PREDICCIÓN DE FERTILIDAD EN OVEJAS RECEPTORAS DE EMBRIONES MEDIANTE VARIABLES FISIOLÓGICAS Y DE BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.

Olivera[1], J., Alabart[1], J.L., Cocero[2], M.J., Folch[1], J.

[1]Unidad de Tecn. en Prod. Animal SIA-DGA Apdo727 50080-ZARAGOZA.
[2]Área Reprod. Animal. CIT/INIA. Ctra de La Coruña, Km 5,900. 28040-MADRID.

INTRODUCCIÓN

La fertilidad de las transferencias de embriones (TE) en programas comerciales de ganaderías ovinas de Aragón, varían entre el 40 y el 70% (Folch et al., no pub.) dependiendo de factores propios de la donante, el embrión y la receptora (1). En bovinos, se han encontrado diferencias en la "aptitud" de las receptoras para mantener la preñez cuando se transfieren embriones con el mismo potencial de supervivencia (2). El objetivo de esta línea de trabajo es identificar estos animales a través de parámetros fáciles de medir. Esto incrementaría la rentabilidad de los programas comerciales en ganado ovino. La hipótesis planteada es que dicha aptitud podría predecirse a través de la asociación multifactorial de parámetros sanguíneos y otras variables fisiológicas. La herramienta estadística que hemos utilizado para ello es el análisis discriminante.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue generado de dos experiencias de TE realizadas durante la primavera de 1998. Se utilizaron 12 donantes y 40 receptoras adultas y secas de raza Rasa Aragonesa, con al menos un parto en el último año. Permanecieron estabuladas y alimentadas con una dieta que aportaba aproximadamente 1.5 veces las necesidades energéticas de mantenimiento (3), desde 30 d antes hasta 40 d p.c.

La superovulación se realizó con 9 mg de oFSH (NIADDK-oFSH-17, Ovagen™), fraccionada en 8 dosis i.m. iguales, separadas 12 hs. La 6ª inyección coincidió con la retirada de la esponja vaginal (FGA, 40mg; 12 días). A las 48 y 60 h de la misma, fueron inseminadas via intrauterina con semen refrigerado. Las receptoras recibieron 450 UI de PMSG al extraer la esponja. Se controló la aparición de celos a partir de las 24h, con intervalos de 2h. Los embriones se recuperaron a los 7 días de retirada la esponja, utilizando la técnica habitual (4). Sólo se transfirieron aquellos calificados morfológicamente como excelentes o buenos y sin retraso en su desarrollo (5). Se introdujeron 2 embriones de la misma donante en un mismo cuerno uterino, ipsilateral a un ovario con ovulación. Todas las técnicas fueron realizadas siempre por las mismas personas.

Se tomaron muestras de plasma de las receptoras en ayuno un día antes de la TE. Los análisis bioquímicos se realizaron en un autoanalizador (Vitalab Selectra™, Lab. Merck). La progesterona (P4) se midió por RIA directo, usando kits comerciales (125 I-Progesterone Coatria, Lab. Biomérieux).

La variable de clasificación fue la fertilidad (valores 0 o 1). Las variables de predicción fueron: proteína total, relación albúmina/proteína total, urea, creatinina (CREA), beta-hidroxibutirato, colesterol, fósforo (P), hierro, sodio, potasio, GLDH, LDH, CK-NAC, GOT, GPT y progesterona; edad, prolificidad al último parto, intervalo parto-transferencia (INTP), peso vivo (PESO_I) y condición corporal a la puesta y retirada de esponjas (PESO), intervalo de la retirada de esponja a la presentación del celo y tasa de ovulación.

El análisis estadístico se realizó en 3 pasos. En el primero se obtuvo el conjunto de variables que mostraba mayores diferencias entre los grupos de fertilidad (0=vacia,1=gestante), mediante un análisis discriminante por etapas. Se utilizó el método Backward (basado en análisis de varianza-covarianza) a P>0.05 para la eliminación de las variables del modelo (PROC STEPDISC de SAS) (6). En un segundo paso, se determinó la función de dichas variables que mejor predice la fertilidad (PROC CANDISC de SAS). Por último, dicha función se utilizó para predecir la fertilidad de las receptoras (PROC DISCRIM de SAS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sólo 5 de las 25 variables consideradas afectaron a la fertilidad (Tabla 1).

