

VI. LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ANIMAL APLICADAS A UN PROYECTO DE DESARROLLO: SIETE AÑOS DE PUESTA EN MARCHA DEL PROYECTO MERINO FINO-RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ÁREA REPRODUCTIVA

G. Durán¹

Publicado en Diciembre 2006

VI.1. INTRODUCCIÓN

En 1998, la Sociedad de Criadores de Merino Australiano del Uruguay (SCMAU), el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y el Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL) pusieron en marcha el “Proyecto de investigación y desarrollo de Merino Fino en Uruguay” o más conocido como Proyecto “Merino Fino” cuyo objetivo era desarrollar una alternativa que permitiera mejorar la sustentabilidad de la producción ovina sobre todo en los campos de basalto superficial donde es más limitada la posibilidad de aplicación de otras opciones productivas (Montossi *et al.*, 2000).

La primera etapa fue conformar el Núcleo Fundacional Merino Fino (NMF) que comenzó a mediados de 1998 con la selección de borregas por parte de integrantes de las tres instituciones involucradas, en los distintos establecimientos interesados en integrar dicho núcleo. En la presente reseña haremos una evaluación de los resultados obtenidos desde el punto de vista reproductivo relacionado con la Inseminación Artificial Intrauterina (IAIU) y en los últimos años con la incorporación de la Transferencia Embrionaria.

VI.2. INICIO DEL PROYECTO

En abril de 1999 se iniciaron los trabajos de inseminación en la Unidad Experimental “Glencoe”, situada en el Dpto. de Paysandú sobre la Ruta 26, para lo cual se seleccionaron 6 carneros australianos de referencia en base a sus datos de progenie. Se importó semen de dichos carneros y se inseminaron 456 borregas mediante IAIU.

Se estableció el protocolo de sincronización que está estandarizado para este tipo de inseminación y que es básicamente, la introducción de una esponja impregnada en un progestágeno, que se coloca en la vagina por espacio de 12 a 14 días, luego de lo cual se retira y se inyecta una PMSG (gonadotrofina obtenida del suero de yegua preñada) que estimula la ovulación y permite realizar la inseminación a tiempo fijo (Maxwell y Evans, 1987). Se hicieron tres lotes, inseminando cada uno de ellos con una semana de diferencia para facilitar el posterior repaso con carneros y también la parición.

El lote estaba integrado en el 100% por borregas, todas procedentes de distintos establecimientos y la gran mayoría de ellas recién llegadas a Glencoe para iniciar el tratamiento de sincronización, todas condiciones no muy alentadoras para realizar una IAIU. De esa forma tuvo inicio el Proyecto “Merino Fino”. Desde entonces y hasta la fecha se ha continuado con este protocolo, con algunas variantes según el año, número de ovejas, carneros a evaluar, etc. A otoño de 2006 se llevan realizadas un total de 3622 inseminaciones utilizando

¹ Actividad privada. Empresa Durán - Reproducción animal.

la IAIU. Según el año y la disponibilidad de carneros, se siguieron distintas estrategias en lo que tiene que ver con el repaso de inseminación, ya sea monta natural, monta controlada o IA tradicional o la combinación de ellas.

Fecha inicio	Abr-99
Inseminaciones a Abr. 2006	3622

VI.3. RESPUESTA A LA SINCRONIZACIÓN

El protocolo de sincronización descrito anteriormente se utilizó año a año en las ovejas del Núcleo, salvo alguna excepción. La composición del Núcleo fue variando con la incorporación de borregas hijas del mismo y eliminación de ovejas por distintos motivos. El Cuadro 1, muestra la composición de la majada en los años sucesivos y el porcentaje de borregas que la integran.

Cuadro 1. Evolución de la composición de la majada y el porcentaje de borregas que la integran.

Generación	Año							
	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
1998	456	485	356	275	197	119	74	17
1999	0	0	144	127	118	90	76	43
2000	0	0	0	85	78	65	52	30
2001	0	0	0	0	94	87	78	43
2002	0	0	0	0	0	84	77	37
2003	0	0	0	0	0	0	108	91
2004	0	0	0	0	0	0	0	108
Borregas (%)	100	0	29	17	19	19	22	29

La respuesta a los tratamientos de sincronización presentó variaciones entre los años, debido a diversos factores. En el análisis de los datos, no surge claramente cual o cuales de esos factores fueron los que determinaron las distintas respuestas. Es sabido que entre esos factores se destacan, el clima, la edad, la condición corporal, la reexposición al tratamiento. En el Cuadro 2, se establece el porcentaje de animales inseminados sobre los animales tratados.

