



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

El control de la reproducción en pequeños rumiantes sin hormonas

Control of the reproduction in small ruminants without hormones

Autor/es

Maialen Villamil

Director/es

José Alfonso Abecia Martínez

Facultad de Veterinaria

2021

---

## INDICE

RESUMEN .....	3
ABSTRACT .....	3
INTRODUCCION .....	3
OBJETIVOS .....	4
METODOLOGIA.....	4
RESULTADOS Y DISCUSION.....	5
1. EL CONTROL DEL MOMENTO REPRODUCTIVO POR EL “EFECTO MACHO” .....	5
a. ¿Por qué se empezó a usar el efecto macho en el control de la reproducción? .....	5
b. ¿Cuáles son los efectos del efecto macho sobre el organismo de la hembra?.....	6
c. Estudio de la respuesta obtenida tras el efecto macho .....	10
2. EL USO DE TRATAMIENTOS LUMINICOS PARA EL CONTROL DE LA REPRODUCCION .....	11
a. El uso de machos con fotoperiodo artificial para aumentar la producción de corderos en una ganadería ecológica.....	11
b. ¿Cuáles son los tratamientos fotoperiódicos disponibles?.....	13
c. Tratamientos lumínicos alternativos al uso de melatonina, para una reproducción sin hormonas en cualquier momento del año.....	16
3. ¿COMO UTILIZAR LA INSEMINACION ARTIFICIAL DESPUES DEL EFECTO MACHO, Y CON QUE RESULTADOS?.....	17
a. Protocolo de IA sin utilización de hormonas.....	18
b. Protocolos de IA que limitan el uso de hormonas .....	18
4. LA ALIMENTACION COMO HERRAMIENTA AL CONTROL DE LA REPRODUCCION.....	19
a. La alimentación y la función ovárica .....	19
b. Los efectos de la suplementación: <i>flushing</i> nutricional .....	20
c. El aporte de glucosa afecta a la función del ovario.....	21
d. La interacción entre la nutrición y la estacionalidad.....	21
e. Interacciones entre la nutrición y los señales socio-sexuales.....	22
f. Las reservas corporales afectan a la respuesta del sistema endocrino frente a un cambio importante en la alimentación .....	23
5. GENETICA.....	26
a. La variabilidad entre e intra-razas indica la existencia de un control genético de la estacionalidad reproductiva.....	26
b. Mapeo genético de un Quantitative Trait Loci (QTL) para una reproducción fuera de la estación reproductiva en ovejas .....	27
c. Variantes del microsatélite OLA-DRB1 se asociaron con los caracteres de crecimiento y de reproducción en ovejas .....	29
6. NUEVAS HERRAMIENTAS PROPUESTAS COMO ALTERNATIVA A LOS TRATAMIENTOS HORMONALES: EL PROYECTO “REPROBIO” .....	30

a.    Uso de las feromonas implicadas en el efecto macho como alternativa a los tratamientos hormonales para la inducción y sincronización de la ovulación y del celo .....	31
b.    Detectores de celo automatizados.....	33
c.    Legislación sobre el uso de las feromonas: existe un vacío legal en ganadería ecológica.	35
CONCLUSION .....	35
CONCLUSION .....	36
VALORACION PERSONAL .....	36
BIBLIOGRAFIA .....	38

## RESUMEN

Cada vez es más alto el interés por las ganaderías con sistemas de producción sostenibles, para lograr un equilibrio entre los factores medio ambientales, socio-culturales y económicos. En el sector de los pequeños rumiantes todavía se está estudiando la manera de lograr la sostenibilidad de los sistemas de producción y el posible papel de la ganadería ecológica. Este trabajo ha revisado los métodos alternativos de control de la reproducción en pequeños rumiantes existentes, centrándose en técnicas y aspectos que nos permitirían lograr un control de la reproducción sin hormonas. Se desarrollarán seis grandes apartados: el primero tratará del uso del efecto macho para el control del momento reproductivo, el segundo de los tratamientos lumínicos que existen para el control de la reproducción, el tercero sobre protocolos de inseminación artificial que no usan o que limitan la utilización de hormonas, y seguiremos con el papel de la nutrición y de la genética, para acabar con la presentación del proyecto “Reprobio”, basado en el uso de las feromonas y de los detectores automatizados de celo como alternativa.

## ABSTRACT

There is an increase of interest around a sustainable system of livestock production. Such system would help us obtain a balance between environmental, socio-cultural and economical factors. Currently the sector of small ruminants is focusing on a way to achieve sustainability and the possible role of organic production. This work treats about alternative methods to control the reproduction of small ruminants : putting the emphasis on techniques and aspects which would enable the control of reproduction without the use of hormones. The development will be in six parts : starting with an analysis of the male effect as a potential tool to control the reproductive moment, we will then talk about light treatments for the control of reproduction. Thirdly, we will treat about artificial insemination protocols with a minimal use of hormones and we will proceed with the role of nutrition and genetics. Finally, we will introduce the « Reprobio » project, based on the use of pheromones and automated detectors as alternatives.

## INTRODUCCION

A pesar de que los tratamientos hormonales utilizados en ganadería para controlar la reproducción de las hembras raramente dejan residuos en la carne o leche destinadas a consumo humano, el consumidor sigue teniendo mala imagen de estos. Partiendo principalmente de esta problemática, pero también debido a una mayor preocupación en la población actual sobre el

impacto que tiene la industria y la ganadería sobre el medio ambiente, y debido a la mayor demanda de productos que garantizan el respeto del bienestar animal, se han tenido que encontrar alternativas para poder controlar la reproducción de los animales en ganadería, ya que, la productividad de las industrias lecheras y cárnicas depende directamente de la capacidad reproductiva de sus animales.

Estos caracteres reproductivos siguen siendo los mismos desde la domesticación, seguimos necesitando cumplir los siguientes objetivos (*Martin et al., 2004*):

1. Controlar de una manera precisa los periodos reproductivos, primero controlando la estacionalidad de los partos para poder aprovechar de esta forma los momentos de mayor consumo por parte de la gente y para aprovechar también el momento de mayor presencia de recursos naturales y segundo, adquiriendo un conocimiento preciso del momento de ovulación y de parto pudiendo suplementar los animales cuando exactamente hace falta.
2. Maximizar el número de animales nacidos, maximizando el tamaño de camada aumentando la tasa de ovulación y minimizando las pérdidas post-fertilización asegurando un desarrollo embrionario y fetal óptimo.
3. Asegurar la supervivencia del recién nacido, y su capacidad para crecer y madurar gracias a un buen manejo y seleccionando el comportamiento por la genética.

Hoy en día, tenemos la posibilidad de usar hormonas exógenas para poder conseguir altos niveles de reproducción y, por lo tanto, de producción, pero para poder adecuarse a los nuevos intereses del consumidor hay que centrarse más en los sistemas naturales de control de la reproducción que existen ya en la naturaleza.

## OBJETIVOS

Este trabajo se centrará en los pequeños rumiantes y en las técnicas que permiten el control de la reproducción sin tener que usar hormonas. Se estudiará por lo tanto la importancia de los factores socio-sexuales, del efecto macho, la importancia de una correcta alimentación, del fotoperiodo – estacionalidad y también del factor genético.

## METODOLOGIA

Este trabajo se basa en una revisión bibliográfica de distintos artículos obtenidos a partir de Google Académico, Alcorze, Pubmed, Science direct y también con la ayuda del tutor. Después de la

selección de los artículos, se ha procedido a la lectura comprensiva de estos y a la redacción de la memoria.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 1. EL CONTROL DEL MOMENTO REPRODUCTIVO POR EL “EFECTO MACHO”

#### a. ¿Por qué se empezó a usar el efecto macho en el control de la reproducción?

El control de la reproducción en los pequeños rumiantes, es decir, la elección del momento y del modo de fecundación, es interesante por varias razones. Primero de todo es una herramienta que permite una aceleración rápida del desarrollo genético, sobre todo con el uso de la inseminación artificial (IA) que permite la detección y la difusión de los genes de los mejores machos en la población. Permite también la elección por el ganadero del momento de parto y de las lactaciones del año, para hacerlas coincidir con las disponibilidades alimentarias y/o las condiciones más favorables del mercado. La sincronización de las fecundaciones permite la reagrupación de los nacimientos, permitiendo una vigilancia más corta y fácil de los partos, además de la organización de lotes más homogéneos para la alimentación y/o para la venta de productos lácteos o cárnicos.

En los países industrializados y en los sistemas intensivos, en particular en Europa, el control de la reproducción ha sido tema de muchos estudios después del descubrimiento del papel esencial de las hormonas esteroideas, en particular, de la progesterona (P4) y de las hormonas gonadotropas (LH, FSH, y eCG también llamada PMSG). La P4 permite un bloqueo del ciclo y después de la parada del tratamiento, una sincronización de todas las hembras, incluso una sensibilización del sistema nervioso central que facilita la entrada en estro (comportamiento sexual de la hembra) por el estradiol endógeno. La eCG, extraída del suero de las yeguas en gestación, estimula el ovario durante el periodo de reposo sexual; la combinación de la P4 y de la eCG permite inducir la ovulación y el celo (estro) durante este periodo. Estos tratamientos seguidos de una IA en un momento determinado permiten llegar a una tasa de fertilidad superior al 60% en las ovejas y cabras.

Sin embargo, estos tratamientos no están autorizados en la ganadería ecológica, lo que hace que estas ganaderías sean totalmente dependientes de la estacionalidad de la reproducción de estas especies y les excluye de gran parte del progreso genético.

A pesar de varios intentos realizados en países en vía de desarrollo, estos tratamientos hormonales no han conocido tanta popularidad como en Europa debido principalmente a dos razones: el coste difícil de amortizar con las ventas de productos, y la dificultad de aplicación con las razas locales. Una parte de los programas de cooperación con los investigadores de estos países conllevó a estudiar

medios menos costosos de sincronización. Es de esta forma que el efecto macho, que consiste en la introducción de machos en un rebaño de hembras después de un periodo de separación y sin intervención hormonal, ha sido objeto desde los años 70 de trabajos de investigación (Chemineau *et al.*, 2017).

b. ¿Cuáles son los efectos del efecto macho sobre el organismo de la hembra?

El efecto macho está estrechamente ligado a la existencia, desde el final del invierno hasta el inicio del verano en todas las razas ovinas y caprinas originarias de Europa y Mediterráneo, de un periodo de reposo sexual estacional llamado anestro. Este periodo se caracteriza por una parada completa de la ovulación y de los estros en las hembras y por una acusada bajada de la espermatogénesis, de la esteroidogénesis y de la libido en los machos. Este efecto macho está mencionado desde hace muchos años en la literatura científica desde que se observó en los cérvidos en condiciones naturales durante el anestro estacional de las ciervas, lo que permite una sincronización eficaz de las ovulaciones y de los estros en los días siguientes a la introducción de un macho activo en el grupo de hembras. Este mecanismo es interesante, porque necesita solo un simple manejo de los animales de un lote a otro sin utilizar hormonas. Considerado como “la sincronización del pobre” es interesante para las ganaderías caprinas y ovinas de los países en vía de desarrollo generalmente perteneciendo a ganaderos con pocos recursos financieros (Chemineau *et al.*, 2017).

