonina colocados en diferentes lugares hipotalámicos parece tener lugar en el hipotálamo medio-basal, una zona de baja densidad de receptores y donde se ubican únicamente el 15% de las neuronas Ngr. (Forcada y Abecia, 2005).

Estas y otras evidencias parecen sugerir que la acción de la melatonina sobre las neuronas GnRH es indirecta, de manera que se ponen en juego otras neuronas y neuromediadores. Así, estudios recientes parecen indicar que un componente importante del efecto estimulador de la melatonina en la liberación de GnRH (y por lo tanto de LH) parece ser la reducción de la síntesis de dopamina en la eminencia media.

De este modo, el sistema dopaminérgico parece claramente implicado en la inhibición de la liberación de LH durante el anestro estacional, especialmente al inicio del mismo incluso en razas de reducida estacionalidad sexual (Forcada y Abecia, 2005).

2.5 MÉTODOS DE SINCRONIZACIÓN DEL CICLO ESTRAL

La sincronización de estro ha sido utilizada para realizar el servicio (monta natural o inseminación artificial) de los animales en un tiempo reducido y para la programación de partos; además con el uso de los progestágenos es posible inducir el celo fuera de la época reproductiva con el objeto de aumentar la frecuencia de las pariciones (Galina *et al.*, 1995).

El control de la reproducción además de permitir que el productor regule el momento de celo y de la cubrición permite la optimización de la mano de obra calificada por periodos cortos para realizar la inseminación artificial o transferencia

de embriones, ya que reduce el tiempo invertido en la detección del estro, logrando el uso y aprovechamiento racional de la inseminación artificial y transferencia de embriones para el mejoramiento genético y establecimiento de épocas definidas de empadre y en consecuencia de partos y obtener la producción de lotes homogéneos en cuanto a cruza, edad y peso, lo cual facilita el manejo, la alimentación y la comercialización.

Actualmente los sistemas de producción de ovinos deben concebirse como empresas pecuarias, en donde la programación requiere de una calendarización de actividades que se cumplan rigurosamente (Basurto, 1997; Kusina *et al.*, Medrano, 2000).

Los métodos de sincronización de estros constituyen una herramienta de gran utilidad, ya que facilitan el manejo de animales al evitarse el encierre diario para la detección de celos naturales. Se puede dividir en:

Farmacológicos

Naturales

2.5.1 Farmacológicos

Tienen la ventaja de concentrar un alto porcentaje de celos en un periodo corto de tiempo, lo que facilita la programación y realización de los trabajos de Inseminación Artificial (AI). Haremos referencia a los 2 más utilizados:

Progestágenos naturales y sintéticos

Prostaglandinas naturales y sintéticas. (Gibbons y Cueto, 2004).

2.5.2 PROGESTÁGENOS

Naturales

La progesterona es producida por las células de la glándula del cuerpo lúteo funcional y actúa sinérgicamente con los estrógenos en varias funciones reproductivas que incluyen el crecimiento del epitelio glandular, del útero y glándula mamaria.

Por otra parte, inhibe las contracciones uterinas y estimula a las glándulas endometriales a secretar leche uterina, sustancia que permite la nutrición del embrión antes de implantarse; es también necesaria para la manutención de la gestación. La circulación de altos niveles de progesterona durante la gestación se utiliza como prueba precoz de diagnóstico de gestación.

Los niveles de progesterona tienden a inhibir el estro en concentraciones altas de LH que pueden ocasionar una ovulación, a excepción del equino. Es por esto que esta hormona es de enorme importancia en el control de la regulación del ciclo estral (Galina *et al.*, 1995).

Es transportada en la sangre por una globulina de enlace, al igual que los andrógenos y estrógenos. La secreción de progesterona es estimulada por la LH, principalmente.

La progesterona realiza las siguientes funciones:

Prepara el endometrio para la implantación y mantenimiento de la preñez, lo cual aumenta la actividad de las glándulas secretoras en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio.

Actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el comportamiento estral.

Desarrollo del tejido secretor (alvéolos) de las glándulas mamarias.

En concentraciones altas, inhiben el estro y la oleada ovulatoria de LH. Así la progesterona es importante en la regulación hormonal del ciclo estral.

Inhibe la movilidad uterina (Hafez y Hafez, 2002).

PROGESTÁGENOS

Naturales

Desde hace algunas décadas, se dispone comercialmente de progestágenos sintéticos para sincronizar ciclos estrales de los rumiantes, los cuales actúan inhibiendo la actividad del eje hipotálamo de la hipófisis. El acetato de fluorogestona, el acetato de medroxiprogesterona, el norgestoment, y el acetato de melengestrol, son los progestágenos sintéticos de mayor difusión a nivel comercial.

Acetato de Fluorogestona (FGA)

El acetato de fluorogestona (FGA) se administra en esponjas o dispositivos intravaginales, cuando se administran a ovejas anéstricas durante 12 a 14 días, al suspender el tratamiento, el estro aparece a los 2 o 3 días después debido al aumento en la liberación de gonadotropinas hipofisiarias, lo cual estimula el crecimiento folicular y la ovulación (Cordova *et al.*, 1999).

Los resultados obtenidos con el uso de estos dispositivos que contienen 35 o 45 mg de acetato de fluorogestona son en general buenos, obteniendo una tasa de sincronización del estro entre 95 y 100% de las ovejas tratadas entre las 95 y 100% de las ovejas tratadas entre las 48 y 96 horas de retirado el dispositivo (Calderón, 2006).

Cárdenas y Meza (1999) obtuvieron una tasa de presentación de celos de 96% en ovejas anéstricas utilizando acetato de fluorogestona (FGA) y 350 U.I. de eCG, con 69% de fertilidad y una prolificidad de 1.47 corderos por oveja parida.

Acetato de Fluorogestona (FGA)

Este producto es un progestágeno oral activo, sintético desarrollado y usado para la supresión de estro en novillas, pero también se ha utilizado para la inducción de un estro fértil en ovejas estacionales. El uso de este producto requiere

la alimentación de un suplemento que contiene MGA, una vez o dos veces al día para una duración de 8 a 14 días.

