ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo I, 360-362

EFECTO DE LA POBLACIÓN FOLICULAR PREVIA AL TRATAMIENTO CON FSH SOBRE LA RESPUESTA SUPEROVULATORIA EN OVEJAS RASA ARAGONESA DEL ESQUEMA DE SELECCIÓN POR PROLIFICIDAD.

A. Roche[1], A. González de Bulnes[2], J.L. Alabart[1], E. Echegoyen[1], P. Sánchez[1], J. Olivera[1], M.J Cocero[2], J. Folch[1]

[1]Unidad de Tecnología en Producción Animal SIA-DGA. Apdo 727, 50080 Zaragoza
[2]Dpto. Reproducción Animal. CIT/INIA. Ctra de La Coruña, Km 5,900.8111- Madrid

INTRODUCCIÓN

Entre las actividades desarrolladas dentro del Esquema de Selección de la raza Rasa aragonesa de UPRA Oviaragón, se realiza la transferencia de embriones obtenidos de las hembras de élite previamente superovuladas (MOET) para la producción de los machos de testaje (Folch et al 2000).

La respuesta superovulatoria a los tratamientos hormonales varía entre 0 y 30 cuerpos lúteos por oveja. Esta variabilidad es un inconveniente importante para la aplicación del MOET en genética, ya que dificulta predecir el número de descendientes que se pueden tener por donadora. Esta variabilidad podría estar determinada, entre otros factores, por la población existente en el ovario al inicio del tratamiento con FSH. Este efecto ha sido descrito tanto en ovejas de prolificidad baja (Merino español, González de Bulnes et al., 2000) como de prolificidad media-alta (Ile de France, Brebion y Cognie,1989); al igual que en la vaca (Guilbault et al. 1991) y cabra (González de Bulnes et al., 2001). En base a estos antecedentes, el objetivo concreto del presente trabajo fue valorar el efecto de la población folicular (numero de folículos y presencia o ausencia de folículos preovulatorios ≥6mm) presente en los ovarios al inicio del tratamiento con FSH sobre la respuesta superovulatoria en los animales altamente prolíficos pertenecientes al Esquema de Selección.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue realizado sobre un total de 35 ovejas de raza Rasa Aragonesa selectas pertenecientes al Catálogo de Selección. Las ovejas tenían una prolificidad media de 1,9 , mientras que la media de la población del Programa es de 1,3.

Se superovularon 12 donantes en estación sexual y 23 donantes en anestro. Las donantes se sincronizaron con esponjas de 40 mg de FGA (Intervet) mantenidas durante 13 días. Las esponjas se cambiaron a los 7 días. La superovulación se realizó aplicando 8.8 mg (dosis total) de oFSH (NIADDK-oFSH-17, Ovagen ™, Laboratorios ICP) en dosis decrecientes (1.32 x 2; 1.1 x 4, y 0.88 x 2mg) a intervalos de 12 horas, desde 60 h antes hasta 24 h después de retirar el progestágeno (6ª inyección). Al momento de la primera inyección se aplicó en todos los animales Cloprostenol (0.4 ml de Estrumate, Schering-Plough) y un tranquilizante de larga acción (Flufenazina decanoato; 1 ml de Modecate 25 ,Squibb)

Las donantes se inseminaron por vía intrauterina con 200 millones de espermatozoides por cuerno uterino, 50 h después de retirar las esponjas. El semen estaba mantenido a 15ºC. Las dosis seminales fueron preparadas por el CENSYRA de Zaragoza, a partir de los machos de valor genético más alto del Esquema.

Los embriones fueron recuperados al 8º día de retirar la esponja, siguiendo el método descrito por Ramón et al 1991. Se consideraron embriones viables los calificados morfológicamente de grado 1 y 2 según Butler y Biggers (1989).

La valoración de la población folicular presente en el ovario en el momento de administrar la primera dosis de FSH se realizó por ultrasonografía transrectal, utilizando un ecógrafo Aloka SSD-500 equipado con una sonda lineal de 7,5MHz. En cada observación se valoró el número y diámetro de todos los folículos ≥2mm. La valoración de la respuesta superovulatoria se realizó mediante determinación del número de cuerpos lúteos y mediante la evaluación de los embriones recuperados.

