

SELENIO Y VITAMINA E EN LA FERTILIDAD DE OVEJAS PELIBUEY SINCRONIZADAS CON PROGESTERONA

Selenium and vitamin E in the fertility of Pelibuey ewes synchronized with progesterone

Silvia Fraire-Cordero, Arturo Pró-Martínez, Gustavo Ramírez-Valverde, Carlos Sánchez-del Real, Jaime Gallegos-Sánchez ✉

(SFC) (APM) (GRV) (JGS) Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera Federal México-Texcoco. Montecillo, Texcoco. Edo de México. CP. 56230. Tel: (595) 95 202 00 gallegos@colpos.mx

(CSDR) Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco. Edo de México.

Artículo recibido: 06 de abril 2010, **aceptado:** 21 de enero de 2013

RESUMEN. Se realizaron dos experimentos con la finalidad de evaluar el selenio y la vitamina E (Se-VE) en ovejas Pelibuey. La aplicación de Se-VE se realizó dos días antes del retiro de la progesterona (P). Se observó el inicio de estro, número de cuerpos lúteos, fertilidad, parición, fecundidad y prolificidad. En el primer experimento se utilizaron 125 hembras asignadas al azar a uno de ocho tratamientos. P (T1; n = 12), P + Se-VE (T2; n = 12), P + Gonadotropina coriónica equina (eCG; T3; n = 12), P + Alimentación dirigida (AD; T4; n = 12), P + Se-VE + eCG (T5; n = 12), P + Se-VE + AD (T6; n = 12), P + eCG + AD (T7; n = 12) y P + Se-VE + eCG + AD (T8; n = 12). Posteriormente se adicionó un noveno tratamiento (T9, Sin fármacos (SF), n = 29). En el segundo experimento se utilizaron 178 hembras asignadas al azar a uno de los siguientes tratamientos. P (T1; n = 62), P + Se-VE + eCG (T2; n = 62) y SF (T3; n = 54). El análisis de datos se realizó mediante pruebas de Chi-cuadrada para las variables en porcentaje, y análisis de varianza para las variables cuantitativas. En el experimento uno, el inicio al estro fue diferente ($p \leq 0.05$) para T3 y T5. El T9 fue diferente del resto de los tratamientos ($p \leq 0.05$) para fertilidad, parición y fecundidad. En el experimento dos T2 fue diferente ($p \leq 0.05$) para el inicio del estro. El T2 y T3 fueron diferentes ($p \leq 0.05$) para fertilidad, parición y fecundidad. Se sugiere que la administración de Se-VE + eCG puede utilizarse como una estrategia para mejorar la sincronización de estros y homogenizar su presentación en un menor tiempo, sin disminuir la eficiencia reproductiva de las ovejas Pelibuey.

Palabras clave: *Selenio, vitamina E, fertilidad, alimentación dirigida, ovejas Pelibuey*

ABSTRACT. Two experiments were carried out to evaluate selenium and vitamin E (Se-VE) in Pelibuey ewes. The application of Se-VE took place two days before progesterone (P) was no longer provided. The onset of estrus, the number of corpus luteum, fertility, lambing, fecundity and prolificacy were recorded. In the first experiment, 125 females were used and randomly assigned to one of eight treatments. P (T1; n = 12), P + Se-VE (T2; n = 12), P + Equine chorionic gonadotropin (eCG; T3; n = 12), P + Directed feeding (AD; T4; n = 12), P + Se-VE + eCG (T5; n = 12), P + Se-VE + AD (T6; n = 12), P + eCG + AD (T7; n = 12) and P + Se-VE + eCG + AD (T8; n = 12). Later, a ninth treatment was added (T9, Without drugs (SF), n = 29). In the second experiment, 178 females were used and randomly assigned to one of the following treatments. P (T1; n = 62), P + Se-VE + eCG (T2; n = 62) and SF (T3; n = 54). Data were analysed with a Chi-square test for variables in percentages, and with an analysis of variance for quantitative variables. In the first experiment, the beginning of estrus was different ($p \leq 0.05$) for T3 and T5. T9 was different from the other treatments ($p \leq 0.05$) for fertility, lambing and fecundity. In the second experiment, T2 was different ($p \leq 0.05$) for the onset of estrus. T2 and T3 were different ($p \leq 0.05$) for fertility, lambing and fecundity. It is suggested that the administration of Se-VE + eCG may be used as a strategy to improve estrus synchronisation and to homogenise its appearance in less time, without decreasing the reproductive efficiency of the Pelibuey ewes.

Key words: *Selenium, vitamin E, fertility, directed feeding, Pelibuey ewes*

INTRODUCCIÓN

El organismo está bajo el ataque constante de radicales libres, tales como, el hidrógeno (H), el ion superóxido de oxígeno (O_{-2}), el hidroxilo (OH) o moléculas como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), formados como consecuencia de la actividad metabólica normal. Estos factores pueden afectar varios procesos asociados con el potencial reproductivo de la hembra, entre los que destacan: la síntesis de esteroides por el ovario (Kamada & Ikumo 1997), la maduración del ovocito (Agarwal *et al.* 2005), la fertilidad (Agarwal & Allamaneni 2004) y el desarrollo embrionario (Das *et al.* 2006). Como protección contra estos eventos, el organismo cuenta con sistemas antioxidantes que evitan el daño ocasionado por los radicales libres. La administración de antioxidantes como el selenio (Se) y la vitamina E pueden ayudar a mejorar la función reproductiva, ya que tienen una función complementaria en los sistemas antioxidantes (Gardiner & Reed 1994). El Se es un cofactor de la enzima glutatión peroxidasa que actúa en los compartimientos intracelulares y extracelulares, catalizando la destrucción de peróxidos (Rotruck *et al.* 1973). Por su parte, la vitamina E mantiene la integridad de los fosfolípidos de la membrana celular protegiéndolos contra el daño oxidativo y la peroxidación (Combs 1998).