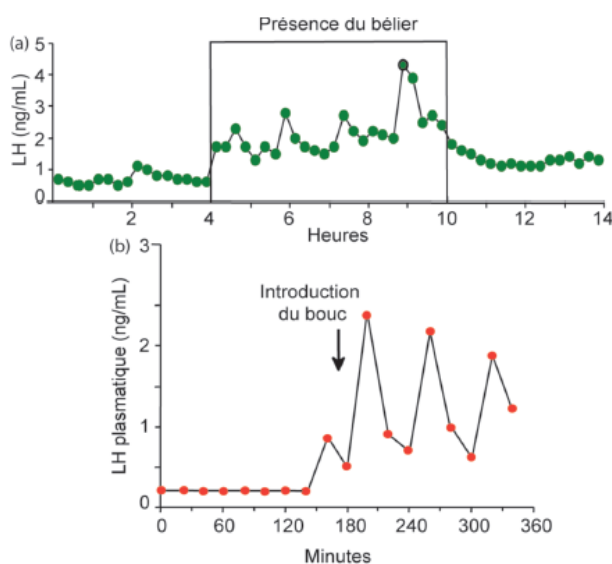


Figure 1: Evolución de la pulsatilidad de la hormona LH en (a) el plasma de oveja o (b) en el de cabra, después de la introducción (flecha) de un (a) morueco o (b) macho cabrío. Adaptado de Chemineau *et al.*, (2017)

A medida que se fue estudiando el efecto macho, se consiguió explicar los mecanismos neuroendocrinos que entran en juego, aunque todavía queda por determinar la conexión exacta entre la percepción, especialmente olfativa del macho por la hembra y la liberación pulsátil casi inmediata del LH, cuya liberación provocará la respuesta reproductiva (Chemineau *et al.*, 2017).

Pero se sabe que la mayoría de las respuestas a factores ambientales están controladas a nivel cerebral, donde los estímulos externos e internos confluyen en una misma vía que controla la secreción de “gonadotrophins-releasing hormone” (GnRH). Esta neurohormona controla la secreción de gonadotropina, hormona hipofisaria que determina la actividad del eje reproductivo (*Martin et al., 2004*).

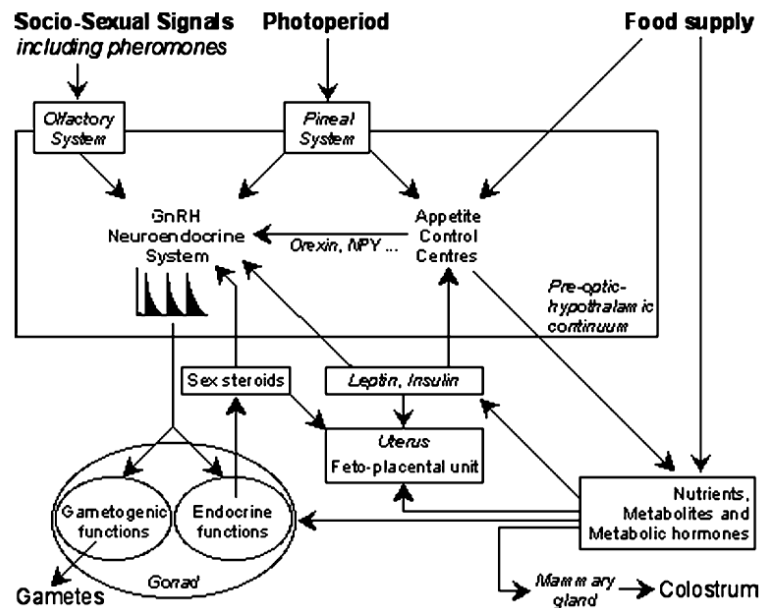


Figura 1: Factores ambientales como el fotoperíodo, la alimentación y las interacciones socio-sexuales actúan de distinta forma y acaban afectando a la pulsatilidad de la secreción de GnRH. Adaptado de *Martin et al., (2004)*.

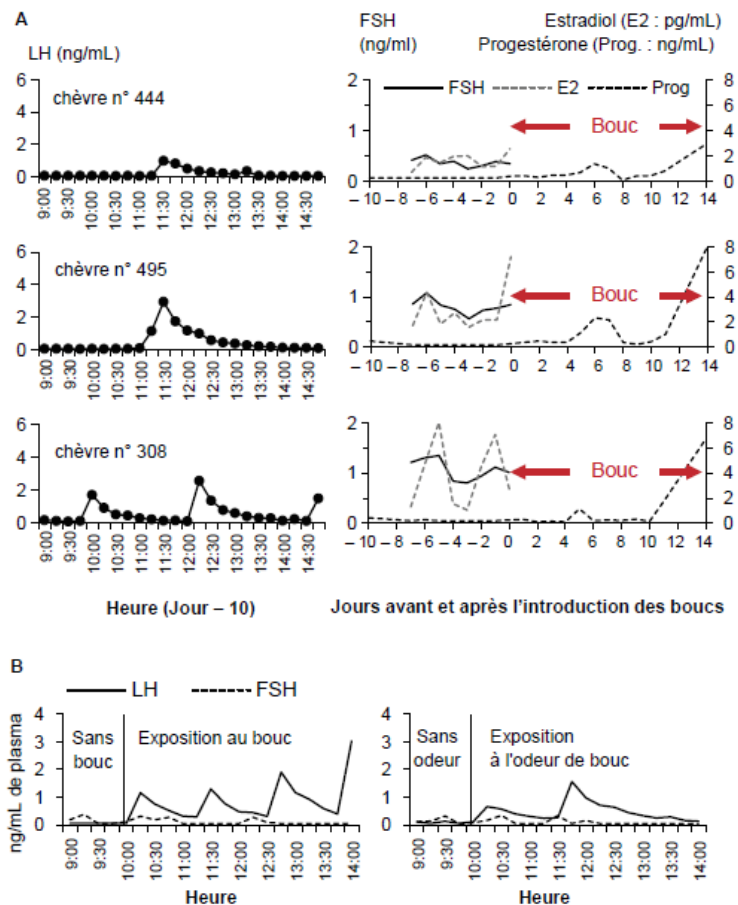
Con los aportes nutricionales lo que se produce es mucho más complejo, ya que los órganos reproductores y los tejidos pueden absorber y responder a factores transmitidos por la sangre independientemente del control ejercido a nivel cerebral. Este efecto se conoce desde hace mucho tiempo para el útero y la glándula mamaria y está cada vez más claro para las gónadas, donde las células responden en parte de forma autónoma a hormonas y sustratos metabólicos transmitidos por la sangre (*Martin et al., 2004*).

A continuación, detallaremos la respuesta comportamental y endocrina de las cabras al efecto macho etapa por etapa basándonos en la información obtenida de un artículo del INRA (*Pellicer-Rubio et al., 2019*).

Etapa 1: aumento de la secreción pulsátil de LH (respuesta a corto plazo)



Durante el anestro estacional, en ausencia de contacto con machos, los niveles plasmáticos de la hormona gonadotropia FSH (Hormona Folículo Estimulante) y del estradiol están en niveles basales o fluctúan de manera periódica según las olas de crecimiento terminal de los folículos ováricos. La secreción pulsátil de la hormona gonadotropia LH es mínima (1-2 pulsaciones



cada 6h) y el nivel plasmático de progesterona se queda en el nivel basal (Figura 3A).

Figura 2: Ejemplos de perfiles hormonales plasmáticos individuales de unas cabras alpinas en anestro estacional antes (A) y después (A, B) de la exposición al macho sexualmente activo o a su olor. Adaptado de Pellicer-Rubio et al., (2019).

Los estímulos provocados por la presencia del macho van a activar las regiones específicas del sistema nervioso central (área preóptica, núcleo arcuato del hipotálamo) implicadas en la actividad de las neuronas productoras de GnRH en el hipotálamo. Estos acontecimientos van a activar el eje hipotálamo-hipofisario de la hembra, lo cual se traduce en la estimulación de la secreción pulsátil de LH después de unas horas estando en presencia de los machos o en presencia de su olor. El nivel sanguíneo de FSH queda igual o se puede observar una disminución (Figura 3B). El aumento de la concentración plasmática de estradiol esta iniciada paralelamente al aumento de LH.

La activación de las neuronas productoras de kisspeptinas (neuropéptido estimulador de la secreción de LH y FSH mediante la estimulación de la secreción de GnRH) en el núcleo arcuato se ha podido demostrar en la oveja, pero no en la cabra (Pellicer-Rubio et al., 2019).

## Etapa 2: pico preovulatorio de LH (respuesta a medio plazo)

El aumento de la secreción pulsátil de LH va a actuar sobre los folículos ováricos para estimular el crecimiento y maduración terminal de estos y la producción de estradiol. La producción de estradiol va a aumentar hasta provocar el retrocontrol positivo a nivel del eje hipotálamo-hipofisario, provocando un pico preovulatorio inmediato de LH y FSH; un aumento brusco y transitorio de los niveles plasmáticos de estas dos hormonas entre las 8h y 56h después de la exposición a los machos.

En la oveja, los niveles plasmáticos de estradiol aumentan progresivamente desde la introducción de los moruecos y se quedan elevados hasta el pico preovulatorio de LH; el individuo sufre uno o varios episodios de aumento y después una disminución de los niveles de estradiol antes del pico preovulatorio. El nivel máximo de estradiol en el plasma sanguíneo se alcanza 12 horas antes del pico de LH; coincide con el momento en el cual el folículo que tiene que ovular tiene el tamaño más grande. La capacidad de los folículos para producir estradiol a las 12h después del efecto macho está ligado al aumento de la expresión del ARN mensajero del gen que codifica la proteína STAR en las células de la granulosa, aunque la expresión de los ARN mensajeros de las enzimas CYP11A1 y 3 $\beta$ -hydroxysteroides-dehidrogenasa queda igual. La proteína STAR es una proteína transportadora que regula el paso de colesterol al interior de la mitocondria: etapa limitante de la esteroidogénesis. Las enzimas CYP11A1 catalizan la transformación de colesterol en pregnenolona: primera reacción de esteroidogénesis. La enzima 3 $\beta$ -hydroxysteroides-dehidrogenasa cataliza la biosíntesis de progesterona a partir de pregnenolona.