Los datos obtenidos se analizaron mediante estudios de correlaciones y ANOVA, utilizando el paquete estadístico SAS (SAS,1989). Los resultados se expresan como la media ± error estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La respuesta media al tratamiento de superovulación fue de 14,4±1,1 cuerpos lúteos y 12,0±1,1 embriones, lo que supone una tasa de recuperación (embriones totales/cuerpos lúteos) del 83,7%. Un total de 9±1,2 embriones por oveja fueron calificados como grado 1 y 2, por lo que la tasa de viabilidad (embriones viables/embriones totales) fue del 74,7%.

La observación ecográfica mostró una media, para ambos ovarios, de 10,1±0,5 folículos de pequeño tamaño (2-3mm), de 1,9±0,2 folículos de tamaño mediano (4-5mm) y de 0,2±0,1 folículos de mayor tamaño (≥ 6mm), ya que un total de 5 ovejas (14,3%) presentaron un folículo (≥ 6mm). Trabajos previos con razas Merino español (González de Bulnes et al.,2000) y Manchega (González de Bulnes et al.,2002) muestran valores algo más bajos para la población de 2-3mm (7,0±0,6 y 9,2±0,7 respectivamente). El diámetro medio de los dos folículos mayores en tamaño (F1:4,6±0.2mm; y F2:3,2±0,1mm) fue menor que el descrito por González de Bulnes et al.,(2000) con raza Merino (F1:5,6mm; y F2:4,5mm).

El análisis separado de los datos en ovejas en estación reproductiva y en anestro para discriminar diferencias en el desarrollo folicular, y por tanto, en el tamaño de F1 y F2 mostró que ambos eran más altos en estación sexual que en anestro, aunque sin diferencias significativas (F1: 4,8±0,3mm vs 4,5±0,3mm; F2: 3,5±0,2mm vs 3,1±0,2mm). Así el porcentaje de donantes que poseen un folículo ≥6 fue similar en ambas épocas (16,7 vs 13,0%); el mismo efecto fue observado al considerar la presencia de folículos ≥5mm (58,3 vs 43,5%, n.s.). Esto indicaría que el menor tamaño de los folículos preovulatorios en las hembras utilizadas en este estudio estaría relacionado con su prolificidad, como ya ha sido descrito en otras razas (Bindon et al., 1986). Este menor tamaño es responsable del menor porcentaje de donantes con un gran folículo ≥6mm; por ello, los análisis estadísticos consideraron también la influencia de la presencia de folículos ≥5mm sobre la respuesta ovulatoria.

El número de folículos totales (≥2mm) al inicio del tratamiento se correlacionó positivamente con el número de cuerpos lúteos y la tasa de recuperación, y por tanto, el número de embriones recuperados (r=0,37 a 0,51; P<0,05 a 0,005). Esta correlación se observó también en el número de embriones viables (r=0,37; P<0,05), pero no en la tasa de viabilidad (r=0,13; P>0,47), por lo que podría ser un efecto residual. La relación entre la población folicular y los rendimientos superovulatorios estuvo determinada por el número de folículos con 2-3mm, ya que este número se correlacionó positivamente con las variables mencionadas (r=0,34 a 0,50; P<0,05 a 0,005), y no se observó ninguna correlación con la población de folículos de 4 y 5 mm de diámetro. Estos resultados son similares a los descritos por Cognie (1999) mediante endoscopia y por González de Bulnes et al., (2002) mediante ecografía.

La presencia de un folículo ≥6mm provocó una disminución de aproximadamente tres folículos de 2-3mm respecto a las ovejas en que no se presentó este folículo (10,6±0,5 vs 7,2±0,9; P<0,01), debido a una correlación negativa entre el número de folículos de 2-3mm y el número de folículos ≥6mm (r=-0.42; P<0.015). Esto indicaría que los folículos ≥6mm habrían alcanzado la dominancia y tendrían un efecto negativo sobre la población de folículos de menor tamaño. La presencia de estos folículos tuvo un efecto negativo (Tabla I) sobre el número de cuerpos lúteos, la tasa de viabilidad y el número de embriones viables (P<0,05); las diferencias alcanzaron mayor nivel de significación (P<0,01) para las variables tasa de recuperación y embriones recuperados totales coincidiendo con lo descrito en animales no prolíficos (González de Bulnes et al., 2002).