El MGA incorporado al alimento, a la dosis de 60mg durante 14 días, produce un buen control del estro y de la ovulación. La inyección de 250 a 500 IU de eCG 48 horas después de terminar la MGA, a la dosis de 60 a 80 mg son recomendadas (Derivaux, 1982).

Éstos fueron una alternativa para la sincronización de estro; sin embargo la respuesta era variable dado que el consumo de progestágenos no se realizaba de manera uniforme entre todos los animales del rebaño (Calderón, 2006).

Implantes de Norgestomet

El implante contiene 6 mg de Norgestomet sintético del progestágeno, pero se utiliza la mitad del implante original cuando se está utilizando en oveja. Los periodos de implantación se extienden generalmente a partir del día 9 al 14 y se combinan a menudo con concentraciones de eCG o de PGF_{2α}, dos días antes del retiro del implante.

Un estudio reciente evaluó la sincronización de estro y de la ovulación en ovejas implantadas con norgestomet. El estro fue detectado en el 84% de ovejas en el estudio. La estación no tuvo ningún efecto en la sincronización; sin embargo, el tratamiento con eCG (500IU) aceleró la ovulación a partir de 79.8 a 68.6 h y el inicio de estro a partir de 46.0 a 32.6 h, comparado a las ovejas implantadas solamente (Wildeus, 2000).

Un estudio de la dosis de eCG asociado a la implantación de norgestomet (6 mg para 10 días, se administró eCG 24 h antes de retiro del implante) en ovejas clínicas de pelibuey sugirió una respuesta disminuida del estro en los niveles de dosis de 500 y 1000 IU; sin embargo, los niveles de dosis mayores a 2000 IU produjeron una respuesta superovulatoria (> CL 5) y una gran cantidad de folículos anovulatorios. Sin embargo, el tratamiento con este método suele ser de costo elevado (Wildeus, 2000).

Dispositivos internos

Estos dispositivos se hacen de elastómeros de silicón impregnados de progesterona y fueron desarrollados en Nueva Zelanda (Wildeus, 2000).

Es un dispositivo intravaginal que contiene progesterona natural. La progesterona se libera por difusión desde una capsula de silicón sobre una espina de nylon, la cual esta adaptada para retener el dispositivo dentro de la vagina.

La progesterona del dispositivo de CIDR, se absorbe a través de la mucosa vaginal dando como resultado niveles en el plasma suficientes para suprimir la liberación de LH y FSH en el hipotálamo, previendo el estro y la ovulación. Al remover el CIDR le LH aumenta, lo que resulta en estro y ovulación de folículo dominante (SAGARPA, 2005).

En estudios ecientes con ovejas ovariectomizadas implantadas con los dispositivos de CIDR, la progesterona en el plasma sanguíneo se incremento dentro de 2 h de la inserción (5.5 ng/mL), con una declinación curvilínea rápida después de este periodo (Wildeus, 2000).

Sin embargo, el trabajo de Wheaton *et al.* (1993) con las últimas versiones del dispositivo encontró valores máximos de la progesterona del plasma dentro de 24 h y de niveles relativamente estables entre el día 1 y 13. Los protocolos para el uso de los dispositivos de CIDR son generalmente idénticols a los protocolos para las esponjas del uso intravaginales.

Este dispositivo permite la liberación lenta del progestágeno; sin embargo, el problema principal con este producto es su baja disponibilidad en el mercado nacional (Calderón, 2006).

2.5.3 Prostaglandinas

En 1934, Von Euler descubrió estas sustancias iniciales en el semen humano, aunque su estructura química fue determinada hasta 20 años después. A diferencia de las hormonas clásicas, las prostaglandinas (PG) se consideran hormonas locales ya que se pueden encontrar en diferentes tejidos y en la mayoría de los casos actúan localmente en su sitio de producción (Galina *et al.*, 1995).

Se aislaron primero de líquidos de glándulas sexuales accesorias y se denominaron prostaglandinas por su asociación con la próstata. Casi todos los tejidos corporales las secretan. La mayor parte de las prostaglandinas actúan localmente en lugar de su producción mediante una interacción célula a célula y por lo tanto, no entran exactamente en la definición clásica de hormona.

A diferencia de otros agentes humorales, estas hormonas no se localizan en ningún tejido particular. Son transportadas en la sangre para actuar en un tejido blanco lejos del lugar de su producción.

Algunas formas nunca aparecen en la sangre, mientras que otras son degradadas después de que circulan a través del hígado y los pulmones. La $\text{PGF}_{2\alpha}$ es el agente luteolítico natural que finaliza la fase lútea (del cuerpo amarillo) del ciclo estras y permite el inicio de un nuevo ciclo en ausencia del establecimiento de gestación, además de que es particularmente potente para finalizar la preñez temprana (Hafez y Hafez, 2002).

Las prostaglandinas se pueden considerar como hormonas que regulan varios fenómenos fisiológicos y farmacológicos, como la contracción del músculo liso en los aparatos gastrointestinales y reproductivos, la erección, eyaculación, el transporte de espermatozoides, la ovulación, formación del cuerpo amarillo, el parto y la eyección de la leche están involucradas en la ovulación. Por ejemplo en la oveja, la ovulación es bloqueada con la administración de indometacina, un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas. Debido a la liberación de LH no se afecta en los animales, la acción a nivel del folículo ovárico involucrado a la $\text{PGF}_{2\alpha}$, la PGE_2 o ambas.

Un aumento en el estrógeno, que promueve el crecimiento del miometrio en el útero, estimula la síntesis y la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$. En animales preñados, el embrión en desarrollo manda una señal al útero, previniendo los efectos luteolíticos de la $\text{PGF}_{2\alpha}$. La capacidad de esta hormona para inducir luteólisis, ha sido aprovechada para manipular el ciclo estral e inducir el parto (aAfez y Hafez, 2002).

La $\text{PGF}_{2\alpha}$ es producida en el útero de manera natural, tiene la función de producir la destrucción del cuerpo lúteo al final del diestro. Existen varias teorías acerca del mecanismo de acción de esta lisis:

Por vasoconstricción de vasos útero-ováricos produciendo esquemia y muerte de células lúteas.