Además, en algunas ovejas, el morueco puede desencadenar un pico preovulatorio de LH precoz (cuatro horas después de la exposición al macho) sin que haya un aumento importante de estradiol previo, lo que sugiere la implicación de un mecanismo que evita el retrocontrol positivo de estradiol. Estos fenómenos no han sido estudiados en las cabras (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

### Etapa3: inducción del estro y de la ovulación (respuesta a largo plazo)

El pico preovulatorio de LH induce la ovulación de los folículos ováricos seleccionados. La primera ovulación puede ocurrir a los 2-3 días después de la exposición al macho. Después de la ovulación, los folículos se transformarán en cuerpos lúteos y producirán progesterona y se observará un aumento de los niveles plasmáticos de progesterona a partir del cuarto día. En algunas hembras, este primer cuerpo lúteo va a regresar antes de tiempo (ciclo corto), y una segunda ovulación tendrá lugar sobre los 5-6 días después de la primera. Se formará un cuerpo lúteo de duración similar a los que se forman durante el periodo sexual (ciclo normal) (Figura 3A). Otras hembras van a tener ciclos normales desde la primera ovulación. En los dos casos, los ciclos normales sucesivos podrán tener

lugar en ausencia de gestación, si la estimulación por el macho se mantiene. Estos patrones de ovulación se han observado en las dos especies, caprina y ovina (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

En la cabra, el primer celo se observa asociado a la primera ovulación en el 20-60% de los casos (según las razas). Cuando el primer ciclo es corto, el segundo celo tiene lugar 5 – 6 días después, durante la segunda ovulación (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

En la oveja, la primera ovulación inducida por el morueco es siempre silenciosa (sin estar acompañada de estro), que esté o no asociada a un ciclo corto o normal. Cuando el primer ciclo es normal, el celo aparece alrededor de los 19 días después de la introducción de los machos, cuando ocurre la segunda ovulación. Cuando el primer ciclo es corto, una segunda ovulación silenciosa tiene lugar asociada a un ciclo normal 5-6 días después, y el celo aparece durante la tercera ovulación, alrededor de 25 días después de la exposición a los machos (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

### c. Estudio de la respuesta obtenida tras el efecto macho

Para poder estudiar la respuesta que ha habido al efecto macho hay que tener en cuenta la proporción de hembras anéstricas que hayan respondido, la variabilidad de esta respuesta en función del genotipo (probablemente que depende de las diferencias en la respuesta al fotoperiodo), la proporción que salen en celo y entre las que responden, cuáles presentan un ciclo ovulatorio normal, y el mantenimiento de la ciclicidad después de la inducción de la ovulación inicial. Tenemos ahora la posibilidad de estudiar los folículos ováricos durante la transformación postovulatoria. Esta técnica es particularmente eficaz cuando se completa con resultados endocrinológicos y de comportamiento (Martin *et al.*, 2004).

Según el artículo de la revista “*Productions animales*” del INRA del 2019, la calidad de la respuesta al efecto macho se traduce por:

- i. La proporción de hembras que van a ovular y expresar su comportamiento sexual después de la exposición a los machos
- ii. La velocidad de la descarga ovulatoria y el grado de sincronización de las ovulaciones y de los celos
- iii. La calidad de los cuerpos lúteos post-ovulatorios, y
- iv. La capacidad a desarrollar uno o varios ciclos ovulatorios fértiles sucesivos.

El éxito del efecto macho dependerá de la calidad de la estimulación asegurada por el macho (ligado al nivel de actividad sexual) y del estado “psicológico” de la hembra (ligado al estado de inhibición del eje hipotálamo-hipófisis-ovario).

La respuesta al efecto macho puede mejorarse estimulando la actividad sexual de los machos por

una alimentación adaptada y/o por la exposición previa a hembras en celo, pero también gracias a los protocolos periódicos de “desestacionalización”.

La receptividad de las hembras a las señales de estimulación del macho es también importante. Por ejemplo, la calidad de la respuesta al efecto macho puede variar en función del intervalo entre el secado y la entrada en el periodo reproductivo o del estado nutricional de las hembras. De la misma manera, el tratamiento de las hembras con un protocolo lumínico de “desestacionalización” puede facilitar la aparición del celo y la ovulación, avanzar la ovulación favorece la instauración de la ciclicidad y/o mejorar la fertilidad (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

Para completar la evaluación de los resultados obtenidos al efecto macho las ecografías resultan interesantes. En efecto, no contaminan el medio ambiente, y además se trata de una técnica no invasiva que nos permite obtener dos tipos de información (Martin *et al.*, 2004):

- La identificación de parto doble o simple, pudiendo de esta forma adoptar estrategias específicas para manejar necesidades distintas durante y después del parto
- La estimación de la edad del feto a partir de los 5 días de vida para poder suplementar con precisión la alimentación cuando más les haga falta a los animales

## 2. EL USO DE TRATAMIENTOS LUMINICOS PARA EL CONTROL DE LA REPRODUCCION

### a. El uso de machos con fotoperiodo artificial para aumentar la producción de corderos en una ganadería ecológica

El hecho de pasar de una ganadería convencional a una ganadería ecológica supone respetar la legislación, es decir, la obligación de no usar hormonas para el control del ciclo sexual. El efecto macho, que consiste en la reintroducción de los machos en el rebaño de hembras en anestro que habían sido aisladas previamente de estos, se está usando para adelantar la estación reproductiva en los rebaños de ovejas, y es una alternativa para las ganaderías ecológicas, en las cuales la administración de hormonas no está autorizada. Aunque las feromonas de los machos son el principal estímulo en el efecto macho, la intensidad del comportamiento sexual del macho influye en la calidad de la respuesta. Por lo tanto, es probable que el uso de machos sexualmente activos gracias al manejo con tratamientos lumínicos y/o con o sin implantes de melatonina puede mejorar la respuesta de las ovejas después de la introducción de los machos (Palacios y Abecia, 2017).

Se ha demostrado que los moruecos sexualmente activos en primavera, gracias a la exposición a días largos durante dos meses, junto con implantes de melatonina, permiten prolongar

la actividad ovárica y estral de las ovejas Rasa Aragonesa, consiguiendo además la casi supresión de su anestro estacional, avanzando el momento de reanudación de la actividad sexual de las ovejas en medio del anestro estacional cuando están ya al final de la temporada reproductiva (Abecia et al., 2015), o inducen la pubertad de las ovejas nacidas en septiembre (Abecia et al., 2016). Además, estos machos bajo fotoperiodo-melatonina, sexualmente activos, cuando se usan en un efecto macho permiten incrementar significativamente la proporción de ovejas gestantes y el número de corderos nacidos por oveja en mayo (Abecia et al., 2018). En cuanto al tratamiento, y centrándose en una ganadería ecológica, se ha visto que la eliminación de los implantes de melatonina no modifica ni la secreción de testosterona ni el comportamiento sexual de los moruecos (Abecia et al., 2017). Sin embargo, falta estudiar el uso práctico de moruecos activos sexualmente únicamente por la exposición a días largos en ganaderías ecológicas. Para eso se hizo un estudio para averiguar si la exposición de machos a 45 días largos, sin melatonina, para un efecto macho en junio estimula la reproducción en ovejas en una explotación ecológica (Palacios y Abecia, 2017).

Este experimento fue desarrollado en una explotación ovina ecológica localizada en Fariza (España). Se asignaron 8 moruecos a dos grupos de ovejas distintos: 4 Machos bajo fotoperiodo artificial, expuestos a 45 días largos (16 horas / día) entre el 15 de abril y el 31 de mayo, y 4 machos control bajo un fotoperiodo natural. Al final del periodo de días largos, los machos bajo fotoperiodo artificial vuelven a un fotoperiodo natural. Los machos control estaban en una finca expuesta a la intemperie y a los cambios naturales del fotoperiodo (15h y 12 min, y 9h y 10 min de luz en los solsticios de verano e invierno), para que no estén activos sexualmente en primavera.

Un total de 144 ovejas Churras (de 2-5 años), fueron apartadas totalmente de los machos por lo menos durante 5 meses, y en su tercer mes después del parto repartidas en 3 lotes distintos según su peso vivo y condición corporal, y metidas en distintas fincas: 72 de las ovejas se juntaron con los machos que habían sido tratados con fotoperiodo artificial y las otras 72 ovejas con los machos bajo fotoperiodo natural, entre el 25 de junio (introducción de los machos) hasta el 10 de agosto. La tasa de fertilidad (número de ovejas gestantes/número de ovejas en contacto con los machos) fue determinada mediante ecografía transrectal, 30 días después de la introducción de los machos, y confirmada después al parto (Palacios y Abecia, 2017).

La introducción de machos bajo tratamiento lumínico produjo un incremento significativo en la proporción de ovejas preñadas (68%) en comparación con el lote de ovejas en contacto con machos no tratados (42%). En cuanto a la prolificidad no hubo gran diferencia ( $1,18 \pm 0,09$  vs  $1,13 \pm 0,06$  corderos/parto para el grupo expuesto a machos tratados y para el grupo expuesto a machos no tratados), pero la fecundidad de las hembras en contacto con machos tratados fue mayor ( $0,81 \pm 0,08$  corderos/hembra) comparando a las hembras que estuvieron en contacto con machos no tratados ( $0,47 \pm 0,08$  corderos/hembra). Estos resultados obtenidos fueron similares a los que se obtuvieron en

mayo con ovejas Rasa Aragonesa cuando los machos fueron sometidos a días largos con implante de melatonina aumentando un 22% los partos. En este experimento, con los machos tratados se consiguió un aumento de 0,34 corderos/oveja, también comparable al experimento con la Rasa Aragonesa (0,44 corderos/oveja demás). Por lo tanto, estos resultados demuestran que la ausencia de tratamiento hormonal en esta granja ecológica no impide a los borregos conseguir aptitudes reproductivas similares a las granjas convencionales. La curva de partos (Figura 4) fue similar en ambos lotes y diferente a la curva de parto clásica después del efecto macho. Esto puede indicar las diferencias entre los dos grupos de machos del experimento, que fue debida a la diferencia de líbido o a la calidad seminal, más que en una diferencia en la respuesta ovulatoria al grupo de machos tratados (Palacios y Abecia, 2017).

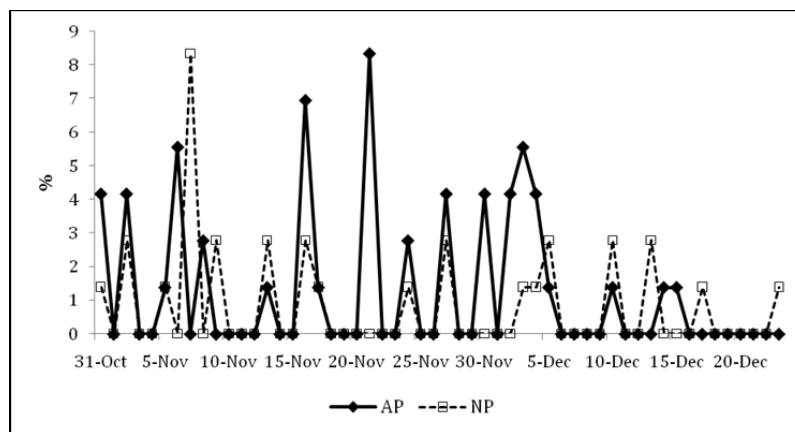


Figura 3: distribución de los partos de las ovejas Churra a lo largo del tiempo (porcentaje de ovejas pariendo al día), de las ovejas cruzadas con machos y expuestas a 45 días largos del 15 de abril hasta el 31 de mayo (AP), o bajo fotoperiodo natural (NP). Los moruecos estuvieron con las ovejas del 25 de junio al 10 de agosto. Adaptado de Palacios y Abecia, (2017).

En conclusión, los machos sometidos a días largos pueden usarse para el control de la reproducción en explotaciones ecológicas en primavera evitando de esta forma el uso de hormonas exógenas. Estos machos incrementan la fertilidad y la fecundidad de las ovejas comparando a los moruecos control, permitiendo un nuevo y sostenible manejo de la reproducción en explotaciones ovinas (Palacios y Abecia, 2017).

### b. ¿Cuáles son los tratamientos fotoperiódicos disponibles?

En este apartado nos centraremos en el tratamiento fotoperiódico sin la utilización de melatonina.