Por otra parte, numerosos estudios muestran la influencia de la aplicación de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) en el número de cuerpos lúteos, sincronización de estros, la ovulación y prolificidad (Evans 2003, Liu *et al.* 2007, Martínez *et al.* 2007); de igual forma se reporta que una suplementación con concentrados energéticos o proteínicos en el periodo antes de la inseminación está asociada a un incremento en el desarrollo folicular y el número de cuerpos lúteos (O' Callaghan & Boland 1999, Scaramuzzi *et al.* 1999).

Actualmente, los efectos que se conocen de la aplicación de selenio y vitamina E en la reproducción son muy variables. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la administración exógena de selenio-vitamina E (Se-VE), alimentación dirigida (AD), y aplicación de

gonadotropina coriónica equina (eCG), al desarrollar un protocolo de sincronización del estro por nueve días, en la fertilidad de ovejas Pelibuey con condición corporal de 3.5 a 4.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos experimentos; el primero de septiembre de 2008 a enero de 2009 y el segundo de julio a noviembre de 2009, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, localizado en Montecillo, estado de México, México. El lugar de estudio se ubica a 2250 msnm, en las coordenadas geográficas 19° 29' LN y 98° 53' LO, siendo el clima predominante templado subhúmedo con lluvias en verano (García 1988).

Animales, manejo y tratamientos

En ambos experimentos, la condición corporal de las ovejas fue de 3.5 a 4.0 unidades en la escala de Russel *et al.* (1969) que va de uno (muy flacas) a cinco (muy gordas). Todos los animales, previo al inicio de los experimentos, se desparasitaron con Closantil 5 % ® (60 mg de closantel, Laboratorios Chinoin), se vitaminaron con 500 000 UI de vitamina A, 75 000 UI de vitamina D3 y 50 UI de vitamina E (Vigantol ®, Laboratorios Bayer), y vacunaron con Bobac 8 ® (Laboratorios Intervet) para protegerlas contra las principales enfermedades clostridiales.

En el experimento uno, se utilizaron 125 ovejas Pelibuey primíparas, con una edad aproximada de 11 meses y 33.9 ± 0.3 kg de peso, las cuales fueron distribuidas de manera aleatoria a uno de los siguientes tratamientos: solo progesterona (P; T1; n = 12), P + Se-VE (T2; n = 12), P + eCG (T3; n = 12), P + AD (T4; n = 12), P + Se-VE + eCG (T5; n = 12), P + Se-VE + AD (T6; n = 12), P + eCG + AD (T7; n = 12) y P + Se-VE + eCG + AD (T8; n = 12) y posteriormente se adicionó un noveno tratamiento, sin fármacos (SF; T9; n = 29), el cual se estudio de forma contemporánea con los ocho tratamientos. En el experimento dos, se utilizaron 178 ovejas Pelibuey de primer parto, con una edad aproximada de 18 meses y 44.1 ± 0.4 kg de peso, distribuidas al azar en uno de los siguientes

tes tratamientos: P (T1; n = 62), P + Se-VE + eCG (T2; n = 62) y SF (T3; n = 54), este último adicionado posteriormente como en el experimento uno.

Alimentación y alojamiento

Las ovejas de ambos experimentos estuvieron alojadas en cuatro corrales con piso de arcilla con un espacio de 2 m² por hembra. La frecuencia de alimentación fue de dos veces al día en el mismo comedero en ambos experimentos, ofreciéndoles cada vez 700 g oveja⁻¹ de un alimento balanceado (heno de avena 40 %, maíz rolado 16 %, salvado de trigo 14 %, rastrojo de maíz 10 %, cascarilla de soya 9.0 %, pasta de soya 8.5 %, sales minerales 1.0 %, carbonato de calcio 1.0 % y ortofosfato 0.5 %) con 2.4 Mcal de EM Kg de MS⁻¹ y 14% de proteína cruda. En caso de las ovejas sometidas a AD, el alimento fue proporcionado dos veces al día, cada vez proporcionando 1.2 kg oveja⁻¹ durante tres días, este alimento (maíz rolado 34 %, heno de alfalfa 25 %, heno de avena 10 %, pasta de soya 6.5 %, salvado de trigo 6.0 %, melaza 6.0 %, cascarilla de soya 5.0 %, gluten de maíz 3.0 %, aceite de soya acidulado 2.0 %, sales minerales 1.5 %, fosfato dicálcico 0.5 % y carbonato de calcio 0.5 %) contenía 2.9 Mcal de EM Kg de MS⁻¹ y 17 % de proteína cruda. El agua y las sales minerales (Vitalis reproductor ®, SEPA) se ofrecieron a libre acceso para todos los animales.

Protocolo de sincronización

Las ovejas de ambos experimentos fueron sincronizadas al estro con la aplicación de un dispositivo intra-vaginal (CIDR ® Laboratorios Pfizer) con 0.3 g de P, durante nueve días. El séptimo día se aplicó, vía intramuscular un mL de un análogo de PGF2 α (Lutalyse ®, Laboratorios Pharmacia Animal Health) a todas las ovejas, con la finalidad de lisar cualquier cuerpo lúteo presente y homogeneizar el estado fisiológico del ciclo estral. En el sexto día se inicio con la estrategia de alimentación (alimentación dirigida) para los tratamientos T4, T6, T7 y T8 del experimento uno.

En el día ocho del protocolo de sincronización se aplicaron por vía intramuscular 300 UI de eCG

(Folligon ® Laboratorios Intervet) con la finalidad de incrementar el número de ovulaciones y homogeneizar la presentación del estro, de manera adicional, se aplicó una dosis por vía subcutánea de 0.77 \pm 0.03 mL en promedio del producto MuSe (MuSe ® Laboratorios Schering-Plough, cada mL contiene selenito de sodio 10.95 mg, equivalente a 5 mg de selenio, vitamina E 68 UI) por animal, a razón de 1 mL 50 kg de peso vivo⁻¹(PV).