Interfiriendo de manera directa en la síntesis de progesterona.

Compitiendo con la LH por sitios receptores en cuerpo lúteo.

Destruyendo sitios receptores para LH.

Las PG producidas en útero alcanzan la circulación ovárica y por lo tanto lútea por diferentes vías según la especie. En rumiantes, existe un mecanismo de contracorriente entre la vena uterina y arteria ovárica; de esta manera, la PG uterina alcanzará el cuerpo lúteo por vía local (Galina *et al.*, 1995).

2.5.4 Naturales

La actividad sexual de las ovejas puede ser inducida al comienzo de la estación de cría, por la acción que sobre la fisiología reproductiva ejerce la incorporación de los machos en un rebaño de hembras que haya permanecido aislada de los mismos un periodo de 4 semanas (Gibbons y Cueto, 2004).

Efecto macho

Durante el anestro estacional, la introducción de un macho dentro de un grupo de hembras previamente separadas de ellos induce la actividad reproductiva de las mismas en los días siguientes. Este fenómeno se le denomina *efecto macho*.



Fig 7 Macho mostrando su efecto sobre las hembras.

La primera respuesta de las hembras a la introducción de los machos es un incremento en la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH y se produce pocos minutos después de la introducción de los machos. Este aumento en la secreción de hormonas hipofisiarias (LH y FSH) estimula el crecimiento y desarrollo de los folículos en el ovario. Los folículos a la vez secretan grandes cantidades de estradiol, el cual inhibe la secreción de gonadotropinas e impide el desarrollo de nuevos folículos. A medida que el folículo crece se vuelve cada vez más sensible a la LH y, a la par secreta más cantidad de estradiol que finalmente provoca la aparición de un pico preovulatorio de LH 52 h después de la introducción de los machos, seguido de la ovulación 23-24 horas más tarde.

En las ovejas, esta primera ovulación no es fértil y normalmente no va acompañada del estro. En una proporción de ovejas el 50%, la primera ovulación es seguida por la formación de un cuerpo lúteo de corta duración, el cual es destruido 5-6 días después de haberse formado, produciéndose una segunda ovulación que, al igual que la primera, tampoco va acompañada de estro. El ciclo que sigue a dicha ovulación, es de duración normal (15-18 días) y termina con

una tercera ovulación, que sí es acompañada de estro. En estas ovejas el celo aparece a los 24-28 días después de la introducción de los machos.

Esta ausencia de celo a la primera ovulación, la alta proporción de ciclos cortos, es seguida también por una ovulación silenciosa, representa una limitación para la utilización del *efecto macho* como medida de sincronización de la reproducción de la oveja. Una manera de eliminar este inconveniente es con una sola inyección de progesterona al momento de introducir los carneros, lo cual resulta en la eliminación de los ciclos cortos y permite la manifestación de celo a la segunda ovulación en la mayoría de las hembras.

En la oveja el principal factor que provoca la respuesta sexual es de tipo olfativo, sobre todo a través de las feromonas existentes en las glándulas sudoríparas del macho, que es lo que induce una respuesta ovulatoria. Sin embargo, el estímulo del macho es multisensorial y posiblemente involucra además de olor, señales visuales, táctiles y auditivas en las ovejas; la intensidad del estímulo del macho es muy importante.

En las ovejas el *efecto macho* es un método muy efectivo y sencillo para inducir la actividad sexual durante el anestro estacional o de lactación, con la ventaja de una sincronización entre las hembras a un bajo costo y sin tratamientos hormonales. Esta inducción sincronizada, en aquellas razas de ovinos que manifiestan una estacionalidad ligera, pueden realizarse en cualquier época del año. Sin embargo, en las razas que presentan una estacionalidad reproductiva muy marcada es necesario inducir primero la actividad sexual en los machos para obtener una buena respuesta de las hembras. Esta inducción de los machos es posible mediante un tratamiento con luz artificial y melatonina (Flores, 2001).

2.6 Factores que afectan en la reproducción

Existen factores ambientales que afectan el sistema reproductivo. Se puede considerar al fotoperiodo, estrés, nutrición, los factores feromorales y el medio social del hato, como condicionantes de los aspectos reproductivos.

El primer factor se presenta modulado por los cambios nutricionales (Cueto y Gibbons, 2000²), la desnutrición y la alimentación deficiente antes del empadre, durante la gestación y después del parto tienen un efecto negativo sobre la tasa de ovulación, la supervivencia embrionaria, el porcentaje de parición y la supervivencia del recién nacido (Galina et al., 1995). Las hembras detectan y condicionan la variación de su respuesta por medio de la manifestación de su actividad reproductiva. De manera que se establece, una estrategia que asegurara el éxito de la concepción, preñez y lactación. (Cueto y Gibbons, 2000²).



Fig 8 Son muchos los factores que afectan los animales en la granja.

La distribución y el grado de sincronización son importantes cuando se está evaluando el potencial de un sistema para un periodo reproductivo. La eficacia de los tratamientos con progestagenos para el control del estro, generalmente considera dos componentes: el primero es la respuesta al estro, definida como la producción de ovejas tratadas que presentan estro dentro de un periodo específico después de terminado el tratamiento, La segunda es el tratamiento reproductivo, definido en términos de la tasa de concepción al al estro sincronizado , la cual depende del grado de sincronía del estro, sobre todo si se plantean protocolos con inseminación artificial (Hernández et al., 2000).

2.7 Detección de celo

Como los signos de estro no son muy claros en la oveja, se necesita de la ayuda del macho para la detección de celo, práctica importante, sobre todo en sistemas donde se utiliza la monta dirigida a la inseminación artificial. Los machos celadores deben prepararse adecuadamente para evitar que fecunden a las hembras (Galina *et al.*, 1995).



Fig 9 Macho marcador, detector de celo.

La oveja en celo se muestra inquieta y busca al macho con gran empeño, si hay varias hembras en celo al mismo tiempo, forman un grupo a su alrededor. El macho localiza a la hembra en calor por medio de la vista, mas que por el olfato (feromonas); una vez que la ha encontrado olisquea la región de la vulva provocando la reacción de inmovilidad de la hembra, que es el principal estímulo para la cópula.