Tabla 1. Variables seleccionadas por el análisis discriminante (medias ± e.e., rangos generales, y medias de mínimos cuadrados ± e.e. en vacías y gestantes)

VARIABLE	MEDIA	RANGO	VACÍAS	GESTANTES
Nº receptoras	-----	-----	16	24
INTP (días)	243 ± 5.1	208 - 308	222 ± 5.7 [a]	257 ± 4.5 [b]
PESO (Kg)	54.6 ± 1.0	40 - 75	53.8 ± 0.4 [c]	55.1 ± 0.3 [d]
PESO_I (Kg)	52.5 ± 1.1	36.5 - 69.5	53.3 ± 0.3 [a]	52.0 ± 0.3 [b]
P (mg/dl)	5.8 ± 0.2	3.8 - 8.82	5.1 ± 0.2 [a]	6.3 ± 0.2 [b]
CREA (mg/dl)	0.73 ± 0.01	0.59 - 0.93	0.68 ± 0.02 [a]	0.77 ± 0.01 [b]

a,b: P<0.01; c,d: P<0.05

Las medias de mínimos cuadrados para: intervalo parto-transferencia, peso a la retirada de esponja, niveles de creatinina y fósforo fueron significativamente mayores (P<0.05) en receptoras gestantes que en vacías. Contrariamente, el peso inicial fue significativamente menor (P<0.05) en las gestantes. La función de estas variables que mejor predice la fertilidad (CANF), determinada mediante el análisis canónico discriminante, fue:

CANF = + 1.33*INTP + 2.97*PESO - 4.02*PESO_I + 1.36*P + 1.19*CREA

Las receptoras que parieron tenían mayores valores de CANF que aquellas que no lo hicieron (0.88 vs -1.32; P<0.0001; Fig. 1). Receptoras con valores de CANF mayores que -0.22 fueron clasificadas como preñadas y aquellas con valores menores, como vacías. Así, se logró predecir correctamente el 93.8% de las ovejas vacías y el 79.2% de las gestantes. En conjunto, el porcentaje de ovejas correctamente clasificadas fue del 85%. Dicho valor fue similar en las dos experiencias (76.9 vs 88.8; no significativo).

Intervalos al parto anterior mayores, contribuyen a mejorar la fertilidad. En nuestras condiciones experimentales es una variable que diferencia receptoras vacías de gestantes, aunque hemos trabajado con descansos mucho mayores a los que causan infertilidad (7). Seguramente esta variable este ocultando otras correlacionadas con ella.

La expresión con signos opuestos en la CANF de las variables PESO_I (-) y PESO (+) expresan que la ganancia de peso al momento de la TE favoreció la gestación. La ganancia de peso y condición corporal previos a la cubrición favorecen la fertilidad ovina (8). Al igual que el INTP, esta variable podría ser fácilmente controlada a través del manejo.

La bibliografía asocia el P inorgánico y la relación Ca/P a infertilidad en rumiantes carenciados (9). Los aportes de P durante la experiencia cubrían las necesidades requeridas (3), por lo que no debería pensarse en una situación carencial en las ovejas vacías.

La creatinina ha sido escasamente vinculada a estudios de fertilidad en rumiantes. En rodeos de búfalos con subfertilidad se ha hallado elevada en plasma y asociada a bajos valores de albúmina, glucosa, P y Zn (10). Esto se contrapone con lo observado en este trabajo.

Los perfiles metabólicos sólo se han correlacionado con la fertilidad y/o mortalidad embrionaria en casos de deficiencias o excesivo aporte de determinados nutrientes en la dieta (11). Esto se deba quizás, a que los valores obtenidos dentro de rangos fisiológicos no se han tratado desde un punto de vista multivariante como en el presente estudio.

