

Protocolo para Proyecto de Investigación 2014

Titulo del proyecto

Inducción del estro y ovulación en cabras anestrícas mediante eCG y GnRH.

Introducción

A 26° N, muchas razas de cabras son fotosensibles con respecto a su función reproductiva, las hembras caprinas suspenden su actividad ovulatoria en primavera, independientemente de la disponibilidad de forraje (Delgadillo *et al.*, 2012).

Para inducir el estro en cabras durante el anestro, se ha utilizado tratamientos hormonales, manipulación del fotoperiodo y bioestimulación (Medan *et al.*, 2002). Actualmente, los tratamientos hormonales involucran el uso de dispositivos intravaginales que liberan un agente progestágeno sintético colocado por 11 días, dos días antes de quitar el dispositivo, las cabras reciben una inyección de gonadotropina coriónica equina (eCG) y un análogo de prostaglandina F2 α (PGF2 α) sintético (Pellicer-Rubio *et al.*, 2008). Sin embargo, van acompañados de una fertilidad baja, ya que el uso de dispositivos intravaginales induce concentraciones séricas de progesterona subluteales al final del tratamiento, los cuales se asocian a anomalías en el desarrollo folicular, ovulación, calidad de los ovocitos, y función lútea (Menchaca *et al.*, 2007). Además, el empleo de eCG en los tratamientos actuales desencadena una respuesta inmune, por lo que en administraciones sucesivas, los anticuerpos contra eCG pueden interferir en su función y disminuir la eficacia de la inducción del estro (Fonseca *et al.*, 2005).

El empleo de otras hormonas diferentes a eCG debe ser evaluado como una alternativa a los tratamientos actuales y de esta manera evitar sus efectos adversos y/o mejorar su aplicación, para implementar su aplicación en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en cabras durante la época no reproductiva.

Objetivos

Evaluar el empleo de eCG y GnRH con progesterona intravulvar para inducir la actividad estral y ovulación en cabras durante el anestro estacional en el semidesierto mexicano.

Hipótesis

La GnRH mejora la sincronización del estro y la ovulación en cabras durante la estación no reproductiva.

Revisión de Literatura

Las razas caprinas locales o adaptadas a las latitudes subtropicales (23°-40°) muestran diferencias en su actividad sexual anual. Algunas de estas razas presentan una marcada o moderada estacionalidad sexual, mientras que otras manifiestan actividad sexual todo el año (Delgadillo *et al.*, 2012). La estacionalidad sexual y/o reproductiva, provoca que la producción, y por tanto, la oferta de los productos caprinos (leche, queso, cabrito) sea también estacional, lo que afecta a los productores, comercializadores y consumidores. Los precios de los productos caprinos disminuyen durante el periodo natural de producción al incrementarse la oferta, lo que reduce los ingresos de los productores. En cambio, los precios de estos productos se incrementan durante el periodo de baja producción debido a la disminución de la oferta. Los consumidores solo obtienen productos frescos durante los meses de producción, pero el resto del año deben consumir productos que han sido procesados para su preservación, lo que modifica la calidad de los mismos (Chemineau *et al.*, 2007).

Las esponjas intravaginales han sido los dispositivos de elección para la inducción y sincronización del estro durante la época reproductiva y no reproductiva en cabras. Las esponjas están impregnadas con progestágenos, los dos tipos de esponja más comunes son las basadas en acetato de fluorogestona (FGA) y medroxiprogesterona (MAP), las cuales son insertadas en la vagina por un periodo de 11 días y usadas en conjunto con eCG inyectada al momento de retirar la esponja o 48 horas antes y un análogo de prostaglandina F2 α . Las hembras usualmente presentan estro dentro de

las primeras 24 a 48 después de remover la esponja (Freitas *et al.*, 1996; Wildeus, 2000).

Los dispositivos intravaginales en cabras anestricas causan un rápido incremento en la concentración sérica de progesterona (>5ng/mL) durante tres o cuatro días, los cuales son más altos que aquellos observados durante una fase lútea fisiológica. Después de seis días, los niveles séricos de progesterona declinan a niveles subluteales (2ng/mL) y permanecen bajos hasta que el dispositivo es retirado (Menchaca y Rubianes, 2004). Los niveles bajos de progesterona van acompañados de una fertilidad baja, ya que se asocian a anomalías en el desarrollo folicular, ovulación, disminución en la calidad de los ovocitos, y un cuerpo lúteo deficiente (Menchaca *et al.*, 2007). Además, causa efectos adversos en el transporte y sobrevivencia de los espermatozoides (Greyling y van der Nest, 2000). Otra desventaja del empleo de los dispositivos con progesterona es que la presencia mecánica del dispositivo puede predisponer a vaginitis purulenta. Esta infección a menudo se debe a la proliferación local de la microflora normal de la vagina y se caracteriza por eritema, descargas vaginales purulentas y mal olor. Las principales bacterias involucradas son *Escherichia coli*, así como, cocos gram-positivos, principalmente *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp*. (Penna *et al.*, 2013).