El carnero frecuentemente al olear los órganos genitales de la s hembras presenta el signo llamado *flehmen*, que consiste en alzar la cabeza levantando al mismo tiempo el labio superior y los ollares. Después realizan movimientos con uno de los miembros anteriores golpeando levemente el costado el animal en celo, al mismo tiempo que emiten sonido característico y finalmente monto a la hembra.



Fig 10 Macho el cual preparan para ponerle delantal

Aunque la detección de celos en los rebaños de ovejas, generalmente en forma visual casi siempre se requiere el apoyo de animales preparados para este fin y se han desarrollado diferentes alternativas que se describen a continuación:

2.8 Preparación de los machos celadores

Los machos pueden ser enteros o castrados, a los cuales se les induce la actividad sexual. Los machos celadores solo pueden ser utilizados en grupos reducidos y por un periodo de corto tiempo; tienen la función de detectar a las ovejas que están en celo para luego inseminarlas. Cuando se habla de machos enteros se entiende que son machos que todavía poseen los testículos (Borquez y Cabral, 2005).

Carneros marcadores.

Como fácilmente se deduce, se trata de carneros de corral, a los que se les adapta un dispositivo que consiste en telas o en paños fuertes (en tejido), que cubre la región ventral del carnero, y se asegura mediante tiras. Esto es lo que se

conoce como “delantal” o “chaleco” que impide al carnero coito; pero no dificulta el salto del animal, permitiendo reconocer inmediatamente la hembra en celo, esta se aparta inmediatamente si está presente el operario y si se trata de pocos animales. Cuando son muchos, se prefiere identificar a la oveja en celo por una marca, para lo cual se coloca pintura sobre el delantal del carnero, o una bolsita con carbón en polvo asegurada por una costura.

Mediante este sistema, hay que tomar las debidas precauciones para evitar la caída o la desviación del delantal, lo que en cierto modo no confiere una absoluta seguridad (Borquez y Cabral, 2005).

Machos esterilizados quirúrgicamente

La esterilización quirúrgica, o vasectomía, consiste en la eliminación de la capacidad para fecundar del carnero pero no anula su actividad sexual. La operación no afecta la vida útil del animal y mantiene los caracteres secundarios del sexo.

TÉCNICAS:

Corte o extracción de un trazo de conducto deferente, o deferentectomía.

Corte solo del conducto deferente, o deferentomía.

Extracción o ablación de la cola del epidimio (Borquez y Cabral, 2005).

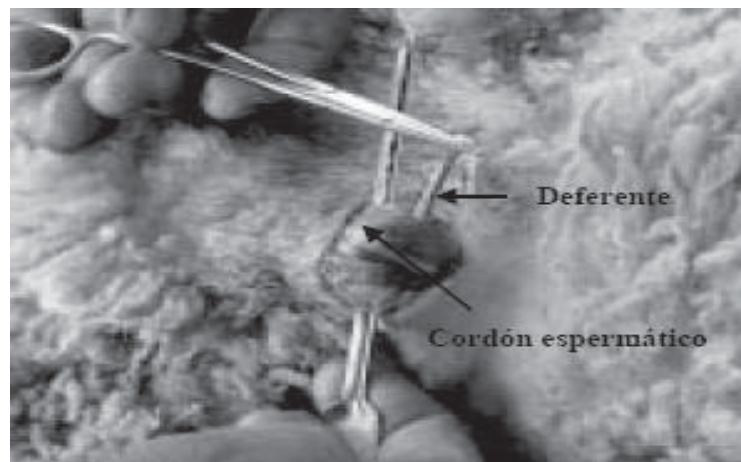


Fig 11 Preparación quirúrgica del carnero, para actuar como marcador

Hembras androgenizadas

También se utilizan hembras androgenizadas tratadas con testosterona, para la detección del estro. Por la influencia de la testosterona, las hembras tratadas manifestaran una conducta de macho, detectando a las compañeras del rebaño que se encuentran en celo. Las hembras detectadas en calor son separadas del rebaño para realizar su inseminación a la monta dirigida. Se acostumbra cubrir a la hembra en el momento en que es detectada en celo y cada 12 h hasta el término del celo (Quintal *et al.*, 1988).

Los machos tienden a distribuir sus servicios entre las hembras receptivas, pero prefieren a las que no han montado antes y a las que empiezan en celo (Galina *et al.*, 1995).

2.9 Inseminación artificial.

La inseminación artificial (AI) permite fundamentalmente la rápida y masiva difusión de las características deseables de los reproductores con alto potencial productivo, permite usar carneros viejos o lesionados u ovejas ubicadas en lugares distantes y, además, permite el control de algunas enfermedades de transmisión sexual (Parraguez *et al.*, 2000).

Al realizar la AI deben considerar los siguientes pasos:

Extracción del semen al carnero.

Estudio del semen según sus características.

Sincronización de celo.

Introducción del semen en el aparato genital femenino (Borquez y Cabral 2005).

2.9.1 Métodos de inseminación.

Semen fresco

Manipulación y examen del semen

El semen colectado en la vagina artificial o mediante el empleo del eletroeyaculador, es conservado en baño de agua a una temperatura de 28-30° C durante su evaluación y posterior utilización.



Fig 12 Inseminación en ovinos.

Es de suma importancia que el tiempo transcurrido entre la obtención del eyaculado y la última inseminación sea el menor posible (alrededor de 1 hora), extremándose este cuidado en caso de tratarse de semen sin diluir.

Antes de proceder a su utilización, el eyaculado debe ser evaluado al microscopio, observando fundamentalmente que el mismo posea una motilidad masal (valor subjetivo del vigor de movimiento de las ondas; 0, mínimo; 5, máximo), igual o superior a 3.

La dilución del semen obtenido se realiza en forma aproximada, asegurándose una cantidad de 100 a 150 millones de espermatozoides totales por dosis de inseminación de 0.02-0.25 ml.