Cuadro 2. Porcentaje de animales inseminados respecto al total de animales tratados.

Año	Generación							Total
	'98	'99	'00	'01	'02	'03	'04	
1999	90	-	-	-	-	-	-	90
2000	90	-	-	-	-	-	-	90
2001	66	78	-	-	-	-	-	69
2002	84	67	64	-	-	-	-	76
2003	62	89	92	60	-	-	-	68
2004	60	71	92	86	74	-	-	74
2005	-	-	-	84	78	73	-	78
2006	88	100	100	97	97	80	78	86

Fuente: De Barbieri *et al.*, sin publicar.

Como puede verse en ambos cuadros, al variar la composición de la majada, varía también la respuesta a la sincronización. Si observamos la columna de la generación 98, la respuesta a la sincronización tiende a bajar con la reexposición al tratamiento. Esto tiene vinculación con el uso de la PMSG. Dicha hormona es obtenida del suero de yegua preñada y es una proteína de alto peso molecular que estimula al sistema inmunológico de la receptora a generar anticuerpos contra ella. La sucesiva exposición a la misma determina una disminución en la respuesta a la ovulación. Otra observación es la respuesta de las borregas que a partir del año 2002 ingresan al sistema de sincronización e inseminación y cuyos porcentajes de sincronización fueron menores -aunque no ocurrió así el primer año- es posible que además de la edad, en este caso estuviera influyendo algún otro factor.

El año 2005 se opta por otra metodología de sincronización en parte de las ovejas, para evitar precisamente esa reexposición a la PMSG y postulando la posibilidad que un año de descanso fuera beneficioso para las mismas y poder retornar a la utilización de esponja + PMSG al año siguiente. Este cambio en el tratamiento de sincronización limitó el uso de semen congelado, optándose para estos animales por el uso de semen fresco de carneros del mismo Núcleo.

El tratamiento elegido fue el denominado Synchrovine® (2003)(Menchaca y Rubianes, 2004) que propone la administración de dos dosis de Prostaglandina separadas 6 a 8 días e inseminado con semen fresco pero por laparoscopia a las 48 horas de la 2^{da} dosis. Debido a la dificultad en determinar el momento óptimo de ovulación, con éste método de sincronización, no se utilizó semen congelado por su alto costo y por la imposibilidad de asegurar un buen resultado. La opción de utilizar semen fresco fue en base al costo muy bajo que tiene el semen en éste caso. Más adelante veremos los resultados de preñez y parición obtenidos.

VI.4. PREÑECES OBTENIDAS

Solamente referido a la I.A.I.U. utilizando semen congelado y en algunos casos (como vimos en 2005) utilizando semen fresco, los porcentajes de preñez han variado en un rango de 92 a 29%. Analicemos estos datos. En la Figura 1 y Cuadro 3, se presenta la tendencia del porcentaje de preñez por generación y por año.

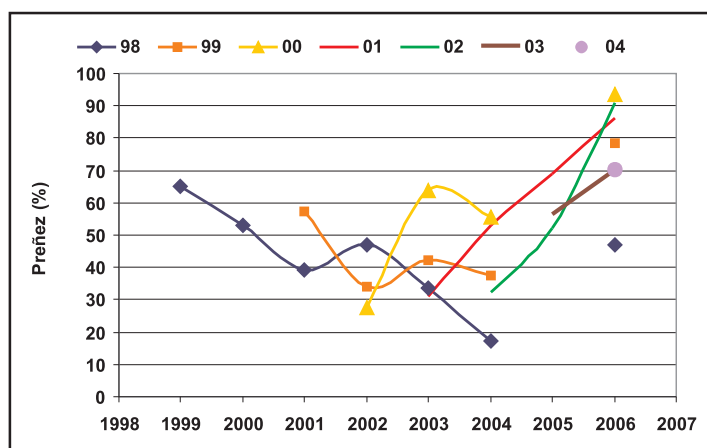


Figura 1. Tendencia del porcentaje de preñez por generación y por año.
Fuente: De Barbieri *et al.*, sin publicar.

Cuadro 3. Porcentajes de Preñez y Parición según año para cada generación.

Año	Preñez en %							Parición en %						
	'98	'99	'00	'01	'02	'03	'04	'98	'99	'00	'01	'02	'03	'04
1999	72							81						
2000	59							63						
2001	60	73						82	84					
2002	56	51	43					60	54	43				
2003	54	48	70	52				90	70	104	63			
2004	29	53	61	62	43			32	71	91	76	52		
2005	22*	45*	50*	82	67	77		33*	59*	63*	115	102	104	
2006	53	78	93	89	94	88	91	73	104	133	123	141	111	111

Nota: * Synchronvine, semen fresco.