Mediante esta metodología, hemos seleccionado las variables que presentan mayores diferencias entre gestantes y vacías, manteniendo fija la calidad embrionaria. Así, el efecto de cada variable representa una pequeña contribución a

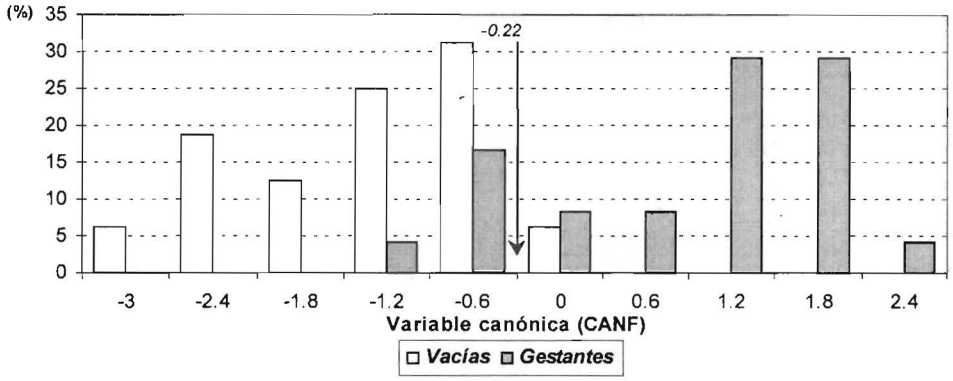


Figura 1. Diagrama de frecuencias de la variable CANF en ovejas vacías y gestantes

la fertilidad obtenida, aunque quizás, alguna de ellas oculte el efecto de otras variables correlacionadas o no consideradas. Con el fin de validar estos resultados preliminares debemos ampliar estos estudios utilizando un mayor número de animales y experiencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alabart, J.L.; Folch, J.; Fernadez-Arias, A.; Ramon, J.P.; Garbayo, A. and Cocero, M.J. Screening of some variables influencing the results of embryo transfer in the ewe. I. Five-day-old embryos. *Theriogenology* 1995. **44**: 1011-1026.
2. Cox, S.F.; McMillan, W.H.; Donnison, M.J. Establishment of a herd of cattle divergent potential pregnancy rate. *Theriogenology* 1998; **49**: **1**: 242.
3. INRA(1988) Alimentation des Bovins, Ovins et Caprins. Jarrige, G. (ed) INRA, Paris
4. Ramon, J.P.; Folch, J.; Fernandez-Arias, A.; Alabart, J.L.; Cocero, M.J.; Echegoyen, E. 1991. La técnica de la transferencia de embriones en ganado ovino. *ITEA*, vol. extra **11** (I): 61-63.
5. Muwalla, M.; Foote, W.C.; Bunch, T.D.; Call, J.W. The influence of culture and transport on pretransfer development and posttransfer survival of sheep embryos. *Theriogenology* 1988. **29**:369-379.
6. SAS Institute Inc., SAS Procedures Guide, Version 6,Third Edition, Cary, NC: SAS Institute Inc, 1990. 705 pp.
7. Wallace, J.M.; Robinson, J.J.; Aitken, R.P. Succesful pregnancies after transfer of embryos recovered from ewes induced to ovulate 24- 29 days *post partum.* J. Reprod. Fert. 1989. **86**, 627-635.
8. Coop, I.E. Effect of the flushing on reproductive performance of ewes. J. Agric. Sci., Camb. 1966. **67**, 305-323.
9. Scharp, D.W. Effect of adding superphosphate to the drinking water on the fertility of dairy cows. Australian Veterinary Journal. 1979, **55**: **5**, 240-243.
10. Fayez, I.; Marai, M.; El Darawany, A.A.; Nars, A.S. Typical repeat breeding and its improvement in buffaloes. Beitrage zur Tropischem Landwirtschaft und Veterinarmedizim.1992, **30**: **3**, 305-314.
11. Ingraham, R.H.; Kappel, L.C. Metabolic Profile Testing. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice . July 1988. Vol **4, 2**.

Financiado por INIA (Proyecto 9473). Agradecimientos: A la AECI, por financiar la beca de doctorado del primer autor; a Pilar Sánchez, por la realización de los análisis hormonales y bioquímicos, a Begoña Aguilar, Donato Andueza, Elías Echegoyen e Ismael Escota por su colaboración técnica