La mayoría de los protocolos para inducir el estro en cabras utilizan a la eCG como inductora de la actividad ovárica y estro. Sin embargo, la eCG es una hormona peptídica que funciona como inmunogeno, la cual desencadena una respuesta inmune. En administraciones sucesivas, los anticuerpos generados contra ella pueden interferir con su función y disminuir la eficacia de los tratamientos (Fonseca *et al.*, 2005). Baril *et al.* (1996) mencionan que las cabras tratadas previamente con eCG muestran un mayor porcentaje de estros tardíos junto con una tasa de concepción baja, en contraste con aquellas que no habían recibido tratamientos anteriores con eCG inseminadas a tiempo fijo.

Medan *et al.* (2002) demostraron que el empleo de GnRH 24 horas después de retirar un implante de norgestomet induce el estro durante la estación no reproductiva. Otra ventaja con el uso de GnRH es que esta es efectiva para controlar y sincronizar el pico preovulatorio de LH y la ovulación, facilitando el uso de la inseminación artificial a tiempo fijo y los programas de transferencia de embriones (Pierson *et al.*, 2003).

Procedimiento Experimental

El estudio se llevara a cabo en la Comarca Lagunera de Coahuila, México, la cual se localiza en el subtrópico mexicano (latitud, 26°23' N y longitud, 104°47' O), durante la época de reposo sexual en el mes de Mayo del año 2014.

Se utilizarán 50 cabras adultas multiparas, multirraciales, locales de La Comarca Lagunera, de 3-4 años de edad. Se seleccionaran solo aquellas cabras de fertilidad probada. Los animales serán mantenidos en corrales abiertos, techados y recibirán heno de alfalfa a libre acceso y 200 g de concentrado comercial (14% de proteína cruda, 2.5 Mkcal/kg) por día por animal durante los tratamientos. El agua y los minerales se proporcionaran a libre acceso.

Las cabras serán divididas de acuerdo a su peso corporal y condición corporal (determinada por apreciación de la capa de tejido adiposo en el esternón y las vértebras lumbares (escala 0-5; 0 flaca; 5 obesa; Carrillo *et al.*, 2010), en cinco grupos experimentales.

Tratamientos

En el G1(n=10) las cabras recibirán una inyección intramuscular de 250 UI de eCG (Folligon® Intervet International, Broxmeer, the Netherlands) el día 0 (dos días después de la aplicación de la progesterona y PGF2α).

En el G2 (n=10), recibirán una inyección intramuscular de 10.5µg de GnRH sintética (acetato de buserelina, Receptal®) día 0.

El G3 (n=10) el día 0 recibirá una inyección de 250 UI de eCG más 10.5µg de GnRH.

Al G4 (n=10), se le aplicara una inyección de 250 UI de eCG y 24 horas después una inyección, más 10.5µg de GnRH.

En el G5 (n=10), se aplicará de 250 UI de eCG (día 0) y al momento de la inseminación una inyección de 10.5µg de GnRH.

En los cinco tratamientos, las cabras recibirán una inyección en la submucosa vulvar de 20 mg de progesterona (Fort Dodge®, DF, México) 48 horas previas a la aplicación de las gonadotropinas exógenas (el cual se considerara como el día 0 del tratamiento), junto con una inyección intramuscular de 50µg de PGF2α (Lutraprost® 250, Agrovvet, México) a las 8:00 a.m para todos los grupos.

Variables a evaluar

Las cabras serán monitoreadas 24 horas después de la primera aplicación hormonal (día 0) tres veces al día por 45 min (06:00h, 14:00h y 22:00h) durante las primeras 120 horas, usando machos provistos de un mandil para detectar la conducta estrol. El estró será definido como el momento cuando la cabra acepte la monta por parte del macho. Las dosis serán las mismas para todos los grupos, así como la vía de administración.

Para monitorear la dinámica folicular, se realizara ultrasonografía transrectal una vez al día (Aloka SSD 500 Echo camera, Overseas Monitor Corp. Ltd., Richmond, BC, Canadá) usando un transductor de 7.5-MHz con la cabra en posición de pie, siempre por el mismo operador, 12 días (día -12) antes de iniciar los tratamientos para confirmar que las cabras no estén ciclando y eliminar del estudio aquellas que lo estén, cuatro días antes de la aplicación de los tratamientos (-4d) y durante las primeras 120 horas después del día 0.