Fuente: De Barbieri *et al.*, sin publicar.

En la Figura 1 y en el Cuadro 3, se puede observar claramente la disminución de la fertilidad que presentaron las ovejas generación 98, es decir las ovejas fundadoras; 72 a 29% de preñez y 81 a 32% de parición. Sin embargo, en el 2006, el porcentaje de preñez de esa misma generación ascendió a 53% y 73% de parición. Algo similar ocurre con la generación 99 y 00. En estas 3 generaciones se cambió la estrategia de sincronización, utilizando la doble dosis de Pg. separada 7 días (Synchronvine®). Parecería ser que el descanso impuesto a la resincronización, mejoró la respuesta a la misma, fortaleciendo también la tesis de que la baja fertilidad es debida a la sucesiva exposición de las ovejas a la PMSG. No hay que perder de vista el hecho de que el porcentaje de ovejas de estas generaciones que integran la majada fue descendiendo paulatinamente.

Considerando solamente la categoría borregas, si observamos el año 2002, la generación 00 obtuvo el menor % de preñez, al igual que las generaciones 01 y 02, sin embargo en 2005 las borregas 03 obtuvieron un 77% de preñez y 104% de parición. Este es un excelente resultado para esta categoría, comparable al obtenido en la 1^{era} inseminación con las borregas fundadoras que obtuvieron un 72 y 81% respectivamente.

Analizando el total de ovejas sincronizadas cada año y el posterior porcentaje de preñez y parición, tenemos el siguiente Cuadro 4.

Se observa una clara disminución de la fertilidad de toda la majada a lo largo de los años, sobre todo en los años 2002, 2003 y 2004. Pueden estar actuando allí varios factores, entre

Cuadro 4. Porcentajes de Preñez y Parición para el total de ovejas sincronizadas según año.

Año	Sobre Inseminadas		Sobre Sincronizadas	
	Preñez	Parición	Preñez	Parición
1999	72	81	65	73
2000	59	63	53	57
2001	64	83	44	57
2002	53	56	40	43
2003	54	80	37	54
2004	48	61	35	45
2005	76	107	59	84
2006	87	93	75	81

Fuente: De Barbieri *et al.*, sin publicar.

los que ya analizamos las categorías y la reiteración del tratamiento con PMSG, pero el factor clima que anteriormente lo mencionamos al pasar es un factor muy determinante. Estamos trabajando con ovejas sincronizadas e inseminando a tiempo fijo, lo cual significa que una vez iniciado el tratamiento queda fijada una fecha y una hora de inseminación, por lo cual llegada esa fecha se debe realizar la misma. Ocurre que muchas veces coincide con días de muy alto registro pluviométrico y la lluvia es muy estresante para los ovinos y determina bajas importantes de la fecundidad. Están los registros pero no se ha hecho el análisis correspondiente, pero recordamos los años 2002 y 2003 como años de abundantes precipitaciones en la zona en ese período de inseminación.

Otro factor que puede influir es el semen. Todos los años se importa semen de los carneros de referencia elegidos y se utiliza en el NMF. El Cuadro 5, muestra los resultados según los carneros utilizados. Este cuadro fue adaptado de información de De Barbieri *et al.* (sin publicar), para mostrar solamente los resultados comparativos entre el semen congelado importado de Australia.

Cuadro 5. Porcentajes de Preñez y Partición en cada año, según carnero utilizado.

Carnero	1999		2000		2001		2002		2003		2004		2005	
	%Pr	%Pa	%Pr	%Pa	%Pr	%Pa	%Pr	%Pa	%Pr	%Pa	%Pr	%Pa	%Pr	%Pa
AD W35	63	74	58	62	89	111								
AA 95-391							45	45	37	49	59	79	80	114
LP 1733	67	80	62	65	69	100	60	66	67	100				
LP 910246									64	95	42	55	70	100
LP 990318							44	47	67	107	32	39	75	88
M 214.5	80	89	51	57	70	78	64	71						
N 286	74	80	57	58			52	52	33	33				
N 52	74	84	69	73			66	74	33	83				
Y 539	72	78	59	65	40	60								
TG 680052					61	76	41	41	40	60	0	0		
TP R25					68	84	56	59	58	79				

Fuente: De Barbieri *et al.*, sin publicar.