- Efecto macho en anestro estacional

Para poder usar el efecto macho en anestro estacional el tratamiento fotoperiódico que se usará consistirá en someter los animales a una alternancia de “días largos” (DL: inhibidor de la reproducción, equivalente a 16h de luz al día) y de “días cortos” (DC: estimulador de la reproducción, 8-12h de luz por día) en momentos precisos del año. Las fechas de inicio de estos tratamientos dependen del momento de entrada en periodo reproductivo deseado por el ganadero. La duración de la lactancia es también importante para asegurar su eficacia (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

En explotaciones caprinas (Figura 5), para entrar en reproducción en primavera (abril-mayo), el tratamiento con DL se aplica durante el invierno iluminando los animales con luz artificial. Después, durante el mes de marzo, los animales reciben

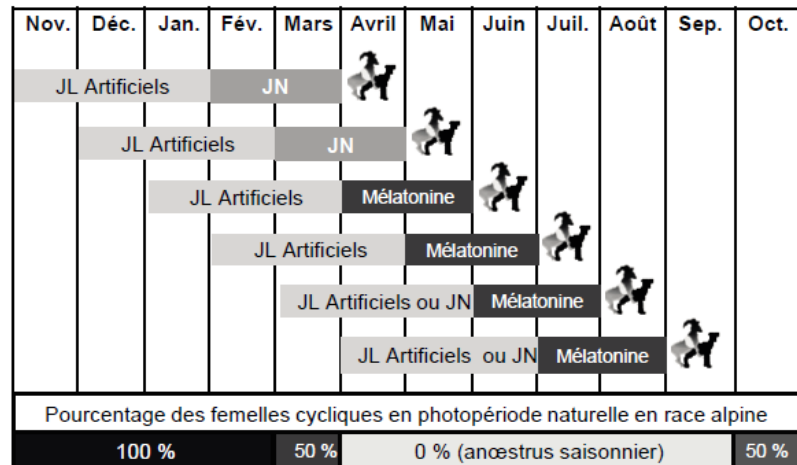


Figura 5: Tratamientos lumínicos utilizados en explotaciones caprinas en Francia para una reproducción fuera de la estación reproductiva. JL: días largos (16h de luz, 8h de oscuridad); JN: días naturales. Adaptado de Pellicer-Rubio *et al.*, (2019).

el fotoperiodo natural que sigue siendo de día corto para poder estimular la actividad sexual; el macho cabrío se introduce en el rebaño 60 días después de la parada de los días largos (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

Para una entrada en periodo reproductivo en verano, el tratamiento lumínico de DL se instaura a final de invierno, o porque los animales pueden beneficiarse naturalmente de días largos naturales en primavera. El efecto estimulador de los días largos está imitado por la administración de melatonina (en forma de implante subcutáneo); el macho cabrío está introducido 60 días después de la administración de la melatonina. El uso de la melatonina para simular DC puede deberse a las limitaciones encontradas como la vigilancia de los partos, los horarios de ordeño, etc, las cuales no permiten asegurar un mínimo de 12h de oscuridad al día (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

- Efecto macho en estación reproductiva

Para obtener una buena sincronización de las ovulaciones con el efecto macho se necesita que las hembras sean receptivas, pero en reposo sexual (no cíclicas). En estación sexual, ya que las hembras son cíclicas, el efecto macho no es suficiente como para poder sincronizar las ovulaciones.

Por lo tanto, para poder utilizar el efecto macho durante el periodo sexual, un nuevo tratamiento

lumínico ha sido estudiado en las cabras de raza Alpina y Saanen (Figura 6). Está basado en la sucesión continua de 3 meses de DL artificiales (16h de luz y 8h de oscuridad) y 3 meses de DC. El objetivo de esta estrategia es retrasar de manera controlada el inicio del periodo reproductivo (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

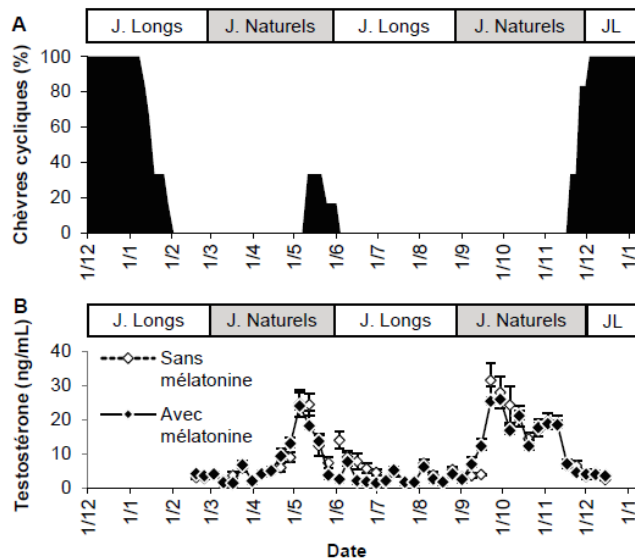


Figura 6: Evolución de la actividad sexual de las cabras (A) y de los machos cabríos (B) bajo una alternancia de 3 meses de días naturales. (A) Porcentaje de cabras cíclicas, detectadas gracias al análisis de las concentraciones plasmáticas de progesterona 2 veces a la semana (n=6). (B) Niveles plasmáticos de testosterona de los machos cabríos, medidos 1 vez a la semana (n=8). El tratamiento con melatonina de los machos tiene lugar al finalizar cada ciclo de días largos.

Adaptado de Pellicer-Rubio *et al.*, (2019).

Cuando el primer ciclo de DL artificiales comienza a principios de diciembre, se observa un corto periodo de actividad ovulatoria fuera de la estación reproductiva en primavera, y el inicio de la actividad ovulatoria cíclica de la temporada sexual siguiente (la cual tiene lugar a inicios de noviembre en la cabra Alpina bajo fotoperiodo natural) 20 días más tarde de lo normal (Figura 6). Este retraso permite un efecto macho al inicio de noviembre. En los machos cabríos se observan dos periodos de actividad sexual máxima durante los ciclos de iluminación natural (Figura 6B). Un ensayo realizado en una explotación muestra la eficacia de un efecto macho en noviembre: todas las cabras ovularon y 92% de las ovulaciones fértiles tuvieron lugar a los 8-9 días después de la exposición al macho (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

Esta estrategia puede adaptarse a la utilización del efecto macho durante todo el periodo reproductivo (de octubre a febrero). Para una reproducción en noviembre se puede empezar usando el fotoperiodo natural de DC (sin melatonina), lo que permite el uso de este tratamiento en ganadería ecológica. Sin embargo, para una reproducción programada durante los otros meses de periodo sexual natural, se tendrá que utilizar melatonina para simular DC.

La evolución de la actividad ovulatoria cíclica durante una alternancia de 3 meses de DL y de 3 meses de DC ha sido descrito también en la oveja Ile-de-France. Ya que las ovejas tienen dos periodos de actividad y dos periodos de inactividad ovulatoria al año, es decir, periodos de inactividad ovulatoria más cortos que en caprinos, hoy en día, el uso de esta estrategia todavía no se ha planteado (Pellicer-



Rubio *et al.* 2019).

c. **Tratamientos lumínicos alternativos al uso de melatonina, para una reproducción sin hormonas en cualquier momento del año**

Una alternancia de días largos y de luz continua estimula la actividad sexual de los machos y de las hembras fuera de la estación reproductiva (pero su aplicación en ganadería no está autorizada por la legislación europea)

La melatonina se secreta durante la noche por la glándula pineal (su secreción está inhibida por la luz). Sirve de señal hormonal al animal, le indica la duración del día. En la oveja, la ausencia de melatonina circulante de manera continua (24h/24h), debida a una pinealectomía (ablación de la glándula pineal) durante el verano se traduce en una estimulación de la actividad sexual similar a la que se observa después del tratamiento con melatonina. La ausencia de melatonina circulante puede estar simulada sobre animales no-pinealectomizados iluminándolos de forma continua 24h/24h.

Un tratamiento lumínico basado en una alternancia de DL y de luz continua se traduce en una estimulación de la actividad sexual fuera de la estación reproductiva en ovinos y caprinos machos y hembras. Sin embargo, esta técnica podría estar acompañada de una alteración de los ritmos biológicos de diferentes funciones del organismo (por ejemplo, de una alteración de la respuesta inmunitaria). Las normas de bienestar animal en ganadería no autorizan la iluminación continua de los animales (Directiva comunitaria 95/58/CE) (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

Una alternancia de “días muy largos” con días de primavera no estimula la actividad sexual

Se han realizado estudios de conducta en la cabra Alpina para evaluar si los DL de primavera (14h o 16h de luz/día) pueden actuar como DC (estimuladores de la reproducción) cuando están aplicados después de “días muy largos” de 18h o 20h al día. Sería una alternativa al uso de la melatonina para una entrada en el periodo reproductivo en verano, o con una alternancia en continuo de 3 meses de DL y 3 meses de DC. Sin embargo, los resultados han mostrado que la cabra no llega a diferenciar bien los fotoperiodos comprendidos entre 20h y 14h de luz/día. Los fotoperiodos superiores a 14h son interpretados como DL inhibitorios de la reproducción cualquiera sea el fotoperiodo recibido antes. Los tratamientos lumínicos basados en “días muy largos” seguidos por DL de primavera no constituyen por tanto una alternativa a la melatonina en las cabras. La utilización de “días muy largos” no ha sido todavía estudiado en el ovino (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

### El éxito del efecto macho durante el verano sin utilización de melatonina es posible gracias a la inducción previa de un estado refractario al efecto inhibitorio de los días largos

Cuando el tratamiento con DL (inhibitorios de la reproducción) está aplicado durante un largo periodo de tiempo (más de 150 días en el ovino, 210 días en caprino) la actividad sexual de los animales está reactivada, hablamos entonces de la adquisición de un estado refractario a los días largos.

Esta estrategia ha sido estudiada en la cabra Alpina para un periodo reproductivo en verano. Se someten los animales (tanto machos como hembras) a una alternancia de 6 meses de DL (16h de luz/día, al empezar el invierno) y 6 meses de fotoperiodo natural. Un efecto macho a finales de julio permite conseguir una buena respuesta estral y ovulatoria de las cabras, similares a las que se observan aplicando un tratamiento clásico con melatonina. La estimulación de cabras no tratadas (bajo fotoperiodo natural) se ha visto significativamente inferior. Se necesitan estudios complementarios para poder ajustar el momento de exposición de las cabras a los machos según la fecha de inicio de tratamiento con DL (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

### 3. ¿COMO UTILIZAR LA INSEMINACION ARTIFICIAL DESPUES DEL EFECTO MACHO, Y CON QUE RESULTADOS?

La IA no necesita obligatoriamente una sincronización del estro o de la ovulación; gracias a la detección del celo es posible detectar las hembras a inseminar y determinar el momento de inseminación. Cuando las hembras son naturalmente cíclicas (temporada sexual) y en ausencia de sincronización de los celos, las inseminaciones deben hacerse durante varios días (durante un periodo equivalente a la duración de un ciclo sexual), a medida que las hembras van entrando en celo. El uso de la IA sobre celos naturales es habitual en los bovinos (especie de reproducción no estacional). Sin embargo, no está desarrollado en pequeños rumiantes por la dificultad asociada a la reproducción estacional, la dificultad para la conservación y el transporte del semen (sobre todo en ovino), y la particularidad del manejo de los rebaños.