El día nueve del protocolo de sincronización de estros, se retiraron los dispositivos de P, iniciando la detección de estros 12 h después, con intervalos de 4 h, durante 120 h. Se consideró que una oveja no había respondido al tratamiento si no presento estro durante este lapso de tiempo. Para la detección de estros, se utilizaron ocho carneros de diferentes razas con edad promedio de 4 años, provistos con mandil. Cuando la oveja permaneció inmóvil y permitió la monta del carnero, se consideró que estaba en estro. Posteriormente, a las 18 h de detectado el estro, las hembras fueron inseminadas artificialmente en una sola ocasión de forma intrauterina con 0.25 mL de semen refrigerado diluido a una concentración promedio de 230x10⁶ espermatozoides por mL, con una duración de inseminación entre ovejas de 2 min.

El semen utilizado para la inseminación artificial fue colectado de cuatro carneros de la raza Pelibuey con edad promedio de dos años, los cuales fueron representados en todos los tratamientos y a los cuales previamente se les había verificado la calidad seminal, con pruebas macroscópicas y microscópicas de volumen, color, densidad, motilidad en masa y motilidad individual.

Para los tratamientos SF, las ovejas fueron pre-sincronizadas con CIDR durante nueve días y aplicación de PGF2 α dos días antes del retiro. Al momento del retiro del CIDR, se detectaron estros por 35 d, al igual que al resto de los tratamientos.

Las ovejas (SF) se inseminaron hasta la presentación del segundo estro post-retiro del CIDR. Se utilizaron cuatro sementales (mismos que proporcionaron semen para el resto de los tratamientos) de la misma raza con evaluaciones seminales previas para proporcionar montas controladas a razón de ocho ovejas por carnero y dando una monta a

cada oveja.

En estos tratamientos se observaron las variables fertilidad, parición, fecundidad y prolificidad. Las variables de respuesta para ambos experimentos fueron: incidencia de estros, inicio del estro, número de cuerpos lúteos, fertilidad, parición, fecundidad y prolificidad.

Variabes de respuesta

Incidencia de estros se calculó como el número de ovejas a las que se les observo manifestaciones externas de estro dividido entre el total de ovejas en el tratamiento; el inicio del estro se calculó como el tiempo al estro de las ovejas, después de retirado el CIDR; el número de cuerpos lúteos se determinó como el número de cuerpos lúteos presentes en la superficie de los ovarios de cada oveja, medido 10 d después de detectado el estro por medio de un ultrasonido con un equipo SonoVet 2000 ® con transductor de 4-7 Mhz vía rectal; la fertilidad se calculó como el número de ovejas que no retornaron a estro durante los 35 d post-inseminación, determinada con la ayuda de machos provistos de mandil y confirmado con ultrasonografía 40 d después de detectado el estro; la parición fue calculada como el número de ovejas que parieron, después del primer servicio, del total de ovejas en el tratamiento; la fecundidad se calculó como el número de corderos nacidos dividido entre el número de ovejas en el tratamiento y la prolificidad fue medida con el número de corderos nacidos por oveja parida.

Análisis estadístico

Las variables expresadas en porcentaje se analizaron mediante pruebas de Chi-cuadrada, mientras que las variables cuantitativas se sometieron a un análisis de normalidad con el procedimiento PROC UNIVARIATE del paquete estadístico SAS (SAS, 2002). Para la normalidad de los datos se consideraron los estadísticos descriptivos, y la prueba de Shapiro-Wilk con una $P > 0.05$, todas las variables se sometieron a un análisis de varianza usando el procedimiento de modelos lineales general (GLM) del paquete estadístico SAS (SAS, 2002). Se realizó la prueba de Tukey para comparar las

medias en las variables que resultaron significativamente afectadas por los factores estudiados.

En el primer experimento se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial $2 \times 2 \times 2$ (Steel & Torrie 1991). Con tres factores en dos niveles cada uno: Selenio (con y sin), eCG (con y sin) y Alimentación dirigida (2.9 Mcal de EM Kg de MS^{-1} y 2.4 Mcal de EM Kg de MS^{-1}). Para evaluar las características de incidencia del estro, inicio del estro y número de cuerpos lúteos. El modelo utilizado se describe a continuación.

$$Y_{ijkl} = \mu + Se_i + E_j + A_k + (Se E)_{ij} + (Se A)_{ik} + (E A)_{jk} + (Se E A)_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

Donde: Y_{ijkl} = Variable de respuesta. μ = Media general; Se_i = Efecto i-ésimo de Se-VE, $i = 0, 1$; E_j = Efecto j-ésimo de eCG, $j = 0, 1$ ($0 = Sin, 1 = Con$); A_k = Efecto del k-ésimo efecto de AD, $k = 0, 1$ ($0 = 2.4$ Mcal de EM Kg de MS^{-1} , $1 = 2.9$ Mcal de EM Kg de MS^{-1}); $(Se E)_{ij}$ = Interacción entre el i-ésimo efecto de Se-VE y el j-ésimo efecto de eCG; $(Se A)_{ik}$ = Interacción del i-ésimo efecto de Se-VE y el k-ésimo efecto de AD; $(E A)_{jk}$ = Interacción entre el j-ésimo efecto de eCG y el k-ésimo efecto de AD; $(Se E A)_{ijk}$ = Efecto de la triple interacción entre el i-ésimo efecto de Se-VE, j-ésimo efecto de eCG y el k-ésimo efecto de AD; ϵ_{ijkl} = Error aleatorio asociado a cada observación, donde $\epsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$.

Con la finalidad de comparar los tratamientos con fármacos contra sin fármacos y a pesar de los problemas de validez interna del experimento (Campbell & Stanley 1982) las variables fertilidad, parición, fecundidad y prolificidad, se analizaron utilizando un diseño experimental factorial completamente al azar, más un tratamiento adicional ($2 \times 2 \times 2 + 1$), donde el tratamiento adicional (SF) consistió en presincronizar un grupo de ovejas, con CIDR + $PGF2\alpha$ un mes antes de iniciar el experimento, con la finalidad de que las ovejas presentaran el estro natural sincronizado. Se comparo la media del factorial generada por los tratamientos con fármacos contra este último tratamiento.