Si bien la frecuencia con la cual se puede obtener semen de un carnero depende de su libido, condición corporal, edad, se recomienda un régimen de 2-3 saltos por día por un periodo de 4-5 días, seguido de un descanso de 2-3 días (Gibbons y Cueto, 2004).

2.9.2 Inseminación vaginal

La inseminación vaginal es el método más simple y más rápido cuando se utiliza semen fresco diluido, pero requiere una dosis de semen generalmente mayor que si se utilizara alguno de los otros métodos. Aunque no se pueda recomendar de una forma general, la inseminación natural puede ser útil cuando el tiempo y las disponibilidades sean factores limitantes o para inseminar hembras vírgenes en las que la estrechez de la parte vestibular no permite la penetración del especulo (Salomón, 1990).

Este método de inseminación consiste en la deposición de semen en la vagina anterior sin ningún intento de localizar el cérvix. La vulva de la hembra se debe limpiar con una gasa o algodón a fin de evitar la contaminación de la vagina al introducir la pipeta de inseminación, ésta se carga primero con un poco de aire, hasta la división 0.2 ml, y luego con la dosis requerida de semen que se encuentra en el tubo que se mantiene en el baño a 30° C. La cámara de aire sirve para que las dosis completas de semen sean depositadas en la vagina durante la inseminación. La punta de la pipeta se introduce en la vagina a lo largo de la pared superior facilitando su entrada por la apertura suave de la válvula con la mano libre. Si bien la misma pipeta puede reutilizarse varias veces, es importante que ésta se limpie con un algodón o gasa entre hembra y hembra (Borquez y Cabral, 2005).

2.9.3 Inseminación cervical

El equipo necesario es simple y, si se dispone de personal suficiente el número de animales que se insemina en poco tiempo es muy grande. Cuando se practica adecuadamente, la inseminación cervical con semen fresco o semen sin diluir da por resultado una alta fertilidad, comparable a la obtenida en rebaños con monta natural. Este es el método generalmente recomendado de inseminación cuando se utiliza semen fresco diluido o sin diluir (Salomón, 1990).

La inseminación cervical puede llevarse acabo mediante una pistola de inseminación multidosis, que permite un émbolo dentado, inseminar una vez cargado el semen, así como graduar el volumen de la dosis de inseminación. El semen se aspira desde el tubo de colección, dejando previamente una cámara de aire de 2 ml.

El lugar donde se practicará la inseminación debe estar limpio, a una temperatura ambiente de 20-25° C y libre de corrientes de aire. Las ovejas deben sujetarse en un mínimo de tiempo, evitando causar estrés innecesario en los animales.

Para realizar la inseminación cervical, las hembras se presentan inclinadas cabeza-abajo, con los cuartos traseros montados sobre una baranda o riel. También podrán sujetarse mediante un brete giratorio a la salida de la manga. Se limpia la vulva con una toalla de papel desechable y se aplica una muy pequeña cantidad de vaselina para facilitar la introducción del vaginoscopio; éste se introduce lentamente hasta el fondo de la vagina de la hembra donde se localiza el orificio de la entrada al útero (cérvix). En el caso de presentarse moco abundante que dificulta su localización, mediante una vaina plástica con jeringa, se absorbe y se elimina. Se solicita el semen a un auxiliar.

La punta de la vaina de inseminación se guía hasta la entrada del orificio uterino y es introducida mediante suaves movimientos giratorios hasta donde se presente resistencia (Gibbons y Cueto, 2004).

Antes de descargar el semen, se retirará un poco el vaginoscopio hacia atrás a fin de facilitar el cierre de la vagina anterior evitando que el semen se derrame. Posteriormente se retirará primero la pipeta y luego el vaginoscopio. Es importante limpiar la vagina de contaminación o moco antes de depositar el semen (Borquez y Cabral, 2005).

Una vez descargado el semen es conveniente que la hembra permanezca durante 2 o 3 minutos en la posición de inseminación, y luego en un corral contiguo a los machos por un par de horas. Los porcentajes de preñez logrados en inseminación cervical con semen fresco, y dosis de 100-150 millones millones de espermatozoides, varían entre 60 y 70% (Gibbons y Cueto, 2004).

Semen congelado

En el ovino, el uso de esta técnica es de aplicación reciente, debido a la dificultad que presenta el cuello uterino de la oveja para ser transpuesto por la vaina de la inseminación, así como la reducción de la viabilidad espermática producida por el proceso de congelamiento y descongelamiento que impedian obtener tasas de preñez semejantes a otras especies.

A comienzos de la década de los 80, investigadores Australianos desarrollaron una técnica de inseminación intrauterina por laparoscopia, que depositando el semen congelado directamente en la luz de los cuernos uterinos, permitía obtener porcentajes de preñez superiores al 50%.

Esta técnica permite asimismo realizar un uso muy eficiente muy eficiente del semen. Al depositarse la dosis de inseminación en proximidad del ovario, basta con un bajo número de espermatozoides para preñar una hembra. Esto permite obtener, mediante una adecuada dilución y fraccionamiento de semen, entre 60 y 150 dosis fecundantes de un mismo eyaculado, siendo 3000-7000 millones de espermatozoides (Gibbons y Cueto, 2004).

Descongelamiento y examen del semen post-descongelado

El descongelamiento del semen se realiza a una temperatura de 36° C. Una vez descongelado, es conveniente proceder a una rápida utilización. Si el semen fue congelado en pastillas, su descongelamiento puede llevarse a cabo en tubos de hemólisis secos mantenidos a esa temperatura de 36° C en baño de agua. Se agitarán durante un minuto dentro de baño para asegurar un descongelamiento homogéneo.



Fig 13 Contenedor de semen.

Si el congelamiento del semen se realizó en pajuelas, éstas se agitarán durante 15 segundos bajo el agua. La pajuela es retirada del baño y secada con una toalla de papel desechable. Se le cortan ambos extremos para proceder a su vaciado, ya sea en tubo de hemólisis o directamente en la vaina de inseminación.

La evaluación de la calidad seminal al descongelamiento es de suma importancia. Normalmente se evalúa 2 o 3 dosis por partida. Es necesario hacer varias observaciones de la misma pajuela.