En los pequeños rumiantes, son los tratamientos hormonales de inducción y sincronización de los celos que han permitido el desarrollo de la IA, con la ventaja de poder inseminar un lote de hembras en un momento predeterminado, sin detección previa de los celos, y en cualquier momento del año, en hembras cíclicas y no cíclicas (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

### a. Protocolo de IA sin utilización de hormonas

Los primeros ensayos de IA después del efecto macho han sido llevados a cabo en ovino y en caprino basados en una detección de los celos previos a la IA. Las ovulaciones fértiles inducidas y sincronizadas por el efecto macho se extienden durante una o dos semanas. De esta forma, solo un momento de IA no es suficiente para poder fecundar el conjunto de todas las hembras estimuladas. La detección de los celos es obligatoria para poder determinar qué momento y cuáles de las hembras hay que inseminar.

El primer protocolo de IA sin hormonas en caprino que fue propuesto en Francia y consistía en realizar una detección de los celos (gracias a un arnés con pinturas) dos veces al día a partir del día 5 después de la introducción de los machos, hasta el día 9. Las cabras son inseminadas a medida que van entrando en celo 12h después de haber sido detectadas (Figura 7: protocolo A). Este protocolo

puede necesitar hasta nueve momentos de IA a 12horas de intervalo cada uno, durante cinco días seguidos, para poder inseminar todas las cabras estimuladas (Pellicer-Rubio *et al.* 2019).

Se han desarrollado otras tres estrategias de inseminación basadas únicamente en el efecto macho (sin hormonas) pero que no necesitan tal número de inseminaciones: dos protocolos proponen dos momentos de IA predeterminados, con o sin detección de celos previos (Figura 7: protocolos E y F). El último protocolo consiste en detectar los celos con el objetivo de realizar una IA única en un momento no predeterminado (Figura 7: protocolo G) (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

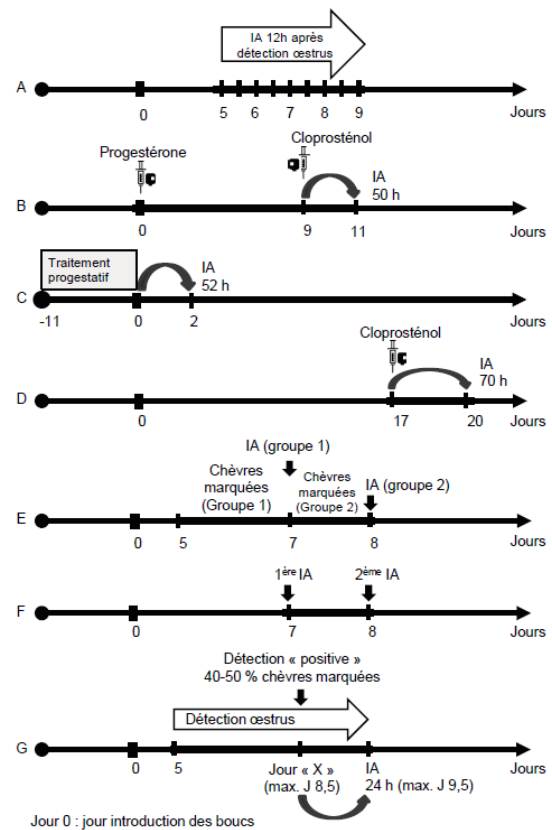


Figura 7: Protocolos de IA después del efecto macho en cabras.

Adaptado de Pellicer-Rubio *et al.*, (2019).

### b. Protocolos de IA que limitan el uso de hormonas

La complejidad de la respuesta al efecto macho y la variabilidad observada en ganadería han llevado a estudiar otros tipos de protocolos que limitan, pero no excluyen del todo, el uso de hormonas. Proponen estrategias basadas en la combinación del efecto macho con progestágenos y/o

prostaglandinas para evitar el problema de los ciclos cortos, y así poder inseminar sólo una vez en un momento predeterminado (Figura 7: protocolo B, C y D). Estos protocolos utilizan hormonas, pero tienen la ventaja de excluir la eCG, hormona de origen animal (Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

El éxito de la IA después del efecto macho se basa en una buena estimulación de la actividad estral y ovulatoria de las cabras que se encuentran en anestro. Gracias a los tratamientos lumínicos será posible estimular la actividad sexual de los machos cabríos y de controlar el ciclo de las cabras junto con su receptividad para conseguir el éxito del efecto macho. La elección del tratamiento lumínico dependerá del momento del año en el que desee el ganadero que sea el periodo reproductivo.

#### 4. LA ALIMENTACION COMO HERRAMIENTA AL CONTROL DE LA REPRODUCCION

En este apartado nos centraremos en cómo la nutrición puede influenciar la reproducción de los animales a través del eje hipotálamo-hipófisis-ovario que actúa directamente sobre el ovario y por lo tanto que controla la ovulación. Veremos que la ovulación está afectada por tres factores: la nutrición, el fotoperiodo y las interacciones socio-sexuales que pueden existir entre los animales. La naturaleza multi-dimensional de estas interacciones es muchas veces más importante que las respuestas al entorno que tiene cada animal de manera individual. Por lo tanto, el objetivo será destacar los conocimientos que hay sobre las interacciones entre distintos aspectos del entorno y como éstos afectan a los procesos reproductivos, y demostrar la necesidad de que hay que hacer estudios sobre el manejo “sostenible, ecológico y ético” (“Clean, Green, Ethical) de los animales de aptitud ganadera, particularmente sobre el manejo nutricional de los animales (Martin y Ferasyi, 2016).

##### a. La alimentación y la función ovárica

La nutrición parece que tenga efectos bi-direccionales sobre la función del ovario, efectos inhibidores a nivel hipotalámico (permitiendo o previniendo la ovulación) y estimuladores a nivel ovárico (afectando la tasa ovulatoria) y además parece que sea distinta en los rumiantes y en las especies monogástricas. Los pequeños rumiantes se consideran como especies estacionales monotocas, sin embargo, los dobles partos son bastante frecuentes naturalmente. El componente de la dieta más importante respecto a la función ovárica es la energía, que se obtiene sobre todo a partir

de la glucosa (Scaramuzzi y Martin, 2008).

El aporte escaso o la privación de nutrientes, resultante en un aporte en energía insuficiente, o una insuficiente disponibilidad de energía por una demanda excesiva por parte del cuerpo (ejercicio físico extremo, una demanda importante de energía debido a la lactación) inhibe la liberación de GnRH por parte del hipotálamo y eso hace que a su vez se ve reducida la secreción de LH por la hipófisis y conlleva a un estado anovulatorio de la hembra. La liberación pulsátil de GnRH por parte del hipotálamo parece ser más sensible a la nutrición en las especies monogástricas (ratones, primates y ser humano) que en los rumiantes (ovejas, cabras y vacas). En las especies monogástricas la escasa nutrición y la asociada hipoglucemia rápidamente conlleva a la inhibición de la liberación de GnRH y la inhibición de la liberación pulsátil de LH. Los rumiantes raramente desarrollan hipoglucemia y están aparentemente algo protegidos de la anovulación nutricional, por lo tanto, la inhibición de la liberación pulsátil de LH se ve bajo condiciones experimentales después de haber provocado un estado hipoglucémico o como consecuencia de la lactación. Al contrario, para animales con condición corporal normal la suplementación nutricional puede tener un pequeño efecto directo sobre la secreción hipotalámica de GnRH o sobre la secreción hipofisaria de gonadotropina en la hembra.

La suplementación nutricional puede estimular la foliculogénesis y entonces, incrementar la prolificidad, pero esto parece ser que sea por un efecto directo de la nutrición sobre el folículo en sí. La respuesta folicular al aumento del aporte de nutrientes no es siempre positiva; así, si la suplementación es de duración controlada, y si el aumento de peso es moderado, entonces sí que la foliculogénesis se ve favorecida, pero si tenemos un aumento de peso corporal extremo con obesidad y aumentos bruscos del aporte de nutrientes podríamos conseguir efectos inhibitorios sobre la función ovárica y reducir la fertilidad.

Mientras la hembra está ovulando y se supera un umbral determinado en el aporte de nutrientes, la regulación nutricional se vuelve cuantitativa y actúa a nivel del folículo para determinar la tasa de reproducción-la tasa de ovulación, de prolificidad o tamaño de camada (Scaramuzzi y Martin, 2008).

#### b. Los efectos de la suplementación: *flushing* nutricional

El *flushing* es un método de suplementación nutricional que se ha usado en los sistemas de producción con rumiantes desde por lo menos los principios del siglo XIX. La suplementación de una duración corta (3-7 días) tiene consecuencias muy distintas a la que puede tener una de duración más larga (6-8 semanas). De manera similar, las consecuencias metabólicas de una suplementación en animales con balance energético negativo van a ser muy distintas a la que se van a obtener si se

aplica con animales de buena condición corporal. Por lo tanto, es muy probable que los efectos en la foliculogénesis y en el sistema de liberación pulsátil de GnRH dependan también del estado metabólico del animal y de la naturaleza de la suplementación. Se ha visto que la suplementación nutricional de animales con mala condición corporal da mejores resultados que en animales con buena condición corporal, aumentando más la tasa de ovulación en las ovejas de mala condición corporal (Scaramuzzi y Martin, 2008).

Se han hecho estudios también para averiguar qué componentes específicos de la dieta podrían influenciar en la función del ovario. Hoy en día, se ha consensuado que el componente energético de la dieta juega un importante papel en la función ovárica. La administración de glucosa o de otros sustratos energéticos puede permitir el aumento de la tasa de ovulación en ovejas. Sin embargo, en otros estudios el aumento del aporte de glucosa no ha provocado el aumento de la tasa de ovulación en las hembras y además en los machos el aumento de la espermatogénesis no se ha asociado tampoco al aporte de glucosa (Scaramuzzi y Martin, 2008).

### c. El aporte de glucosa afecta a la función del ovario

La glucosa para la síntesis de ATP viene de la dieta o de la gluconeogénesis, acompañado o no por la síntesis de glucógeno. Las especies monogástricas extraen la glucosa principalmente de la dieta que reciben, más que por la gluconeogénesis; sin embargo, los rumiantes reducen la glucosa de la dieta en condiciones de anaerobiosis en el rumen y de esta forma se forman ácidos grasos de cadena larga y ácidos grasos volátiles de cadena corta. Los rumiantes, animales con una gluconeogénesis muy eficiente, muy pocas veces se encuentran en estado de hipoglicemia o hiperglicémicos. Por ejemplo, vacas lecheras con alta producción lechera no entran en hipoglicemia en el pico de lactación, aunque estén en un balance energético negativo. En efecto, los rumiantes entran en hipoglicemia únicamente en situaciones muy extremas como puede ser en toxemia de gestación en ovejas (Scaramuzzi y Martin, 2008).

### d. La interacción entre la nutrición y la estacionalidad

El fotoperiodo y la nutrición son los factores que mayor influencia tienen en la reproducción, por lo tanto, parece evidente que la estacionalidad de la ovulación vaya a depender de la nutrición que recibe el animal. En efecto, se ha visto en un estudio realizado (Hulet et al., 1986) durante trece meses que ovejas en pastoreo en periodo de anestro, presentan un menor número de animales ovulando, comparando con un grupo de ovejas en un terreno sin vegetación y suplementado con alfalfa. En el grupo en pastoreo había una mayor proporción de ovejas sin ovular en febrero, lo que

sugiere que entraron antes en anestro. En otro estudio (Forcada et al. 1992; Forcada y Abecia 2006), en el cual se han mantenido dos grupos de ovejas en dos niveles distintos de condición corporal se mostró que la duración del anestro fue reducida alrededor de dos meses en las ovejas con buena condición corporal comparando a las ovejas en baja condición corporal.