En el experimento dos se aplicó un diseño completamente al azar para evaluar las características de incidencia del estro, inicio del estro, número de cuerpos lúteos, fertilidad, parición, fecundidad y

prolificidad. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + (\text{Se E})_i + \epsilon_{ij}$$

Donde: Y_{ij} = Variable de respuesta. μ = Media general; $(\text{Se E})_i$ = Efecto del i -ésimo efecto de Se-VE y eCG, $i = 0, 1$ (0 = Sin, 1 = Con); ϵ_{ij} = Error aleatorio asociado a cada observación, donde $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

RESULTADOS

Para ambos estudios el 99 % de las ovejas mostraron estro, sin encontrarse diferencias ($p > 0.05$) entre tratamientos. Los promedios y el error estándar de inicio del estro fueron de 37 ± 1.8 y 34 ± 1.3 h para las ovejas de los experimentos uno y dos, respectivamente, encontrando diferencias ($p \leq 0.05$) para el T3 y T5 con respecto a los otros tratamientos en el experimento uno y para el T2 en el experimento dos, con un tiempo de inicio del estro de 23.5 ± 2.1 y 27.7 ± 1.4 h respectivamente (Tabla 1 y 2).

El número de cuerpos lúteos (CL) no tuvo diferencias en ninguno de los dos experimentos (Tabla 1 y 2), con valores medios de 1.3 ± 0.07 y 1.1 ± 0.07 cuerpos lúteos para el experimento uno y dos, respectivamente. Para el porcentaje de fertilidad se encontró que las ovejas del tratamiento sin fármacos (T9), del experimento uno, fue mayor y diferente estadísticamente ($p \leq 0.05$) en un 89.7 % en comparación con la media del factorial del experimento con fármacos (Tabla 4). En el experimento dos, las hembras de los tratamientos T2 y T3 fueron diferentes ($p \leq 0.05$) en comparación con el T1 (Tabla 5) pero iguales entre ellos. Los tratamientos SF (T9, experimento uno; T3, experimento dos) fueron los más altos para esta característica en los dos experimentos, con 89.7 y 88.9 % para el experimento uno y dos, respectivamente.

El porcentaje de parición para el T9 (SF) resultó diferente en relación con la media del factorial ($p \leq 0.05$; Tabla 4) en el experimento uno. En el experimento dos, se encontró que los tratamientos fueron diferentes entre ellos ($p \leq 0.05$), siendo el T3 el más alto, seguido por el T2 y finalmente el T1 (Tabla 5). El tratamiento SF mostro ser el más

alto con 89.7 % (T9) y 88.9 % (T3) de ovejas paridas, para el experimento uno y dos, respectivamente (Tabla 4 y 5).

El promedio para la fecundidad fue de 1.1 ± 0.1 corderos por oveja para ambos experimentos. Encontrando los mayores resultados ($p \leq 0.05$) en las hembras del T9 con 1.5 ± 0.2 (Tabla 4) con respecto a la media del factorial, en el experimento uno. En el experimento dos fueron diferentes ($p \leq 0.05$) el T2 y T3 en comparación con el T1 donde se observaron los menores resultados (Tabla 5). No se observaron diferencias ($p > 0.05$) para prolificidad en los experimentos.

DISCUSIÓN

El 99 % de estros observado en ambos experimentos confirma la efectividad del CIDR impregnado de progesterona para sincronizar la ocurrencia de estros en ovejas Pelibuey. Los resultados encontrados en este estudio son similares a los encontrados en ovejas Pelibuey con el método INRA, basado en colocación de esponjas intravaginales impregnadas con acetato de fluorogestona (FGA) por 12 d y 500 UI de eCG o con la aplicación de eCG dos días antes de retirar FGA, obteniéndose 97 % de incidencia de estros, lo que indica que la respuesta es independiente al uso de eCG (Rosado et al. 1998). Se sabe que la progesterona inhibe la secreción pulsátil de la hormona luteinizante (LH); por lo que, los eventos endocrinos que influyen en la maduración de los folículos y su ovulación, se interrumpen (De Alba 1985, González-Bulnes et al. 2005). De manera que, al retirar el dispositivo con progesterona, el estro y la ovulación ocurren en un tiempo de 48 h (Evans et al. 2002). En ovejas Barbado Barriga Negra sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) con diferentes tiempos de aplicación de eCG, se obtuvo 100 % de incidencias de estros (Martínez et al. 2007). Al respecto Molina-Mendoza et al. (2005) mencionan que la efectividad de los progestágenos y eCG puede ser de 95 a 100 %.

El inicio del estro observado en ambos experimentos ocurrió por el efecto de la eCG dos días antes de retirar el dispositivo con P. La aplicación de eCG,

Tabla 1. Variables reproductivas en ovejas Pelibuey primíparas tratadas con selenio más vitamina E, eCG, Alimentación dirigida y sus combinaciones.

Table 1. Reproduction variables in Pelibuey yearling ewes treated with selenium plus vitamin E, eCG, Directed feeding and their combinations.