Tabla I. Rendimientos en ovejas Rasa Aragonesa de Selección por prolificidad con presencia ó ausencia de folículos ≥6mm al inicio del tratamiento con oFSH.

	n	Cuerpos lúteos	Tasa de recuperación	Embriones recuperados	Tasa de viabilidad	Embriones viables
Ausencia de folículo≥6mm	30	15,5±1,2^{c}	85,4±3,6^{a}	13,3±1,2^{a}	77,7±5,9^{c}	10,2±1,2^{c}
Presencia de folículo≥6mm	5	7,8±1,9^{d}	53,5±15,9^{b}	4,6±1,4^{b}	41,4±18,9^{d}	2±0,9^{d}

a,b:P<0,01; c,d:P<0,05

El análisis realizado considerando los folículos ≥5mm mostró que su presencia disminuía el número de cuerpos lúteos, la tasa de recuperación y el número de embriones recuperados, aunque las diferencias no fueron significativas (Tabla II). Sin embargo, sí que ejerció un marcado efecto negativo en la tasa de viabilidad (P<0,005) y en el número de embriones viables (P<0,05).

Tabla II. Rendimientos en ovejas Rasa Aragonesa de Selección por prolificidad con presencia ó ausencia de folículos ≥5mm al inicio del tratamiento con FSH-o.

	n	Cuerpos Lúteos	Tasa de recuperación	Embriones recuperados	Tasa de viabilidad	Embriones viables
Ausencia de folículo ≥5mm	18	15,0±1,5^{a}	85,3±4,9^{a}	12,9±1,4^{a}	90,6±3,7^{a}	11,8±1,4^{c}
Presencia de folículo ≥5mm	17	13,7±1,8^{a}	76,1±6,9^{a}	11,0±1,8^{a}	53,4±10^{b}	6,0±1,6^{d}

a,b:P<0,005; c,d:P<0,05

En conclusión, los resultados obtenidos señalan que las ovejas de alta prolificidad incluidas en el Esquema de Selección muestran una población folicular algo mayor a la descrita en ovejas de otras razas de menor prolificidad. También, se ha encontrado un menor diámetro de los folículos morfológicamente dominantes. En todo caso, la presencia de estos grandes folículos al comienzo de un tratamiento superovulatorio con FSH exógena parece ser uno de los factores que provocan la alta variabilidad en la respuesta ovárica de los animales utilizados en el Esquema de Selección de Rasa Aragonesa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-Bindon, B.M, Piper, L.R., Cahill, L.P., Driancourt, M.A, O´shea, T. 1986. Theriogenology, 25: 53-70.

-Butler JF, Biggers JD. 1989. Theriogenology, 31: 115-126.

-Cognie Y.. 1999. Therigenology, 51: 105-116

-Foch J., Olivera J., Aguilar B., Alabart JL, Sánchez P., Echegoyen E., Cocero MJ. 2000. Producción Ovina y Caprina XXV : 559-561.SEOC (ed.)

-González de Bulnes A., Santiago-Moreno J., Cocero M.J., Lopez-Sebastián A. 2000. Theriogenology 54: 1055-1064.

-González de Bulnes A., García-García R.M., Diaz Delfa C., Santiago-Moreno J., Carrizosa J.A., Urrutia B., Cocero M.J., Lopez Sebastián A. 2001. ITEA, Vol. Extra, 22(2), 754-756.

-González de Bulnes A., Santiago-Moreno J., Cocero M.J., Souza C.J.H., Groome N.P., García-García R.M., Lopez Sebastián A., Baird D.T. 2002. Theriogenology 57:1263-1272

-Guilbault , L.A., Grasso F., Lussier J.G, Rouillier P., Matton P.1991. J Reprod Fert; 91: 81-89.

-Ramon, J.P.; Folch, J.; Fernández-Arias,A.; Alabart J.L.; Cocero,M.J. Y Echegoyen,E.,1991. ITEA, Vol. Extra, 11(1), 61-63.

-SAS Institute Inc., SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volume 2, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989. 846 pp.

Financiado por CDTI Proyecto nº 1999/0341.Agradecimientos: a Iván Larenas por la ayuda prestada durante la realización de las ecografías.