Inmediatamente después del descongelamiento, se coloca una gota de semen en portaobjetos templado sobre platina térmica, realizándose una observación al microscopio de la motilidad masal.

A continuación se coloca una gota de semen entre porta cubreobjeto templados. En esta observación se estima el porcentaje de espermatozoides vivos, así como la motilidad progresiva (valor subjetivo de la velocidad de desplazamiento hacia delante de los espermatozoides vivos; 0, mínimo; 5, máximo).

Para aceptar una partida, el semen debe poseer:

Motilidad masal al descongelamiento.

Un porcentaje de espermatozoides vivos igual o superior al 30%.

Motilidad individual progresiva igual o superior a 2.5% (Gibbons y Cueto, 2004).

2.9.4 Inseminación intrauterina

Las hembras al ser inseminadas por laparoscopia guardan un ayuno de 12 horas o mas (generalmente por una noche). Esto reduce en contenido del rumen, y facilita la localización de los ovarios y el útero, evitando además la regurgitación desde el rumen durante la laparoscopia (Borquez y Cabral, 2005).

Las hembras son aseguradas en una camilla, en decúbito dorsal, donde se les esquila y lava el abdomen con jabón blanco. El animal se presentara al inseminador con los cuartos hacia arriba, en una declinación de 45°.

El material de laparoscopia (endoscopio, trocares de 5 y 7 mm y cánulas correspondientes) se coloca en una bandeja con una solución desinfectante de un amonio cuaternario y será devuelto a la bandeja entre inseminación e inseminación (Gibbons y cueto, 2004).

Primeramente se introducen la cavidad abdominal un trocar de 7 mm. y cánula a la izquierda de la línea media de la oveja y a unos 5 cm. de la ubre. Se debe tener especial cuidado de no perforar ningún órgano ni vena principal.

Antes de introducir el trocar de 5 mm. y cánula a la derecha de la línea media, es conveniente dejar ingresar aire dentro de la cavidad abdominal, lo que facilita la visualización de los órganos internos.

Remplazando el trocar de 7 mm por el laparoscopio, se examina la cavidad abdominal para la localización de los cuernos uterinos. A través de la cánula de 5 mm, se introduce el traspap con la vaina de inseminación, con el volumen requerido de semen.



Fig 14 Laparoscopia enfocada a la transferencia embrionaria.

La inseminación se realiza mediante inyección en tercio medio y dorsal del cuerno uterino, depositándose la mitad de la dosis del semen. El semen debe fluir libremente hacia el interior del útero. A continuación, se repite la maniobra en el otro cuerno. Luego de la deposición del semen, se retira la vaina de inseminación y el laparoscopio, permitiendo la salida del aire del interior de la cavidad abdominal, antes de retirar las cánulas.

Una vez finalizada la inseminación es conveniente que los animales permanezcan por 2-3 horas en un corral, antes de ser trasladados al campo. El volumen de la dosis utilizado normalmente en inseminación laparoscópica es de 0.25 ml. El número de espermatozoides totales por dosis de inseminación varía entre 40 y 50 millones, obteniéndose tasa de preñez del 50 al 60% (Gibbons y Cueto, 2004).

2.10 Momento de la inseminación en estro sincronizado

Cuando se combina el uso de dispositivos de progesterona y eCG, y la inseminación es por vía vaginal o cervical, se debe practicar una sola inseminación 54 a 56 horas después de que se retira el dispositivo. Si las ovejas deben inseminarse dos veces, la primera inseminación se realiza a las 48 horas de retirarse el dispositivo, y la segunda, 12 horas después. La inseminación doble por lo general aumenta la prolificidad.

Si la inseminación es laparoscópica y se utiliza progesterona y tratamientos con eCG, se insemina a la hembra 56 a 62 horas después de retirarse el dispositivo. Si las ovejas se han superovulado, debido a los niveles más elevados de eCG o FSH, la inseminación se realiza antes. Cuando se utiliza semen fresco, la inseminación se efectúa 36 a 48 horas después de extraerse el dispositivo vaginal. La inseminación con superovulación debe practicarse a las 44 a 48 h de retirarse el dispositivo si se usa semen congelado-descongelado. La inseminación artificial se practica 48 a 52 horas después de retirarse el CIDR (Hafez y Hafez, 2002).

Después de la sincronización de estro con el método alternativo, se realizó la inseminación intrauterina por laparoscopia con semen congelado. Se registró el tiempo desde la exposición de un celo franco hasta la hora de inseminación transcurriendo de 7 a 20 horas. Antes de continuar con la inseminación, a las 11 ovejas que mostraron celos se les examinaron los ovarios para encontrar el folículo que se “preparaba” para la ovulación, localizándose en algunas, folículos grandes en ambos cuernos.

El diagnóstico de gestación se realizó a los 30 días por mediodía de un ultrasonido obteniendo como resultado a 7 ovejas gestantes, en donde 5 de ellas fueron de las esponjas comerciales y 2 fueron del tipo artesanales, además se encontraron 4 animales sospechosos; el segundo diagnóstico se realizó 20 días más tarde. Observándose que de las sospechosas ninguna quedó preñada y confirmando a las 7 restantes.

Los resultados obtenidos por el método de inseminación artificial intrauterina por laparoscopia fueron buenos ya que se lograron resultados de un 63.63% de efectividad, el cual es mayor a los descrito por algunos autores.

2.10.1 Tiempo de inseminación con estro natural

Cuando se deba inseminar artificialmente, por vía vaginal o cervical, se obtendrán mejores resultados si la inseminación se hace antes de la ovulación, pero muy próximo a ella. En general, el momento óptimo para inseminar las ovejas es 12-18 horas después de la aparición de estro.