Tratamiento	Num. De animales inseminados/ Total	% Incidencia de estro	h Inicio al estro	Media ± EE Num. De cuerpos lúteos
T 1	12dic	100.0 a	50.3 ± 8.2 a	1.3 ± 0.19 a
T 2	12dic	100.0 a	41.1 ± 4.8 a	1.3 ± 0.22 a
T 3	12dic	100.0 a	23.5 ± 2.1 ab	1.0 ± 0.19 a
T 4	12dic	100.0 a	46.7 ± 3.8 ab	0.9 ± 0.19 a
T 5	12dic	100.0 a	23.6 ± 2.0 ab	1.2 ± 0.17 a
T 6	11dic	91.6 a	42.8 ± 2.2 ab	1.4 ± 0.20 a
T 7	12dic	100.0 a	31.5 ± 4.3 b	1.5 ± 0.20 a
T 8	12dic	100.0 a	37.0 ± 5.1 b	1.4 ± 0.19 a
T 9	29/ 29	*	*	*

a,b. Letra diferente dentro de cada columna indica diferencia ($p \leq 0.05$). * Variable no medida. T1: Progesterona (P); T2: P + Selenio y vitamina E (SeVE); T3: P + Gonadotropina coriónica equina (eCG); T4: P + Alimentación Dirigida (AD); T5: P + SeVE + eCG; T6: P + SeVE + AD; T7: P + eCG + AD; T8: P + Se-VE + eCG + AD y T9: Sin Fármacos (SF).

a,b. Different letter within each column indicates difference ($p \leq 0.05$). * Unmeasured variable. T1: Progesterone (P); T2: P + Selenium and vitamin E (SeVE); T3: P + Equine Chorionic Gonadotropin (eCG); T4: P + Directed Feeding (AD); T5: P + SeVE + eCG; T6: P + SeVE + AD; T7: P + eCG + AD; T8: P + SeVE + eCG + AD and T9: Without Drugs (SF).

48 h antes del protocolo de sincronización, favorece el crecimiento y desarrollo folicular al actuar principalmente como la hormona folículo estimulante (FSH), lo cual se refleja en una mayor producción de estrógenos y en la aparición más temprana de la actividad del estro (Leyva *et al.* 1998, Sharkey *et al.* 2001), por lo que es de esperar que cuando se retira el progestágeno, la concentración de progesterona en sangre decaiga de forma rápida, con lo cual, el animal de manera sincronizada entra en estro por acción de la eCG. Al respecto Córdova-Izquierdo *et al.* (2008) mencionaron que el inicio del estro y el momento de la ovulación se presentan más rápido y son menos variables cuando a las ovejas se les aplica eCG, reduciendo el tiempo de presentación del estro de 48 a 24 h, lo cual coincide con los resultados del presente estudio.

La variación del inicio al estro en las ovejas a las que no se les aplicó eCG (T1, T2, T4 y T6 en el experimento uno y T1 en el experimento dos) fueron los menos sincronizados, esto pudo deberse a un menor desarrollo folicular (Rubianes *et al.* 1999). Lo que sugiere que el desarrollo folicular fue lento

y la secreción de estrógenos fue en menor cantidad y por lo tanto tardo en alcanzar la frecuencia de secreción capaz de inducir el pico preovulatorio de LH. Además, el tiempo de inicio del estro en animales sincronizados con progestágenos suelen ser más largos, en comparación con animales tratados con progestágenos y eCG (Kridli & Al-Khetip 2006), como ocurrió en el presente estudio.

El uso de la eCG beneficia el crecimiento folicular y aumenta la sincronización de la ovulación, el número de cuerpos lúteos, y la fertilidad en ovejas ciclando y en anestro (Maurel *et al.* 2003). Además, se sabe que el incremento en el consumo de energía o de energía más proteína por periodos cortos de 3 a 5 d, puede inducir una respuesta reproductiva positiva en los ovinos, aumentando el número de ovulaciones (Williams *et al.* 2001). Sin embargo, a pesar de ello en ambos experimentos no se observaron diferencias para el número de cuerpos lúteos.

Por otra parte, se conoce que la condición corporal es un factor importante de la tasa ovulatoria en pequeños rumiantes (Downing & Scaramuzzi 1991). Ya que la condición corporal esta correla-

Tabla 2. Variables reproductivas en ovejas Pelibuey primíparas tratadas con selenio más vitamina E y eCG

Table 2. Reproduction variables in Pelibuey primiparous ewes treated with selenium plus vitamin E and eCG.

Tratamiento	Num. De animales inseminados/ Total	% Incidencia de estro	h Inicio al estro	Media ± EE Num. De cuerpos lúteos
T 1	61/ 62	98.3 a	40.3 ± 1.8 a	1.0 ± 0.08 a
T 2	62/ 62	100.0 a	27.7 ± 1.4 b	1.2 ± 0.07 a
T 3	54/ 54	*	*	*

a,b. Letra diferente dentro de cada columna indica diferencia ($p \leq 0.05$). * Variable no medida. T1: Progesterona (P); T2: P + Selenio y vitamina E (Se-Ve) + Gonadotropina coriónica equina (eCG) y T3: Sin Fármacos (SF).

a,b. Different letter within each column indicates difference ($p \leq 0.05$). * Unmeasured variable. T1: Progesterone (P); T2: P + Selenium and vitamin E (Se-VE) + Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) and T3: Without Drugs (SF).

cionada de forma positiva con el número de cuerpos lúteos (Rojas & Rodríguez 1997), principalmente en animales que se encuentran en un nivel moderado, pudiendo o no estar relacionado con el nivel de consumo (Gunn *et al.* 1983). Por lo anterior, es posible que la ausencia de un efecto significativo en el número de cuerpos lúteos en ambos experimentos, esté relacionado, primero, con el potencial ovulatorio de las hembras experimentales y segundo, con la buena condición corporal que presentaban las hembras antes y durante los experimentos, lo cual sugiere, que hembras con condición corporal de (3.5 a 4) responden de diferente manera que las hembras con condición corporal < 3.5 o moderada. Al respecto Isla *et al.* (2010) encontraron que en ovejas Pelibuey mantenidas en trópico, el número de ovulaciones se ve afectada por la condición corporal obteniendo una mejor respuesta en ovejas con condición corporal alta (3.2 a 3.4) con una media y error estándar de 1.8 ± 0.14 de cuerpos lúteos.

