

# Protocolo para Proyecto de Investigación 2013

## Título del proyecto

Inseminación Artificial con semen fresco a cabras inducidas a la actividad sexual mediante el efecto macho

## Introducción

Las cabras presentan una estacionalidad reproductiva presentando un reposo o inactividad sexual durante los meses de febrero a agosto-septiembre (Duarte et al., 2008, 2010; Rivera et al., 2003).

Para poder romper la estacionalidad en la reproducción existen diferentes alternativas a las que se pueden recurrir induciendo y sincronizando la actividad reproductiva en hembras caprinas y ovinas cuando en condiciones naturales se encuentran en reposo sexual estacional. Una de las alternativas más comúnmente usadas a nivel mundial es la administración de hormonas exógenas, principalmente progesterona y progestágenos en combinación con eCG y con o sin prostaglandinas (Whitley y Jackson, 2004; Holtz, 2005).

Otro método que ha demostrado un alto frado de eficiencia en la respuesta de la actividad reproductiva con un alto porcentaje de cabras que ovulan y quedan preñadas durante diferentes meses del período de reposo sexual natural es el "EFECTO MACHO" (Flores et al., 2000; Delgadillo et al., 2003; 2009). Este método ha demostrado una alta eficiencia con fertilidades de más del 90 %, sin embargo, prácticamente no existen estudios en los cuales las cabras inducidas a la actividad sexual fuera de la estación natural de reproducción hayan quedado gestantes por el método de inseminación artificial (IA) ya sea con semen fresco o congelado. En efecto, la IA ha demostrado que con este método el avance genético para el mejoramiento y conservación de las especies es importante, manteniendo viables células reproductivas a través del tiempo y el espacio (Leboeuf et al., 1998; 2003).

## Objetivos

Determinar la sincronización del estro y la fertilidad de las cabras previamente tratadas con progesterona e inducidas artificialmente en actividad sexual (EFECTO MACHO) e inseminadas con semen fresco.

## Hipótesis

Las cabras en actividad sexual inducida artificialmente con el efecto macho, tratadas con progesterona e inseminadas con semen fresco, presentarán un bajo porcentaje de ciclos ováricos cortos y un alto porcentaje de cabras gestantes.

## Revisión de Literatura

- Amoah, E. A., Gelaye, S., Guthrie, P. Rexroad, C. E., Jr. 1996. Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *J Anim Sci*, 74, 723-728.
- Baldassarre, H. and Karatzas, C. N. 2004. Advanced assisted reproduction technologies in goats. *Anim Reprod Sci*, 82, 255-266.
- Bronson, F. H. 2009. Climate change and seasonal reproduction in mammals. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 364, 3331-3340.
- Chemineau, P., Guillaume, D., Migaud, M., Thiery, J. C., Pellicer-Rubio, M. T. Malpaux, B. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reprod Domest Anim*, 42, 40-47.
- Chemineau, P., Pellicer-Rubio, M. T., Lassoued, N., Khaldi, G. Monniaux, D. 2006. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reprod. Nutr. Dev.*, 46, 417-429.
- Delgadillo-Sánchez J. A., Flores-Cabrera J. A., Véliz-Deras F. A., Duarte-Moreno G., Vielma-Sifuentes J., Poindron-Massot P., Malpaux B. 2003. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y el efecto macho. *Veterinaria México*. 34: 69-79.
- Delgadillo J. A., Gelezb H., Ungerfeld R. 2009. The 'male effect' in sheep and goats-Revisiting the dogmas (Review). *Behavioural Brain Research*. 200: 304-314.
- Dogan, I. and Nur, Z. 2006. Different estrous induction methods during the non-breeding season in Kivircik ewes. *Veterinarian Medicin*, 51, 133-138.
- Dogan, I., Nur, Z., Gunay, U., Soyly, M. K. Sonmez, C. 2004. Comparison of flurogestone and medroxyprogesterone intravaginal sponges for oestrus synchronization in Saanen does during the transition period. *South African Journal of Animal Science*, 34, 18-22.
- Duarte G., Flores J. A., Malpaux B., Delgadillo J. A. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domestic Animal Endocrinology*. 35: 362-370.
- Duarte G., Nava-Hernández M. P., Malpaux B., Delgadillo J. A. 2010. Ovulatory activity of female goats adapted to the subtropics is responsive to photoperiod. *Animal Reproduction Science*. 120: 65-70.
- Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55, 1211-1239.
- Fatet, A., Pellicer-Rubio, M. T. Leboeuf, B. 2010. Reproductive cycle of goats. *Anim Reprod Sci*, 124, 211-219.