Si se van a inseminar hembras con estro natural, éste normalmente se detecta con la ayuda de los machos celadores. El contacto con machos puede alterar la duración del estro, que es generalmente más corto, con ovulación más temprana. Una vez marcadas las hembras en estro, por los machos marcadores, deben ser inseminadas lo mas pronto posible si solo se utilizan los machos una vez al día; pero en caso de emplearlos dos veces (mañana y tarde), las hembras marcadas por la tarde se inseminarán a primera hora del día siguiente y luego, algo más tarde, las señaladas por la mañana. La utilización de machos marcadores dos veces al día aumenta considerablemente el número de estros detectados con lo que la inseminación se puede sincronizar mejor, con relación a la ovulación (Salomón, 1990).

2.11 Transferencia embrionaria.

La transferencia de embriones es una biotecnología aplicada para el incremento de la producción animal y la conservación e intercambio de material genético. El transplante de embriones es un método de reproducción artificial basado en la transferencia de embriones producidos por una hembra donante (madre genética superior) a hembras receptoras (madres portadoras) que lo gestan hasta su nacimiento.

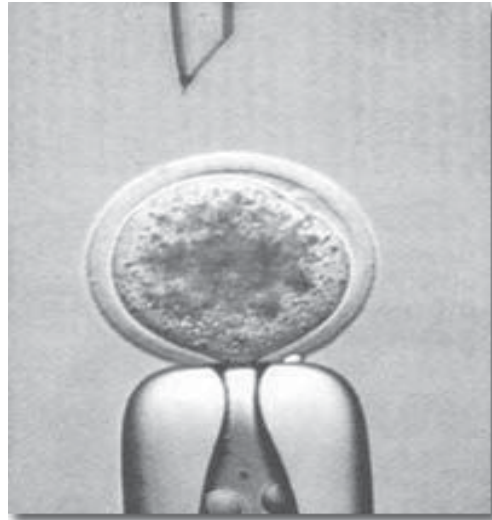


Fig 15 Embrión ovino, empezando a ser tratado para replicación.

Los tratamientos hormonales para inducir la ovulación múltiple (OM) y la transferencia de embriones (TE) permiten utilizar de manera intensiva a las hembras genéticamente superiores, en forma similar al aprovechamiento que se realiza con los machos por medio de la inseminación artificial. (Gibbons y Cueto, 2004).

En un principio, en los tratamientos hormonales para la OM, se recomendaba la aplicación de gonadotropina coriónica equina (eCG) en dosis de 1000 a 2000 UI, aplicadas a las 24 ó 48 horas previas a la finalización de un tratamiento progestacional, mediante esponjas intravaginales.

La disponibilidad comercial de la hormona folículo estimulante (FSH) ha permitido su empleo en la TE, en dosis constantes o decrecientes (16 a 21 mg Armour, según razas), aplicadas hacia el final del tratamiento progestacional. Su superioridad con respecto a la eCG se ha evidenciado en el incremento del número de ovulaciones, ovocitos fertilizados y en la calidad embrionaria.

Este tratamiento permite la obtención de 5-7 embriones transferibles/oveja donante y 3-4 corderos nacidos/oveja donante.

2.12 Colecta de embriones

En general la colecta de embriones se realiza entre los días 5to a 7mo en ovejas, posterior al día de inicio del celo, las razones principales son: los embriones están en el tercio superior de los cuernos uterinos, presentan la membrana pelucida, necesaria como barrera placentaria (Salomón, 1990).

2.13 Técnicas de colecta de embriones.

Las técnicas de colecta de embriones son: técnica quirúrgica o lapascopia media y técnica no quirúrgica.

2.13.1 Técnica quirúrgica.

La recolección embrionaria mediante la técnica quirúrgica es el método más utilizado en la especie ovina. Se realiza en el día sexto posterior al inicio del estro, mediante la aplicación de un flujo de arrastre (20 cc), inyectando una solución salina (PBS) con suplementación proteica, en proximal del cuerno uterino y recuperando los embriones mediante una sonda ubicada en la luz uterina de la unión útero-tubárica. Esta técnica reduce las recuperaciones embrionarias sucesivas debido a las adherencias posquirúrgicas (Gibbons y Cueto 2004).

2.13.2 Técnica no quirúrgica o laparoscopia.

Se realizan tres punciones en la cavidad abdominal, la primera punción permite introducir el laparoscopio, la segunda una sonda de tres vías entrada del PBS, salida del PBS e insuflación del balón y la tercera pinza no traumática. Esta pinza permite la manipulación del tracto reproductivo para hacer avanzar la sonda o la luz uterina y fijar la unión útero tubariza durante el flujo del PBS.



Fig 16 Transferencia embrionaria por Laparoscopia.

2.14 Búsqueda de embriones.

El PBS es vertido en una placa de búsqueda de embriones. La búsqueda se realiza bajo lupa. Se recomienda efectuar 2 lecturas de las placas. Los embriones identificados se aspiran mediante micropipetas colocados en una caja de petri con PBS, enriquecido con suero al 10%.

La siembra de embriones

Para la siembra se requiere de hembras receptoras, sincronizadas en su ciclo estral, en coincidencia con la edad del embrión que les es transferido. En referencia a la edad de las hembras receptoras se ha determinado una mayor eficiencia cuando se emplean hembras jóvenes.

Para incrementar la sobrevivencia embrionaria, se recomienda transferir dos embriones por receptora lo más rápido posible y no superar las dos horas entre la recuperación y la siembra. La transferencia se realiza en el tercio superior del cuerno uterino, próximo a la unión utero-tubárica. Es recomendable realizar una observación laparoscopia de los ovarios para determinar si el desarrollo del cuerpo lúteo se corresponde con el día del ciclo estral y rechazar las receptoras con quistes foliculares (Gibbons y Cueto 2004).

Las técnicas de siembra utilizadas son la quirúrgica, bajo control endoscópico y semiendoscópica. Esta última es más rápida, se emplea el laparoscopia para localizar el cuerno uterino y la siembra se realiza en el exterior de la cavidad abdominal.



Fig 17 Transferencia embrionaria en ovinos.

2.15 Congelación de embriones (CE)

La congelación controlada, conocida también como criopreservación, es una técnica que actualmente está bien establecida y cada día se usa con más frecuencia. Mediante este procedimiento los embriones sufren un proceso de deshidratación al enfriarse lentamente en una solución que contiene una sustancia crioprotectora (que protege contra las bajas temperaturas). La descongelación puede ser lenta o rápida, dependiendo del nivel de deshidratación que haya alcanzado el embrión.