En el cuadro se observan valores individuales excelentes y muy bajos, si analizamos carnero por carnero vemos que hay animales que mantienen valores similares año a año, pero la mayoría varían sustancialmente. Esto necesariamente está indicando la variabilidad por el efecto año, clima, edad, reiteración del tratamiento, debido a que en su gran mayoría la partida de semen es la misma como también es el mismo equipo técnico el que realiza la inseminación. En algunos casos el número de ovejas a inseminar por carnero era muy bajo, lo que aumenta la posibilidad de obtener resultados extremos.

VI.5. MULTIOVULACIÓN Y TRANSFERENCIA EMBRIONARIA (MOTE)

La Transferencia Embrionaria (TE) se remonta a 1891 cuando se logra el nacimiento de un conejo por medio de esta técnica (Hafez, 1993). En Uruguay, el primer producto nacido de TE es un cordero de la raza Ideal en una receptora Corriedale, en diciembre de 1968 por el Dr. A. Durán del Campo y el Biólogo Alberto Konnickx.

La MOTE consiste básicamente en lograr mediante un tratamiento de superovulación, obtener un mayor número de óvulos en un ciclo estral, inseminar la hembra y a los 7 días obtener, mediante lavado quirúrgico de los cuernos uterinos, los embriones y transplantarlos a hembras receptoras para que éstas continúen con la gestación. De esta forma es posible

obtener de una hembra superior entre 5 y 10 o más corderos en una misma estación reproductiva.

En el NMF, se ha ido generando información de toda la población tanto de los machos como de las hembras que permanecen en el Núcleo, de esa información surgen las hembras con mayor mérito genético y por ende también es posible aprovechar su potencial. En ese sentido, fue que en el año 2004 se puso en marcha un programa de MOTE en las hembras genéticamente superiores. En ese año se seleccionaron 6 ovejas donantes y se transplantó a 23 receptoras 36 embriones, resultando solamente 3 ovejas preñadas

En 2005 el total de donantes superovuladas fue de 14, recolectándose un total de 88 estructuras embrionarias, que se transplantaron a 37 receptoras, resultando 22 ovejas preñadas con una tasa de fertilidad de 59.5%. Si consideramos las estructuras viables, es decir embriones clasificados como transferibles, el total de los mismos fue de 76, donde 29 de ellos de buena calidad. Los embriones que continuaron con la gestación fueron 27, por lo que la tasa de sobrevivida fue de 35.5% (Cuadros 6 y 7).

Finalmente en 2006 el total de ovejas donantes fue de 12, de las que se recuperaron 113 embriones que fueron implantados en 62 receptoras y continuaron con la gestación 40 ovejas, es decir el 64.5%(Cuadro 8).

Continuando con el análisis de los resultados de este último año, relacionando las preñeces obtenidas con la calidad de los embriones surgieron los siguientes datos (Cuadro 9).

Cuadro 6. Tasa ovulatoria, estructuras recuperadas y estructuras transferidas.

Donante	Tasa Ovulatoria	Estructuras Recuperadas	Estructuras Transferibles	Descendencia Esperada
3272	16	11 (68.7%)	7	5
3192	12	4 (33.3%)	1	1
3341	19	17 (89.5%)	3	3
3271	10	4 (40%)	1	1
3165	9	2 (22.2%)	1 (vitricado)	0
3026	15	2 (13.3%)	1 (vitricado)	0
2117	18	7 (38.9%)	2 (vitricados)	0
3152	4	2 (50.0%)	2	2
3413	8	8 (100%)	1	0
3262	6	3 (50.0%)	3	3
1332	9	6 (66.7%)	3	2
3001	8	5 (62.5%)	2	1
3232	10	8 (80.0%)	3	5
2104	16	9 (56.3%)	2	4
Total	160 (11.4 prom.)	86 (61.4%)	32 (37.2%)	27
TOTAL ESTRUCTURAS TRANSFERIDAS: 76				

Cuadro 7. Resultados finales MOTE 2005.

	Carav	Rec OF	Ov1	Ov2	Preñez	Parición	PM/PT	%OGM	CordPot
Padres	AA 95-391	27	15	3	67	78	20	11	21
	LP 910246	8	2	2	50	75	100	25	6
	LP 990318	2	0	0	0	0	0	0	0
	Total	37	17	5	59	73	29	14	27
Madres	2101332	3	2	0	67	67	0	0	2
	2202104	5	1	2	60	100	200	40	5
	2303001	3	1	0	33	33	0	0	1
	2303152	2	2	0	100	100	0	0	2
	2303192	2	0	0	0	0	0	0	0
	2303232	5	3	1	80	100	33	20	5
	2303262	2	1	1	100	150	100	50	3
	2303271	1	1	0	100	100	0	0	1
	2303272	6	4	1	83	100	25	17	6
	2303341	5	2	0	40	40	0	0	2
	2303413	3	0	0	0	0	0	0	0
Total	37	17	5	59	73	29	14	27	

Cuadro 8. Resultados MOTE 2006.