Entonces, hay una clara interacción entre la nutrición y la estacionalidad de la ciclicidad ovárica en ovejas, cabras y caballos. Sin embargo, los estudios que tenemos no permiten especificar el mecanismo que podría estar al origen de esta interacción y cómo podríamos incorporarlo en nuestros sistemas de producción animal “sostenibles, ecológicos, y éticos” (Scaramuzzi y Martin, 2008).

#### e. Interacciones entre la nutrición y los señales socio-sexuales

Al igual que el fotoperiodo, las señales socio-sexuales son los factores que más control permiten obtener de la ovulación en las especies estacionales. Parece también que la nutrición podría influenciar en la eficacia del efecto macho y eso actuando sobre la neurona GnRH a nivel del hipotálamo.

Al separar un grupo de cabras según su condición corporal, se observó que las que tenían mala condición corporal respondían peor al efecto macho que las que tenían una buena condición. Se llegó a la misma conclusión con ovejas en otros estudios (Scaramuzzi y Martin, 2008).

Se investigó la interacción existente entre la nutrición y el efecto macho en un grupo de cabras en anestro (De Santiago-Miramontes et al., 2008). Los dos grupos de cabras, cada uno de 25 animales en anestro, se alimentaban de una vegetación natural de calidad mediocre de las nueve de la mañana a las cuatro de la tarde diariamente. Uno de los dos grupos únicamente recibía un

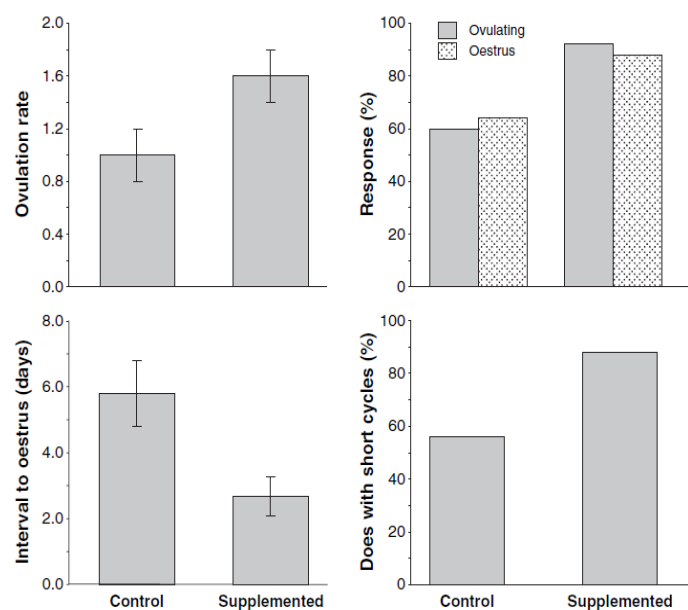


Figura 8: la tasa de ovulación, el intervalo desde la introducción de los machos hasta el inicio del estro, y las proporciones de cabras ovulando, cabras en estro y con ciclos cortos durante la primera ovulación siguiente a la introducción de los machos y esto para las cabras sin suplementar y para las cabras con suplementación durante 7 días antes de la introducción de los machos sexualmente activos. Adaptado de Scaramuzzi y Martin (2008).

suplemento por la tarde – noche. Se vio que la proporción de cabras ovulando, la proporción de cabras en estro y la tasa de ovulación en la primera ovulación detectada del animal, después de 5 días de haber introducido a los machos, era mayor en el grupo suplementado que en el otro sin suplementar (Figura 8).

El efecto de la suplementación no persiste y la proporción de cabras en estro no fue diferente si la ovulación ocurría más allá de los 5 días y tampoco hubo diferencias en la tasa de ovulación. Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que una suplementación de las hembras durante poco tiempo, antes del efecto macho, puede incrementar la proporción de hembras que responden a éste y permite un incremento de la tasa de ovulación. Sin embargo, el efecto estimulador de la suplementación no persiste y no se observó en la ulterior ovulación. El aumento de la tasa de ovulación nos sugiere que la suplementación de los animales promueve el crecimiento de un número mayor de folículos ovulatorios o reduce la tasa de atresia entre el conjunto de folículos existentes. La suplementación también permite la reducción del intervalo entre la introducción de los machos en el rebaño y la entrada en estro de las hembras. Resultados similares se han obtenido también con las ovejas.

El mecanismo detrás de la respuesta reproductiva a la suplementación nutricional es todavía poco claro porque no tenemos modelos experimentales para poder explicar la variabilidad de la respuesta a esta suplementación, al efecto macho y a la interacción que se produce entre los dos.

Para concluir, está claro que la eficacia del efecto macho está influenciada por factores nutricionales y metabólicos (Scaramuzzi y Martin, 2008).

#### f. Las reservas corporales afectan a la respuesta del sistema endocrino frente a un cambio importante en la alimentación

El estado metabólico se puede definir como el conjunto de nutrientes y de energía que están disponibles para el animal en un momento dado, lo cual es un potente regulador de la actividad reproductiva tanto en hembras como en machos. El estado metabólico depende de todo lo que se consume como alimento, del conjunto de las reservas corporales y de la tasa de uso de la energía. Los cambios en estos tres componentes pueden influenciar la capacidad reproductiva. Por ejemplo, un aumento en el consumo de nutrientes puede multiplicar la ovulación en las hembras e incrementar la producción de esperma en machos. El peso corporal adecuado y las reservas corporales adecuadas están directamente ligadas a la entrada en la pubertad (Zhang *et al.* 2005).

Se ha demostrado que la actividad de las neuronas GnRH en el hipotálamo está regulada por señales que reflejan el balance metabólico, cuya consideración es importante ya que la actividad de la



neurona GnRH es lo primero que controla la función gonadal. El origen de la señal metabólica a las neuronas GnRH no está claramente definida, pero hay evidencias que las hormonas insulina y leptina juegan un papel fundamental en modelos animales como por ejemplo la oveja. Primero, la concentración de insulina y leptina en sangre es sensible a los cambios en el aporte de nutrientes y a las reservas corporales, y de la misma manera que se ve afectada la concentración de estas hormonas, se ve afectada también la liberación pulsátil de LH, y entonces de GnRH. Segundo, la infusión intracerebral de insulina o leptina incrementa la frecuencia de la pulsatilidad de LH. Finalmente, en roedores, al igual que en rumiantes, la propia secreción de leptina afecta a la secreción de insulina y viceversa, apoyando la idea que juegan un papel colectivo y que se integra en una señal compleja actuando a nivel del metabolismo del animal y en la funcionalidad de su aparato reproductivo (Zhang *et al.* 2005).

El efecto del estado metabólico en la secreción de GnRH en la oveja es dinámico, actuando en unos días, sin embargo, baja de nuevo después de unas semanas, y eso, aunque se continúe alimentando al animal con un plano alto y teniendo una condición corporal alta. Esto se aplica tanto para los machos como para las hembras, y sugiere que cambios a corto plazo (consumo de alimentos) y a largo plazo (reservas grasas) cambian el estado metabólico de distinta manera afectando a la secreción de GnRH/LH. Para poder responder a esta problemática se llevó a cabo un estudio para ver el efecto del aumento de la alimentación en la secreción pulsátil de LH en el morueco Merino y esto en animales con diferente condición corporal. Dos grupos de moruecos se alimentaron de diferente manera para conseguir animales con distinta condición corporal (“gordos” y “flacos”). Después, para la mitad de los animales de cada grupo el plano de alimentación fue el doble del plano habitual, mientras que para la otra mitad se mantuvo al igual que siempre. Se obtienen entonces 4 grupos distintos:

- Flacos con dieta de mantenimiento
- Flacos con alto plano de alimentación
- Gordos con dieta de mantenimiento
- Gordos con alto plano de alimentación

Al final de los 7 días de experimento, se midió la frecuencia de la pulsatilidad de LH y la concentración de insulina y leptina en el plasma y también de las hormonas tiroideas. La concentración de hormonas tiroideas en el plasma fue medida para evaluar si el tratamiento no modificó la activación del metabolismo (Zhang *et al.*, 2005).

Se vio que un aumento importante del plano de alimentación incrementa la frecuencia de la pulsatilidad de LH, y, por lo tanto, interfiere con la frecuencia de la pulsatilidad de GnRH de manera más importante en los moruecos flacos que en los gordos. La concentración de insulina del plasma en ambos grupos se incrementó significativamente por el aumento importante del plano de

alimentación, sin embargo, la concentración de leptina se incrementó solo en los moruecos “gordos”. Esto sugiere que para la transmisión de la información metabólica a los centros que controlan la secreción pulsátil de GnRH/LH en el animal, la insulina y la leptina juegan un papel diferente cuando hay un aumento del consumo de alimento o cuando hay diferencias en las reservas corporales (Zhang *et al.*, 2005).

Los cambios de condición corporal se consiguieron en 4 meses. El efecto de un plano de alimentación alto de manera sostenida durante tanto tiempo provocó una disminución de la secreción de GnRH/LH en los moruecos gordos. Esto corrobora los resultados obtenidos en otros estudios que dicen que la frecuencia de la pulsatilidad de LH aumenta en unos días y se mantiene alta durante únicamente algunas semanas antes de volver a los niveles anteriores al inicio del tratamiento, aunque se siga manteniendo un alto plano de alimentación. Otros estudios también demostraron que la liberación pulsátil de LH no se ve afectada por un aumento a largo plazo de las reservas grasas en los moruecos (Zhang *et al.*, 2005).

A cambio, un estímulo a corto plazo durante 7 días, con un aumento brusco de la alimentación, aumenta significativamente la frecuencia de liberación de LH en los moruecos “flacos” pero tiene poco efecto en los moruecos “gordos”. La diferencia entre los moruecos “gordos” y “flacos” sugiere que la respuesta de la LH al aumento brusco de la alimentación depende de la condición corporal del animal. En la hembra, la secreción de LH es más sensible a la mala nutrición. Sin embargo, cuando la alimentación es muy escasa (40% de las necesidades energéticas), no se ve alterada la secreción de LH en las ovejas “gordas”, pero disminuye en las ovejas más flacas (Zhang *et al.*, 2005).

La concentración de insulina y leptina en sangre responden a una correlación positiva con las reservas corporales en los moruecos alimentados con dieta de mantenimiento. No se estudió solo el papel del aporte alimenticio y de las reservas corporales en la secreción de insulina y leptina, pero también se estudió la interacción que existe entre estas dos en su secreción. En roedores y rumiantes, el tratamiento con insulina incrementa la expresión del gen de leptina y la concentración de leptina en plasma. En este estudio, la insulina debería ejercer un efecto similar en la producción de leptina en ambos grupos de animales, pero el incremento de la concentración de leptina en plasma al responder al estímulo nutricional fue mayor en los moruecos “gordos”. Esto demuestra que la síntesis de leptina en el tejido adiposo está regulada por otros factores y no únicamente por la insulina. Se puede pensar que los adipocitos que secretan leptina reciben un feedback similar por la insulina en los animales “gordos” y “flacos”, pero que la producción de leptina en los animales “gordos” es mayor porque hay más cantidad de adipocitos y más grandes (Zhang *et al.*, 2005).