El número de cuerpos lúteos puede usarse para inferir la prolificidad de las ovejas y como indicador general de la prolificidad del rebaño (Viñoles *et al.* 2005). Sin embargo, la eficiencia de la técnica ecográfica es muy importante y depende de tres factores: observación total de los folículos, el diámetro de cada uno de ellos, y la posición de los ovarios. Se ha destacado que el límite de detección mínimo para los folículos puede ser de 2 mm de diámetro (68.7 %), pudiéndose observar algunos folículos de 1 mm, pero en bajo porcentaje (González-Bulnes *et*

al. 1994). Algunos autores mencionan que para los folículos de 3 a 4 mm la observación llega a ser de 92 % y 100 % para los folículos mayores a 5 mm; y la observación de los cuerpos lúteos solamente llega a ser el 88.8 % (Uribe-Velásquez *et al.* 2009). Con base a lo anterior, quizá con la técnica ecográfica utilizada en estos experimentos no fue posible observar el número total de cuerpos lúteos por lo que se contabilizaron menor número de cuerpos lúteos en comparación a la prolificidad encontrada.

Los porcentajes de fertilidad más altos fueron los mostrados por los tratamientos pertenecientes a SF, posiblemente se debe a que las manifestaciones de estro y ovulación fueron de manera "natural" y que la inseminación se realizó por monta natural (mayor concentraciones de espermatozoides que son depositados en la hembra), lo que aumenta la posibilidad de fertilización del óvulo. Al respecto Salomon & Maxwell (2000) mencionaron que altos porcentajes de gestación se logran inseminando dos veces a las hembras, al momento del estro y 12 h después. En ovejas Pelibuey, utilizando monta natural, dando el primer servicio a las 20 h de detectado el estro, se encontraron valores de 70 a 82 % de fertilidad (Acosta 1995). Resultados similares fueron encontrados en los dos experimentos, con 89.7 y 88.9 % para el experimento uno y dos, respectivamente. La baja fertilidad observada en algunos tratamientos (Tabla 3 y 5), podría deberse primero a la asincronía entre las manifestaciones externas de estro y la ovulación y segundo a la utilización

Tabla 3. Variables reproductivas en ovejas Pelibuey primaras tratadas con selenio más vitamina E, eCG, Alimentación dirigida y sus combinaciones.

Table 3. Reproduction variables in Pelibuey yearling ewes treated with selenium plus vitamin E, eCG, Directed feeding and their combinations.

Tratamiento	Num. De animales inseminados/ Total	% Fertilidad	% Parición	Fecundidad	Prolifichad Media ± EE
T 1	12dic	58.3 a	50.0 a	0.8 ± 0.3 a	1.5 ± 0.2 a
T 2	12dic	58.3 a	58.3 a	1.0 ± 0.3 a	1.7 ± 0.2 a
T 3	12dic	75.0 a	50.0 a	0.8 ± 0.3 a	1.7 ± 0.2 a
T 4	12dic	66.7 a	50.0 a	0.8 ± 0.2 a	1.3 ± 0.2 a
T 5	12dic	75.0 a	66.7 a	1.2 ± 0.3 a	1.8 ± 0.2 a
T 6	11dic	72.7 a	63.6 a	0.9 ± 0.3 a	1.6 ± 0.2 a
T 7	12dic	91.7 a	75.0 a	1.2 ± 0.2 a	1.6 ± 0.2 a
T 8	12dic	66.7 a	58.3 a	1.0 ± 0.3 a	1.7 ± 0.3 a

a,b. Letra diferente dentro de cada columna indica diferencia ($p \leq 0.05$). T1: Progesterona (P); T2: P + Selenio y vitamina E (SeVE); T3: P + Gonadotropina coriónica equina (eCG); T4: P + Alimentación Dirigida (AD); T5: P + SeVE + eCG; T6: P + SeVE + AD; T7: P + eCG + AD y T8: P + SeVE + eCG + AD.

a,b. Different letter within each column indicates difference ($p \leq 0.05$). T1: Progesterone (P); T2: P + Selenium and vitamin E (SeVE); T3: P + Equine Chorionic Gonadotropin (eCG); T4: P + Directed Feeding (AD); T5: P + SeVE + eCG; T6: P + SeVE + AD; T7: P + eCG + AD and T8: P + SeVE + eCG + AD.

Tabla 4. Variables reproductivas en ovejas Pelibuey primaras tratadas con y sin fármacos.

Table 4. Reproduction variables in Pelibuey yearling ewes treated with and without drugs.

Tratamiento	Num. De animales inseminados/ Total	% Fertilidad	% Parición	Fecundidad	Prolifichad Media ± EE
Con Fármacos	95 / 96	70.5 a	59.0 a	1.0 ± 0.1 a	1.6 ± 0.1 a
Sin Fármacos (T9)	29 / 29	89.7 b	89.7 b	1.5 ± 0.2 b	1.7 ± 0.1 a

a,b. Letra diferente dentro de cada columna indica diferencia ($p \leq 0.05$).

a,b. Different letter within each column indicates difference ($p \leq 0.05$).

de semen fresco durante la inseminación artificial. Otros efectos en función a la inseminación artificial es el riesgo de inseminar hembras donde el óvulo liberado ha perdido la capacidad de ser fecundado o hembras que no han ovulado al momento de realizar la inseminación, razón por lo cual, la fertilidad disminuye considerablemente.

La suplementación con Se y vitamina E incrementó los porcentajes de fertilidad, debido tal vez a que mejoró la integridad de los ovocitos de las hembras, lo que evitó la muerte celular prematura, además de disminuir los índices de mortalidad embrionaria (Agarwal et al. 2005, Das et al. 2006). Estos posibles beneficios pudieron ayudar a que las hembras del T2 del experimento dos hayan tenido mayor fertilidad que las del T1. Los porcentajes de

parición encontrados para los tratamientos T9 (89.7 %) y T3 (88.9 %) del experimento uno y dos respectivamente, son similares a los valores de 87 % reportados en época reproductiva en ovejas Pelibuey fertilizadas mediante monta natural (Crosby et al. 1991). Los resultados obtenidos en esta variable se relacionan con los porcentajes de fertilidad que fueron obtenidos en ambos experimentos. Hay evidencias, de estudios *in vitro*, donde se muestra que los embriones antes de la implantación son muy sensibles al estrés oxidativo (Das et al. 2006) lo que induce un retraso en su desarrollo o provoca reabsorción embrionaria (Fujitani et al. 1997), es posible que esto haya ocurrido en los tratamientos sin Se y vitamina E, siendo más evidente en el experimento dos (Tabla 5). El bajo porcentaje de pariciones pudo

Tabla 5. Variables reproductivas en ovejas Pelibuey primíparas tratadas con selenio más vitamina E y eCG.