La inseminación artificial de las hembras será realizada 24 y 36 horas después de haber presentado estro. La inseminación artificial será realizada por el método exocervical. Este método consiste en elevar los miembros posteriores de la cabra mientras permanecen sus miembros delanteros en el piso. Con la ayuda de un vaginoscopio, se localiza el orificio externo del cérvix con la ayuda de un espejo y una fuente de luz. Se introduce la pipeta con la pajilla se semen y se deposita en los primeros pliegues del cérvix.

La tasa de preñez será determinada 40-45 días después de la inseminación por ultrasonografía transrectal (Aloka SSD 500 Echo camera, Overseas Monitor Corp. Ltd., Richmond, BC, Canadá) usando un transductor de 7.5-MHz.

El tiempo después de manifestado el estro, numero de folículos, momento de la ovulación, duración del estro y tamaño de la camada serán comparadas por un ANOVA y para la respuesta estrol, fertilidad y partos serán comparadas entre grupos usando un análisis de Ji-cuadrada. Se usara una significancia estadística de (P<0.05).

Cronograma de actividades.

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Conformación de los grupos experimentales				X								
Inducción de la actividad sexual de las hembras					X							
Diagnóstico de gestación							X					
Partos										X		

Análisis de datos											X		
Redacción artículo científico												X	

5.-Productos esperados

Un abstract para presentar en un congreso nacional
 Un artículo en extenso para presentar en congreso nacional
 Un abstract para presentar en un congreso internacional
 Un artículo publicable en revista indexada
 Tesis de maestría

6.-Literatura citada

Baril, G., Remy, B., Leboeuf, B., Beckers, J.F., Saumande, J. 1996. Synchronization of estrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*. 45: 1553-1559.

Carrillo, E., C.A. Meza-Herrera, Véliz, F. G. 2010. Estacionalidad reproductiva de los machos cabríos de la raza Alpino-Frances adaptados al subtrópico Mexicano. *Rev. Mex. Cien. Pec.* 2, 169-178.

Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F., Delgadillo, J.A. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Ruminant Research*. 8: 299-312.

Chemineau, P., Malpoux, B., Brillard, J.P., Fostier, A. 2007. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*. 1: 419-432.

Delgadillo, J.A., Duarte, G., Flores, J.A., Vielma, J., Hernández, H., Fitz-Rodríguez, G., Bedos, M., Graciela-Fernández, I., Muñoz-Gutiérrez, M., Retana-Márquez, M.S., Keller, M. 2012. Control de la actividad sexual de los caprinos sin hormonas exógenas: uso del fotoperiodo, efecto macho y nutrición. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15 (Suppl 1): S15 - S27.

Fonseca, J.F., Bruschi, J.H., Zambrini, F.N., Demczuk, E., Viana, J.H.M, Palhao, M.P., 2005. Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. *Anim. Reprod.* 2 (1): 50-53.

Freitas, V.J.F., Baril, G., Saumande, J. 1996. Induction and synchronization of estrus in goats: The relative efficiency of one versus two fluorogestone acetate-impregnated vaginal sponges. *Theriogenology*. 46: 1251-1256.

Greyling, J.P.C., van der Nest, M. 2000. Synchronization of oestrus in goats: dose effect of progestagen. 36: 201-207.

Medan, M., Shalaby, A. H., Sharawy, S., Watanabe, G., Taya, K. 2002. Induction of estrus during the non-breeding season in Egyptian Baladi goats. *J. Vet. Med. Sci.* 64 (1): 83-85.

Menchaca, A., Rubianes, E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*. 16: 403-413.

Menchaca, A., Miller, V., Salveraglio, V., Rubianes, E., 2007. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the short-term protocol to synchronize ovulation in goats. *Animal Reproduction Science*. 102: 76-87.

Pellicer-Rubio, M.T., Leboeuf, B., Bernelas, D., Forgerit, Y., Pougard, J.L., Bonne, J.L., Senty, E., Breton, S., Brun, F., Chemineau, P. 2008. High fertility using artificial insemination during deep anoestrus after induction and

synchronization of ovulatory activity by the "male effect" in lactating goats subjected to treatment with artificial long days and progestagens. *Animal Reproduction Science*. 109: 172-188.

Penna, B., Libonati, H., Director, A., Sarzedas, A.C., Martins, G., Brandao, F. Z., Fonseca, J., Lilenbaum, W. 2013. Progestin-impregnated intravaginal sponges for estrus induction and synchronization influences on goats vaginal flora and antimicrobial susceptibility. *Animal Reproduction Science*. 142: 71-74.

Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 77: 1-14.