En conclusión, cambios metabólicos a largo plazo (condición corporal) y a corto plazo (ingesta de alimentos) interaccionan en la regulación de la actividad de las neuronas GnRH en los moruecos. Tanto la leptina como la insulina parecen estar implicadas en el control del eje reproductivo, pero

otras señales como la ghrelina y la amylin podrían estar también implicadas (Zhang *et al.*, 2005).

## 5. GENETICA

Hasta ahora nos hemos centrado en los aspectos fisiológicos, de aptitud y de manejo de los animales, pero para ir hacia un manejo de la reproducción sin el uso de hormonas tenemos que tratar también la importancia que tiene la genética en los caracteres reproductivos (Martin y Ferasyi, 2016).

Martin y Greeff (2011) hablan de una variación genética (entre y dentro de una misma raza) y de la heredabilidad de los caracteres reproductivos:

- a. La fecundidad: lo interesante sería identificar animales con un potencial genético a tener varias ovulaciones, quizás seleccionando según se haya obtenido uno o dos corderos por parto.
- b. Aumentando la fertilidad gracias a cortos periodos de apareamiento (“short mating period”).
- c. Aumentando la producción de calostro: hay una variación entre los distintos genotipos (por ejemplo, entre ovejas de aptitud lechera o de aptitud cárnica) en la cantidad producida, y una variación individual en el momento de producción, ya que hay diferencias en la sincronización entre el momento de parto y el suministro de calostro.
- d. Promoviendo el vínculo entre la madre y el cordero: la supervivencia del cordero parece variar entre los genotipos por la variación en el tiempo que tarda la madre en reconocer a su progenie y el tiempo que tarda la progenie en reconocer a su madre.

Se puede criar los animales según su resistencia a ciertas enfermedades (por ejemplo, la resistencia que tienen algunos animales a la infestación por helmintos), pero el fenotipo es difícil de medir por lo que la introducción de la genética para facilitar el control de la reproducción en nuestros rebaños va a ser lenta.

- a. La variabilidad entre e intra-razas indica la existencia de un control genético de la estacionalidad reproductiva

Las especies caprinas y ovinas presentan variabilidad en cuanto al grado de estacionalidad entre las distintas razas. Por ejemplo, la raza Merina y Manchega presentan una estacionalidad moderada, mientras que las razas Soay y Texel muy marcada. Las razas tropicales locales generalmente presentan una estacionalidad reproductiva muy baja, o una ciclicidad durante todo el año sin ningún

periodo anovulatorio. Los ganaderos en los trópicos están interesados en esta baja estacionalidad para poder organizar el periodo reproductivo de su rebaño a lo largo de todo el año, sin uso de tratamientos hormonales costosos. Desgraciadamente, en los países nórdicos las razas presentan una marcada estacionalidad reproductiva debido a la alta variación anual del fotoperiodo (Chemineau *et al.* 2010).

La variabilidad intra-raza existe en las razas de clima templado, algunos caracteres reproductivos como el inicio, el final y la duración del periodo reproductivo son heredables y entonces interesantes en el campo de la selección genética. La fertilidad fuera de la estación reproductiva también se ha mostrado ser heredable. Otros caracteres indirectos como la ovulación espontánea al inicio de primavera, que probablemente indica un periodo de reproducción más largo y por lo tanto una mayor fertilidad, son también hereditarios en la oveja Merina y se podrían usar en la selección. Por lo tanto, estas razas se podrían usar para estudiar con más detalle la relación entre los mecanismos mediante los cuales controlan su estación reproductiva y los genes que están involucrados en este control (Chemineau *et al.*, 2010).

La concentración de melatonina en plasma tiene un componente genético con una heredabilidad alta, que está ligado al tamaño y al peso de la glándula pineal. La selección para una fertilidad fuera de la temporada reproductiva se demostró que estaba asociada con la disminución del nivel de melatonina en plasma, lo cual sugeriría la existencia de una relación entre el nivel de melatonina nocturna y la estacionalidad. Sin embargo, esta variabilidad genética en la secreción de melatonina no está ligada a la variabilidad presente en el inicio o en el final de la estación reproductiva. La relación entre la intensidad de la anovulación (presencia/ausencia de ovulación fuera de la temporada reproductiva) y la relativa frecuencia de alelos del receptor de melatonina MT1 en la oveja Merina fue demostrada y sugiere que se podría usar este polimorfismo para seleccionar animales según la presencia de alelos favorables. Sin embargo, la relación entre la frecuencia de los alelos MT1 y las características del periodo ovulatorio (inicio, final y duración) no se encontró al comparar dos grupos de ovejas Ile de France, homocigotas nacidas del mismo padre heterocigoto (Chemineau *et al.*, 2010).

Por lo tanto, esta variabilidad genética, como suele ocurrir para muchos otros caracteres, no depende del polimorfismo de un único gen, pero de varios, de los cuales aún quedan por identificar y evaluar varios antes de cualquier posible aplicación directa en la selección (Chemineau *et al.*, 2010).

#### b. Mapeo genético de un Quantitative Trait Loci (QTL) para una reproducción fuera de la estación reproductiva en ovejas

Como se ha dicho anteriormente, la aptitud para reproducirse fuera de la estación reproductiva está

controlada por muchos genes y factores ambientales.

Los partos que ocurren únicamente en un momento preciso del año son el mayor obstáculo para poder aumentar la distribución e intensidad de la producción de corderos. Las ovejas (con una gestación de 5 meses) se cubren durante el otoño o el invierno. Las diferentes razas de ovejas difieren en el momento y duración de sus apareamientos y entre las razas de clima templado, Dorset, Finsheep y Rambouillet parecen ser las menos estacionales. El componente genético de la actividad sexual ha sido durante mucho tiempo considerado como una manera para poder controlar el inicio del periodo reproductivo, pero se sabe muy poco sobre los genes implicados en esta variabilidad genética. Mediante la identificación de QTL responsables de la reproducción estacional y usando una selección basada en marcadores genéticos se podrían mejorar mucho los programas de selección que promueven la reproducción fuera de la estación reproductiva. Para ir hacia este objetivo, se hizo un experimento generando una población de animales, cruzando ovejas Dorset con moruecos East Friesian. Las ovejas Dorset fueron seleccionadas por la poca estacionalidad reproductiva y la prolificidad, sin embargo, la oveja East Friesian para su producción lechera alta, pero con alta estacionalidad reproductiva. Estas dos líneas que se usaron fueron apropiadas para este proyecto, porque una de las dos debe ser portador de alelos dominantes favorables y la otra portadora de alelos dominantes no favorables con respecto a un periodo reproductivo fuera de la estación. Se cruzaron ocho ovejas Dorset, que expresan una reproducción fuera de la estación, con cuatro moruecos East Friesian, para generar 8 moruecos F1, que se cruzaron a su vez con 132 ovejas Dorset, para generar de esta forma 159 ovejas F2 (Mateescu y Thonneyn, 2010).

Las ovejas en primavera (mayo-abril y mayo-junio) presentan la menor fertilidad. Por lo tanto, el fenotipo de reproducción no-estacional se estudió mediante la toma de sangre, estudiando el perfil de progesterona durante y después de la primavera (2003 y 2007) de las F2 y de las ovejas Dorset F1 de un año. Las muestras de sangre fueron tomadas dos veces a la semana durante 14 semanas. El periodo de muestreo constaba de 35 días antes del periodo de apareamiento, los 10 últimos días con un morueco vasectomizado, 32 días con un morueco Dorset entero y 31 días después de haber quitado el morueco. Se hizo el seguimiento del ciclo estral de cada oveja estudiando las variaciones de los niveles de progesterona en sangre. Una gestación temprana se detectaba con un alto nivel de progesterona constante en sangre. A los 55 días, después del periodo de apareamiento (después de que se hayan quitado los moruecos enteros del rebaño), se realizó una ecografía transabdominal para poder detectar la gestación. La medida final de una reproducción fuera de la estación reproductiva fue la presencia de partos entre agosto y septiembre. Se anotaron varios datos para poder describir el fenotipo no-estacional: el número de ciclos y el nivel máximo de progesterona previos al apareamiento, el estado de gestación determinado por el nivel de progesterona, el estado

de gestación determinado por ecografía, el parto y el número de corderos nacidos. Se identificaron 120 marcadores de microsatélite genotipando un total de 311 animales. El fenotipo no-estacional se asignó a 163 ovejas F2, 118 en primavera-otoño 2003 y 45 en primavera-otoño 2007. Examinando las 163 ovejas antes, durante y después del periodo de apareamiento se obtuvieron los siguientes resultados:

- 96,3% de las ovejas tuvieron actividad ovárica (por lo menos un ciclo estral)
- Sólo 32,5% de las ovejas ciclando tuvieron una gestación exitosa basada en el perfil de progesterona
- 30,6% se diagnosticaron gestantes por ecografía 55 días después del periodo de apareamiento
- 20,4% parieron en otoño.

Estos resultados sugieren que la menor capacidad para quedar gestante y parir fuera de la estación reproductiva no es debida a la falta de actividad estral, sino debida a un descenso de la capacidad de estar gestante y mantener esta gestación (Mateescu y Thonneyn, 2010). En otro estudio se vio también que la capacidad para mantener la gestación después de una monta en primavera es un factor importante para el éxito de una cubrición fuera de la estación reproductiva (Pope et al., 1989). Se identificaron siete cromosomas (1, 3, 12, 17, 19, 20 y 24) que albergan el QTL para uno o más rasgos que permiten describir una reproducción fuera de la estación reproductiva.

Estos resultados forman el primer paso hacia la comprensión del mecanismo genético que rige la capacidad de ciertas ovejas para reproducirse fuera de la estación reproductiva y muestra que está asociada a varias regiones de cromosomas (Mateescu y Thonneyn, 2010).

### c. Variantes del microsatélite OLA-DRB1 se asociaron con los caracteres de crecimiento y de reproducción en ovejas

El «Vertebrate Major Histocompatibility Complex» (MHC) es un complejo de histocompatibilidad que contiene genes altamente polimórficos. En la oveja, el conocimiento de la influencia del MHC en los caracteres reproductivos y de crecimiento es todavía escaso. El MHC de la oveja (“ovine leukocyte antigen system” OLA) está localizado en el cromosoma 20. Entre los genes del complejo OLA, los genes DR beta 1 (DRB1) resultaron ser altamente polimórficos. Por lo menos 106 OLA-DRB1 alelos del exón 2 han sido identificados en varias razas de ovejas, y en varios estudios se describió la relación entre ser portador de estos alelos y la resistencia a algunas enfermedades (Geldermann *et al.*, 2006).

En este experimento se estudió un microsatélite que está dentro del intrón 2 del gen DRB1. Para estudiarlo se seleccionaron 249 ovejas Merinas de distintos rebaños y siete moruecos que no tenían ningún parentesco ni con las ovejas ni entre sí. El estudio se llevó a cabo durante 3 años, con

distintos periodos de acoplamiento. Cada oveja fue cruzada dos veces con distintos machos para obtener dos gestaciones consecutivas. Las ovejas que no se quedaron gestantes en un periodo de acoplamiento fueron cruzadas otra vez con el mismo macho en el periodo de acoplamiento siguiente. Después de dos gestaciones, las ovejas se reemplazaron por otras ovejas jóvenes primíparas. Al final de estos 3 años nacieron 381 corderos, y entre estos, 58 nacieron muertos o no alcanzaron 3 meses de edad (Geldermann *et al.*, 2006).