Total ovejas donantes:	12
Total embriones implantados:	113
Promedio embr. recuperados/donante:	9.41
Total receptoras implantadas:	62
Promedio embriones/receptora:	1.82
Total receptoras preñadas:	40
% de preñez:	64.51
Total corderos potenciales:	62
Total corderos potenciales/oveja donante:	5.16

Cuadro 9. Discriminación de embriones recuperados por donante y potenciales corderos.

Donante	N° embriones recuperados	N° embriones implantados	Corderos potenciales	%
4008	14	14	9	64.2
4031	5	5	0	0.0
4156	4	4	1	25.0
4160	14	14	9	64.2
4145	15	15	5	33.3
4022	7	7	3	42.8
1332	11	11	3	27.2
4120	12	12	5	41.6
4004	14	14	12	85.7
3021	13	13	11	84.6
4024	1	1	1	100.0
4032	3	3	3	100.0
Total	113	113	62	54.8

La calidad del embrión se establece en función de la integridad del mismo, la clara delimitación de sus células, la presencia o ausencia de células en estado degenerativo, etc.

En base a ello se hace una clasificación subjetiva con número 1 a 4 siendo 1 excelente calidad y 4 mala calidad o no transferible. En base a esa clasificación, los embriones obtenidos en Glencoe en Mayo 2006 arrojaron los siguientes resultados (Cuadro 10):

Cuadro 10. Porcentaje de preñez obtenido según clasificación subjetiva de la calidad de los embriones.

Calidad	1	1-2	2	2-3	3	4
% Preñez	75	80	58	66	33	25

Es evidente que en la medida que se obtengan embriones de calidad 1, 1-2 o 2, las chances de continuar con la gestación son también mayores.

La calidad de los embriones también está muy relacionada con el tratamiento de superovulación, la calidad de la hormona utilizada, la respuesta individual de la oveja, el momento óptimo de IA, etc. En este caso la calidad de los embriones obtenidos fue sustancialmente mejor que en los años anteriores, en función de haber controlado más todos los parámetros antes mencionados.



Foto 1. Imagen durante el lavado de embriones en una donante.

La MOTE es una técnica de fácil realización, requiriendo por supuesto un entrenamiento previo tanto en el área quirúrgica como embriológica, en la manipulación de los embriones y en la manipulación de los tractos reproductivos de las hembras donantes. No debemos olvidar que la hembra donante podrá ser nuevamente sometida a una MOTE, o quedar como reproductora debido a su potencial genético, por lo que es fundamental extremar los cuidados en el momento de la cirugía.

La MOTE puede ofrecer innumerables beneficios si se aplica en animales elite, pudiendo incluso realizar más de una MOTE en una misma estación reproductiva. La congelación de los embriones -que también es factible- nos permite imaginar escenarios más ambiciosos, teniendo hembras destinadas a la MOTE incluso a contra estación y poder congelar los embriones obtenidos, de esa forma poder lograr de una hembra mucha mayor descendencia.

VI.6. BIBLIOGRAFÍA

EVANS, G. Y MAXWELL, W.M.C. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths, Sydney, Australia.

HAFEZ, E.S.E. 1993. Reproducción e inseminación artificial en animales. E.S.E. Hafez ed. 5ª ed., México, Interamericana.

MENCHACA, A. Y RUBIANES, E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fert and Dev.* 16: 403-413.

MONTOSSI, F.; SAN JULIÁN, R.; DE MATTOS, D.; MEDEROS, A.; DE LOS CAMPOS, G.; DE BARBIERI, I.; FRUGONI, J.; ZAMIT, W.; LEVRATTO, J.; GRATTAROLA, M. Y PÉREZ JONES, J. 2000. Situación actual y Perspectivas del Proyecto Merino Fino del Uruguay: Núcleo Fundacional de la Unidad Experimental Glencoe de INIA-Tacuarembó. Tacuarembó: INIA. (Serie de Actividades de Difusión N° 346).

SYNCHROVINE®, 2003. Ministerio de Industria y Energía. Cámara Nacional de Registros.