Table 5. Reproduction variables in Pelibuey primiparous ewes treated with selenium plus vitamin E and eCG.

Tratamiento	Num. De animales inseminados/ Total	% Fertilidad	% Parición	Fecundidad Media ± EE	Prolificidad ± EE
T 1	61 / 62	42.6 a	37.7 a	0.6 ± 0.1 a	1.7 ± 0.1 a
T 2	62 / 62	70.9 b	66.1 b	1.2 ± 0.1 b	1.8 ± 0.1 a
T 3	54 / 54	88.9 b	88.9 c	1.4 ± 0.1 b	1.7 ± 0.1 a

a,b,c. Letra diferente dentro de cada columna indica diferencia ($p \leq 0.05$). T1: Progesterona (P); T2: P + Selenio y vitamina E (SeVe) + Gonadotropina coriónica equina (eCG) y T3: Sin Fármacos (SF). a,b,c. Different letter within each column indicates difference ($p \leq 0.05$). T1: Progesterone (P); T2: P + Selenium and vitamin E (SeVE) + Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) and T3: Without Drugs (SF).

deberse a fallas al momento de la fertilización del ovocito o a un aumento en la mortalidad embrionaria y fetal (Das *et al.* 2006), ya que algunos de los animales que no parieron, inicialmente fueron diagnosticadas como gestantes con el ultrasonido.

La inseminación con monta natural (T9 experimento uno y T3 experimento dos) incrementó los valores de fecundidad (Tabla 4 y 5), debido al tamaño de camada que presentaron las ovejas de estos tratamientos, ya que la mayoría de ellas parieron dos corderos (58.6 y 50.0 %), mientras que, en el resto de los tratamientos la mayoría parió un cordero (25 y 37 %). Las ovejas del T2 del experimento dos presentaron mejor respuesta a fecundidad con respecto al T1, y similar a lo observado en el T5 del experimento uno y en los tratamientos SF (Tabla 3, 4 y 5) lo que confirma la efectividad de Se-VE + eCG, esto pudo deberse a que ayudaron a proteger la membrana plasmática del óvulo (Seino *et al.* 2002, Das *et al.* 2006). En relación a la eCG, Quintero-Elisea *et al.* (2011) evaluaron la administración de diferentes dosis de eCG (0, 100, 200 y 400 UI) en ovejas Pelibuey y Blackbelly, en un protocolo de sincronización con 40 mg de FGA, por 10 d con monta natural, presentando diferencias signi-

ficativas ($p < 0.05$) en la fecundidad, con valores de 0.79, 0.68, 1.13 y 1.17 corderos por oveja, respectivamente, siendo menores a los encontrados en este estudio con una dosis de 300 UI de eCG.

La prolificidad obtenida fue mayor a los 1.1 y 1.4 corderos por hembra, reportados para las ovejas Pelibuey usando progestágenos y eCG (González *et al.* 2000) y similares a valores entre 1.7 y 1.8 reportados en la época reproductiva (Ataman *et al.* 2006). De acuerdo con las condiciones de los experimentos y el protocolo de sincronización, se sugiere que la administración de Se-VE + eCG puede utilizarse como una estrategia para mejorar la sincronización de estros y homogenizar su presentación en un menor tiempo, en ovejas Pelibuey, ya que, los resultados obtenidos son similares a los observados en el tratamiento sin fármacos.

AGRADECIMIENTOS

Los experimentos fueron financiados por el Colegio de Postgraduados a través de la Línea Prioritaria de Investigación (LPI-11) y el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa).

LITERATURA CITADA

- Acosta J (1995) Comportamiento reproductivo de ovejas Pelibuey en diferentes períodos de apareamiento. Rev. Cub. Reprod. Anim. 21: 47-49.
- Agarwal A, Allamaneni SS (2004) Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. Reprod. Biomed. 9(3): 338-347.