- Flores J. A., Véliz F. G., Pérez-Villanueva J. A., Martínez de la Escalera G., Chemineau P., Poindron P., Malpoux B. and Delgadillo J. A. 2000. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biology of Reproduction*. 62: 1409-1414.
- Freitas, V. J. F., Baril, G., Bosc, M. Saumande, J. 1996. The influence of ovarian status on response to estrus synchronization treatment in dairy goats during the breeding season. *Theriogenology*, 45, 1561-1567.
- Leboeuf B, E. Manfredi, P. Boue, A. Piacère, G. Brice, G. Baril, C. Broqua, P. Humblot, M. Terqui. 1998. L'insémination artificielle et l'amélioration génétique chez la chèvre laitière en France. *INRA.Prod. Anim.* 11 (3), 171-181.
- Leboeuf, B., Forgerit, Y., Bernelas, D., Pougard, J. L., Senty, E. Driancourt, M. A. 2003. Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. *Theriogenology*, 60, 1371-1378.
- Leboeuf B, Restall B, Salamon S. 2003. Production et conservation de la semence de bouc pour l'insémination artificielle. *INRA Prod. Anim.* 16 (2), 91-99.
- Malpoux, B. 2006. Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: NEILL, J. D. (ed.) *Physiology of reproduction*. Third ed. New York: Elsevier.
- Pearce, D. T. and Robinson, T. J. 1985. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. *J. Reprod. Fert.*, 75, 49-62.
- Ramírez, A., Alvarez, L., Ducoing, A. E., Trujillo, A. M., Gutiérrez, J. Zarco, L. A. 2001. Inducción de la actividad ovárica en cabras anéstricas mediante diferentes grados de contacto con hembras en estro. *Veterinaria México*, 32, 13-17.
- Restall, B. J., Restall, H. Walkden-Brown, S. W. 1995. The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. *Anim Reprod Sci*, 40, 299-303.
- Rivera, G. M., Alanis, G. A., Chaves, M. A., Ferrero, S. B. Morello, H. H. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Ruminant Research*, 48, 109-117.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G. Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55, 993-1004.
- Walkden-Brown, S. W., Martin, G. B. Restall, B. J. 1999. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 52, 243-257.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J Anim Sci*, 77, 1-14.
- Zarco, L., Rodríguez, E. F. Angulo, M. R. B. and Valencia, J. 1995. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Animal Reproduction Science*. 39: 251-258.

### Procedimiento Experimental

Diez días antes de dar comienzo al experimento en un hato serán seleccionadas al azar 60 hembras caprinas experimentales (anéstricas), a las cuales previamente se realizará ultrasonido transrectal para determinar el desarrollo folicular, identificándose como en reposo sexual la ausencia de ovulaciones y el desarrollo de cuerpos lúteos. Se formarán tres grupos de cabras, uno grupo (n=20) se les aplicará intra muscularmente 48 hs antes de la introducción del macho 20 mg de progesterona (P4); otro grupo (n=20) se les aplicará la misma dosis momentos antes de la introducción del macho; al otro grupo se le aplicará el mismo volumen aplicado pero solamente de suero salino fisiológico. Los machos caprinos (3) vasectomizados y previamente tratados con un protocolo de días largos a partir de noviembre y terminado enero. Estos machos serán introducidos con las hembras (1 x Gpo) permaneciendo continuamente durante 10 días y cambiándolos entre corrales. El estro será determinado dos veces al día (am-pm), las cabras que permanecieran inmóviles ante la monta del macho se considerarán en estro. Para determinar la respuesta ovulatoria se realizarán tres ultrasonidos (US) trans rectales para identificar la presencia de cuerpos lúteos indicativos de que ocurrió la ovulación y determinar la tasa ovulatoria. La cabra que se detectada en estro será inseminada con semen fresco 12 horas posteriores de haberse detectado. El semen se obtendrá de machos cabríos enteros o intactos mediante la vagina artificial, inmediatamente será evaluado en su motilidad y porcentaje de vivos y muertos bajo el microscopio con platina caliente, la concentración será determinada en una dilución de 1:200 por medio de un espectrofotómetro, de acuerdo a la concentración y al volumen obtenido del semen se determinará la concentración total para posteriormente ser diluido en determinado volumen de leche descremada estéril a 30°C y luego introducido por succión en pajillas de 0.25 ml para tener aproximadamente 200 millones de espermatozoides por pajilla. Las pajillas obtenidas serán colocadas para su transporte en cajas térmicas (hieleras) con una temperatura interna de 30 °C hasta su aplicación cervical. Alrededor de 40 días después de la IA, se les realizará un US para determinar actividad embrionaria (gestación). Los datos del estro serán analizados mediante ANOVA y la prueba de Fisher, la tasa ovulatoria será analizada mediante Kruskal-Wallis y el porcentaje de cabras gestantes será analizada mediante  $\chi^2$ .

### Cronograma de actividades.

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
----------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---