Cada paso, desde la presentación de la solución crioprotectora hasta la evaluación del embrión después de la descongelación, tiene que ser controlado con precisión y llevado a cabo cuidadosamente. Esto requiere de considerable habilidad y experiencia.

Congelación de embriones (CE)

La congelación controlada, conocida también como criopreservación, es una técnica que actualmente está bien establecida y cada día se usa con más frecuencia. Mediante este procedimiento los embriones sufren un proceso de deshidratación al enfriarse lentamente en una solución que contiene una sustancia crioprotectora (que protege contra las bajas temperaturas). La descongelación puede ser lenta o rápida, dependiendo del nivel de deshidratación que haya alcanzado el embrión.

Cada paso, desde la presentación de la solución crioprotectora hasta la evaluación del embrión después de la descongelación, tiene que ser controlado con precisión y llevado a cabo cuidadosamente. Esto requiere de considerable habilidad y experiencia

Producción de embriones in vitro.

El término in vitro ("en vidrio") se utiliza para aquellos procedimientos que se llevan a cabo afuera del organismo vivo; en este caso se refiere a una serie de manipulaciones que se realizan en condiciones de laboratorio. De esta forma, el concepto de producción de embriones in vitro se puede definir, en forma simple, como una técnica que hace posible que los óvulos no fertilizados se puedan madurar, fertilizar y desarrollar en condiciones de laboratorio.

Multiplicación de embriones

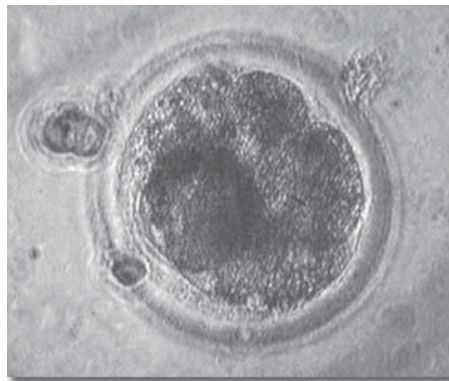


Fig 18 Embrión Ovino listo para replicación.

Esta técnica también es una forma de selección fenotípica, que puede permitir un rápido cambio en características específicas y muy seleccionadas, como la producción de carne o lana. La tecnología, combinada con la producción de embriones in vitro, podría utilizarse para producir grandes cantidades de embriones de alta calidad que después serían congelados o transplantados. A continuación se describen los métodos actuales de multiplicación de embriones:

Bisección o división de embriones

La bisección de embriones (BE) es un procedimiento que da como resultado la producción de gemelos idénticos al dividir a un embrión usando técnicas de microcirugía. Este método puede considerarse como una forma de clonación, porque hace posible la producción de individuos genéticamente iguales.

3. CONCLUSIONES

1. De acuerdo con lo observado en la literatura se concluye que las tecnologías reproductivas sintéticas son herramientas de mayor eficacia para la reproducción en ovinos debido a su facilidad de manejo y disponibilidad en el mercado. Sin embargo, es preciso realizar estudios que permitan establecer alternativas de bajo costo, pero con el mismo o mejor nivel de respuesta de que los métodos comerciales existentes.

IV Literatura citada.

1. Armenta, C. J. 2003. Efectividad de la progesterona sintética para inducir estro y fertilidad en vacas Cebú en el trópico. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia.
2. Basurto, C. H. Sincronización de bovinos en el trópico. 1997. memorias del curso de farmacología y su aplicación en la clínica bovina. Colegio de Médicos Veterinarios Zootecnistas del D. F. México. P. 11-19.
3. Bearden, H. J., Fuquay, J. 1982. Reproducción animal Aplicada. Ed el manual moderno. México, D. F. p. 66-72.
4. Borquez, A. J., Cabral, L. 2005. Inseminación artificial en ovinos. [Http://www.misionrg.om.org/insemina.htm](http://www.misionrg.om.org/insemina.htm).
5. Calderón, M. G. 2006. sincronización del ciclo estral y concentración de progesterona plasmática en ovejas tratadas con esponjas intravaginales artesanales con 40 mg de progesterona. Tesis de maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia.
6. Cárdenas, S. J., Meza, R. J, 1999. inducción de celo en ovejas en anestro dentro de un programa de parto de tres años XXXV,. Reunión Nacional de investigación Pecuaria. 19-22 de Octubre Mérida Yucatán, México. P. 1-5.
7. Castillo, R. H. Valencia, O. M., Berruecos, J. M. comportamiento reproductivo del borrego Tabasco mantenido en clima tropical y subtropical. Índices de fertilidad. Tec Pecu Méx. 1972;20:52-56.
8. Cerna, C., Porras, A., Valencia, M. J., Perera, G., Zarco, L. Effect o fan inverse tropical.
9. HAENLEIN, G., 1996. Status and prospects of the dairy Sheep industry in the United States. J. Anim. Sci. 74:1173-1181
10. Universidad católica; s/f. Algunas razas ovinas y sus características. http://www.puc.cl/sw_educ/prodanim/mamif/siii14.htm, Bajado sept 27, 2001. 4p
11. Wilkinson, M. J. y Stark A. B., 1989. Producción comercial de ovinos . Editorial Acribia, S. A., Zaragoza, España. 165 p.
12. Hernández, S. J.; 2000. La caprinocultura en el marco de la ganadería poblana (México): Contribución de la especie caprina y sistemas de producción. Arch. Zootec. 49: 341-352. México.
13. GIBBONS, A.; 1998. Aspectos Reproductivos de la Hembra Ovina. Jornadas de Capacitación en Producción Caprina. Estación Experimental Agropecuaria Bariloche. INTA, Argentina. 21-23 Abril 1998.
14. DERIVAUX, J.; 1961. Fisiopatología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Animales Domésticos. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
15. ABELSETH, *et al.*; 1994. El Manual Merck de Veterinaria. 4ª edición, Ediciones Océano, S.A. Barcelona, España.