- Agarwal A, Gupta S, Sharma RK (2005) Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 3:28-48.
- Ataman MB, Aköz M, Akman O (2006) Induction of synchronized oestrus in Akkaraman cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons: the use of short-term and longterm progesterone treatments. *Rev. Med. Vet.* 157: 257-260.
- Campbell DT, Stanley J (1982) Diseños experimentales y cuasi-experimentales en la investigación social. (Ed). Amorrortu Editores. Buenos Aires. pp: 25-28.
- Combs JGF (1998) The vitamins. Fundamental Aspects in nutrition and Health. (Ed) Academic Press. 2nd Ed. California, USA. 618 pp.
- Córdova-Izquierdo A, Córdova J, Córdova J, Guerra L (2008) Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. *Rev. Vet.* 19: 67-79.
- Crosby TF, Boland MP, Gordon I (1991) Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 24: 109-118.
- Das S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Goswami SK, Chakravarty BN, Chaudhury K (2006) Reactive oxygen species level in follicular fluid-embryo quality marker in IVF. *Hum. Reprod.* 21(9): 2403-2407.
- De Alba J (1985) Reproducción Animal. (Ed) Prensa Médica Mexicana S. A. México. 538 pp.
- Downing JA, Scaramuzzi JR (1991) Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophin and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 43 (Suppl): 209-227.
- Evans ACO (2003) Ovarian follicle growth and consequences for fertility in shepp. *Anim. Reprod. Sci.* 78: 289-306.
- Evans NP, Richter TA, Skinner DC, Robinson JE (2002) Neuroendocrine mechanisms underlying the effects of progesterone on the oestradiol-induced GnRH/LH surge. *Reprod.* 59: 57-66.
- Fujitani Y, Kasai K, Ohtani S, Nishimura K, Yamada M, Utsumi K (1997) Effect of oxygen concentration and free radical son in vitro development of in vitro-produced bovine embryos. *J. Anim. Sci.* 75(2): 483-489.
- García E (1988) Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. (Ed) FOCET. 3a. Ed. México. 246 pp.
- Gardiner CS, Reed DJ (1994) Status of glutathione during oxidant induced oxidative stress in the preimplantation mouse embryo. *Biol. Reprod.* 581: 1307-1314.
- González-Bulnes A, Moreno JS, García LM, Gómez BA, López SA (1994) Observación del ovario en la oveja y eficacia en la detección de folículos y cuerpos lúteos mediante ecografía transrectal. *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.* 9: 319-329.
- González-Bulnes A, Díaz DC, García-García RM, Urrutia B, Carrizosa JA, López-Sebastián A (2005) Origin and fate of preovulatory follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the oestrous cycle in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 86: 237-245.
- González RG, Vázquez M, Duarte AO, Gonzáles RA (2000) Efecto del morueco y la época de empadre sobre el comportamiento reproductivo en ovejas Pelibuey y Blackbelly. En: XXVIII. Reunión Nacional de la Asociación Mexicana de Producción Animal. Chiapas, México. 150 pp.
- Gunn RG, Smith WF, Senior AJ, Barthram E, Sim DA (1983) Premating pasture intake and reproductive responses in North Country Cheviot ewes in different body conditions. *Anim. Prod.* 36: 509-518.

- Isla HG, Aké LJR, Ayala BA, González-Bulnes A (2010) Efecto de la condición corporal y la época del año sobre el ciclo estral, estro, desarrollo folicular y tasa ovulatoria en ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones de trópico. *Vet. Méx.* 41(3): 167-175.
- Kamada H, Ikumo H (1997) Effect of selenium on cultured bovine luteal cells. *Anim. Reprod. Sci.* 46: 203-211.
- Kridli RT, Al-Khetib SS (2006) Reproductive response in ewes treated with eCG or increasing doses of royal jelly. *Anim. Reprod. Sci.* 92: 75-85.
- Leyva V, Buckrell BC, Walton JS (1998) Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenol* 50: 395-416.
- Liu X, Dai Q, Hart EJ, Barrett DMW, Rawlings NC, Pierson RA, Bartlewski PM (2007) Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP)-releasing intravaginal and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Reprod. Dom. Anim.* 42: 393-401.
- Martínez TJJ, Izaguirre FF, Sánchez OL, Castillo GCG, Martínez PG, Torres HG (2007) Comportamiento reproductivo de ovejas barbados barriga negra sincronizadas con MPA y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. *Rev. Científ. FCV-LUZ.* 17(1): 47-52.
- Maurel MC, Roy F, Herve V, Bertin J, Vaiman D, Cribeu E, Manfredi F, Bouvier F, Lantier I, Boue P, Guillou F (2003) Reponse immunitaire a la eCG utilisee dans le traitement de induction d' ovulation chez la chevre et la brebis. *Gynecol. Obst. Fertil.* 31: 766-769.
- Molina-Mendoza P, Torres-Esqueda ST, García-Flores E, Martínez-García A, Cárdenas L, Peralta-Ortiz J, Cordero-Mora J, Hizarza-Espinosa A, Ortega-Cerrilla E (2005) Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización del estro en ovejas Dorset. *Agroc.* 39(1): 11-18.
- O' Callaghan D, Boland MP (1999) Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Anim. Sci.* 68: 299-314.
- Quintero-Elisea JA, Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, González-Reyna A, Lucero-Magaña FA, Soto-Navarro SA, Avendaño-Reyes L (2011) The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. *Trop. Anim. Health. Prod.* 43(8): 1567-1573.
- Rojas RO, Rodríguez RO (1997) Tasa ovulatoria y presencia de folículos después del estro en ovejas Blackbelly. *Téc. Pecu. Méx.* 35: 32-38.
- Rosado J, Silva E, Galina MA (1998) Reproductive management of hair sheep with progesterone and gonadotropins in the tropics. *Small Rum. Res.* 27: 237-242.
- Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WC (1973) Selenium biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Sci.* 179: 588-590.
- Rubianes E, Ungerfeld R, De Castro T (1999) Inducción y sincronización de celos en ovejas y cabras. Tercer Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 103 pp.
- Russel AJF, Doney JM, Gunn RG (1969) Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72: 451-454.
- Salomon S, Maxwell (2000) Storage of ram semen. *Review. Anim. Reprod. Sci.* 62: 77-111.
- SAS (2002) User Guide Statistics, version 9.0. SAS ONLINEDOC®9. Institute Inc., Cary, N. Y. pp: 209-243.

- Scaramuzzi RJ, Murray JF, Downing JA, Cambell BK (1999) The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol* 17(2-3): 269-277.
- Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S, Kurachi H (2002) Eight-hydroxy-2-deoxyguanosine in granulosa cell is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil. Steril.* 77(6): 1184-1190.
- Sharkey S, Callan RJ, Mortimer R, Kimberling C (2001) Reproductive techniques in sheep. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 17(2): 435-455
- Steel RG, Torrie JH (1991) *Principles and Procedures of Statistics*, 2nd. Ed. McGraw-Hill, New York. 310 pp.
- Uribe-Velásquez LF, Correa-Orozco A, Henry J (2009) Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. *BioS.* 8: 117-131.
- Viñoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajarville C, Repetto J, Meikle A (2005) Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reprod.* 129: 299-309.
- Williams SA, Blache D, Martin GB, Foot R, Blackberry MA, Scaramuzzi RJ (2001) Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reprod.* 122: 947-956.