Los 16 alelos DRB1 observados en este estudio, contenidos entre el alelo 353 y 857 pb, confirmaron los resultados obtenidos en otros estudios anteriores con la misma raza, pero también con distintas razas. Los alelos más frecuentes (411, 405 y 394 pb) fueron cada uno encontrados en dos de los siete moruecos usados, lo que explica la presencia de estos alelos dominantes en los corderos (Geldermann *et al.*, 2006).

La relación entre los alelos DRB1 de las hembras cruzadas y su fertilidad fue examinada. Las hembras gestantes portadoras del alelo 386 pb parieron un mayor número de corderos que las portadoras del alelo 389 pb de las cuales se destetaron un menor número de corderos. Se vio también una mayor fertilidad de las ovejas portadoras del alelo dominante 411 pb. En efecto, las hembras cruzadas con portadores del alelo 411 pb tenían un mayor número de corderos nacidos y destetados. En cuanto a los factores ambientales, se vio que el momento de apareamiento tuvo influencia en la fertilidad de las hembras cruzadas, de modo que el número de corderos nacidos fue mayor al final de la primera gestación que en la segunda. En cuanto a los caracteres de crecimiento, los portadores de los alelos 394 y 857 pb tuvieron corderos con un peso de 400 gramos más comparando con el resto de los individuos. El alelo 400 pb fue positivamente correlacionado con el peso al destete. Para los alelos dominantes 411 y 394 pb, las portadoras del alelo 394 pb presentaban un mayor peso al parto, pero también para otros caracteres de crecimiento (Geldermann *et al.*, 2006).

En conclusión, estos resultados sugieren la presencia de un QTL para los caracteres de fertilidad y crecimiento a proximidad del microsatélite DRB1, y la asociación de este locus con ambos caracteres podría ser una ayuda para la aplicación en la selección de ovejas. Las relaciones observadas podrían estar debidas a la diferencia en cuanto a resistencia a enfermedades que podrían afectar a la fertilidad y al crecimiento del animal (Geldermann *et al.*, 2006).

## 6. NUEVAS HERRAMIENTAS PROPUESTAS COMO ALTERNATIVA A LOS TRATAMIENTOS HORMONALES: EL PROYECTO “REPROBIO”

El proyecto «Reprobio» (« Maîtrise de la REproduction dans les élevages de Petits Ruminants s’inscrivant dans un Objectif d’élevage BIOlogique ») se desarrolló durante 3 años (de enero 2013 a

diciembre 2015) con el fin de optimizar el manejo de la reproducción en ganaderías ovinas y caprinas mediante el desarrollo de nuevas tecnologías: comprobar el funcionamiento de detectores automatizados de celo y de la utilización de feromonas como alternativa al uso de hormonas para la inducción y sincronización de la ovulación fuera de la temporada reproductiva. Estos trabajos tuvieron como objetivo permitir un mejor control reproductivo y ayudar en el manejo en las ganaderías convencionales (facilitando la IA). Estas herramientas permitirían también aumentar la competitividad de las ganaderías ecológicas frente a las ganaderías convencionales. Se estudió también la aceptabilidad de estas nuevas herramientas propuestas y se desarrollaron programas para poder aconsejar a los ganaderos que quisieran integrarlas en sus explotaciones.

a. **Uso de las feromonas implicadas en el efecto macho como alternativa a los tratamientos hormonales para la inducción y sincronización de la ovulación y del celo**

Una feromona es una molécula (o un conjunto de moléculas) de origen animal, las cuales después de estar secretadas por el individuo (emisor), son captadas por un individuo de la misma especie (receptor) provocando en este último una reacción comportamental específica, incluso una modificación fisiológica. Sin embargo, las hormonas son producidas por glándulas endocrinas y pasan a la circulación sanguínea, permaneciendo únicamente dentro del organismo y participando en su metabolismo. Las feromonas son generalmente producidas por glándulas exocrinas, o excretadas por la orina o las heces y sirven como mensajeros químicos entre individuos. Están implicadas en muchos comportamientos: feromonas territoriales (marcaje territorial), feromonas de orientación, feromonas de alerta (señales de peligro), feromonas de reconocimiento entre individuos (por ejemplo, las feromonas maternas implicadas en la relación madre-progenie), feromonas sexuales (atracción sexual durante los periodos de acoplamiento), etc (Lurette *et al.*, 2016).

En las especies ovina y caprina la exposición de hembras en anestro a machos sexualmente activos desencadena un pico preovulatorio de LH e induce la ovulación (efecto macho). El efecto macho implica estímulos olfativos: el mero contacto con la piel del macho permitiría reproducir parcialmente el mismo efecto que el efecto macho. Por lo tanto, el uso de moléculas olfativas implicadas en el efecto macho parece ser una potencial alternativa a los tratamientos hormonales (Lurette *et al.*, 2016).



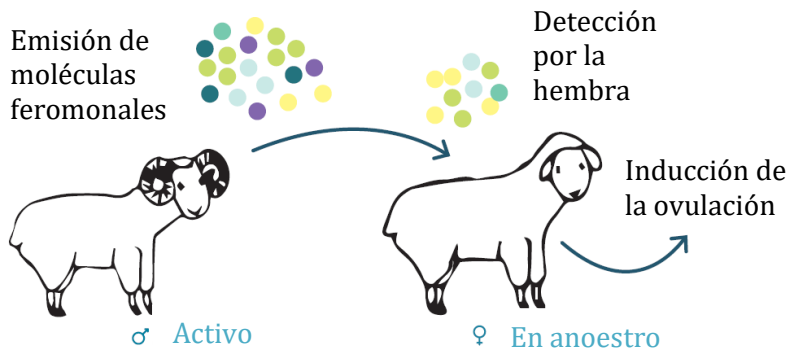
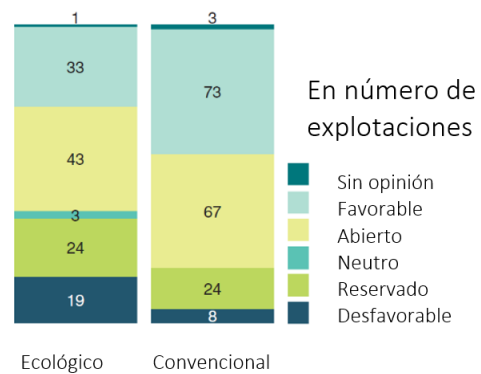


Figura 9: Las feromonas como herramienta para ayudar a la sincronización de los celos. Adaptado de Experton et al., (2015).

Una parte del proyecto «Reprobio» fue identificar las feromonas implicadas en el efecto macho. Se tomaron varias muestras (lana, saliva, orina) tanto de moruecos como de machos cabríos durante su actividad sexual máxima (periodo reproductivo) y durante su actividad sexual mínima (fuera del periodo reproductivo). Para realizar el estudio se proporcionó a los ganaderos estas feromonas de síntesis en forma de pulverizador, sabiendo que se podrían proponer otros modos de aplicación (Lurette et al., 2016).

De esta forma la identificación y el uso de estas feromonas podría permitir a los ganaderos evitar la cría de machos exclusivamente para el efecto macho. Durante estos 3 años, en las encuestas que se hicieron, el 72% de los ganaderos entrevistados estuvieron interesados en utilizar feromonas para inducir la ovulación en las hembras (81% en ganaderías convencionales y 62% en ecológicas)



(Figura 10). Esto les permitiría optimizar el manejo de la reproducción y el agrupamiento de los partos,

Figura 10: aceptabilidad de los ganaderos al uso de feromonas. Adaptado de Experton et al., (2015).

mejorar la fertilidad y reducir el uso de hormonas (únicamente autorizadas en ganadería convencional). Está también visto como un avance ético comparando con otras actividades actuales. Entre los ganaderos con respuesta favorable a la utilización de feromonas destaca un perfil especial: los ganaderos que tienen rebaños grandes de ovejas/cabras lecheras y que practican la IA. En efecto, los objetivos económicos ligados a un pico de lactación programado para un momento determinado son importantes, sobre todo para las explotaciones lecheras convencionales y es también en estas explotaciones que la IA es más utilizada. Pero las ganaderías ecológicas siguen preocupadas por saber si no se trata también de una técnica que va en contra de la naturaleza. Lograr más información acerca de su coste, de su adaptación a una ganadería extensiva, etc, podría conseguir

que los ganaderos de este sector se preocuparan menos (Experton *et al.*, 2015).

## b. Detectores de celo automatizados

Para facilitar el trabajo de los ganaderos y poder planificar la IA se han propuesto herramientas de detección de celos. Dos detectores distintos se han estudiado en el proyecto “Reprobio”:

- En la especie caprina: los collares “Heatime” llevados por las hembras
- En la especie ovina: los arneses “Alpha” llevados por los moruecos “detectores de celo”.

Los collares “Heatime” miden de manera continua la actividad de las hembras (nos da la actividad del animal cada dos horas). Cada vez que las cabras pasan cerca de la antena, la información se transmite a una unidad central donde se sintetiza

Cabras equipadas de un collar “Heatime”



Moruecos equipados de un detector Alpha



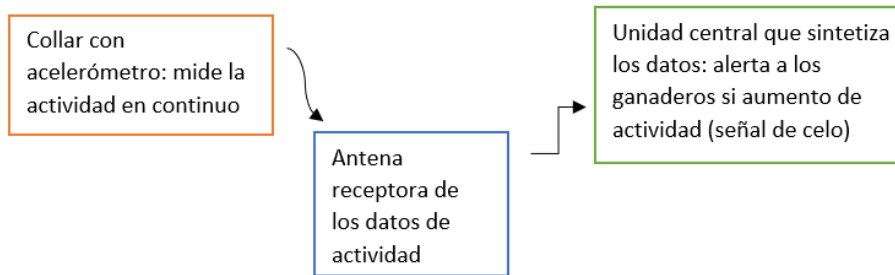
Figura 11: Lurette *et al.*, (2016). Adaptado de INRA productions animales.

y se representa en forma de curva de actividad. Si el nivel de actividad sobrepasa un umbral determinado se enciende una alarma. Los collares de última generación permiten además la consulta a distancia por el ganadero de todas las curvas de actividad y de las alertas “celo” de las hembras, junto con la información sobre la rumia (con alertas si la rumia baja) (Lurette *et al.*, 2016).

En el ovino, los celos se manifiestan porque la hembra empieza a aceptar estar montada por el macho. El detector está compuesto por un arnés para el morueco que tiene un lector RFID (“Radio Frequency Identification”), dos baterías y una antena que transmite la información. Cada oveja está equipada de un chip RFID a nivel de la grupa, cuando el macho la monta se lee el número del chip de la oveja. En el momento del salto se hace la lectura y la descarga de la hora y de la fecha junto con la identificación de la hembra y del macho. Los datos se pueden leer por el ganadero a distancia con la ayuda de un receptor. Cuando hay montas repetitivas se considera que la hembra está en celo (Lurette *et al.*, 2016).

## DETECTORES AUTOMATIZADOS DE CELO

En caprino, el collar “Heatime”:



En ovino, el detector «Alpha»:

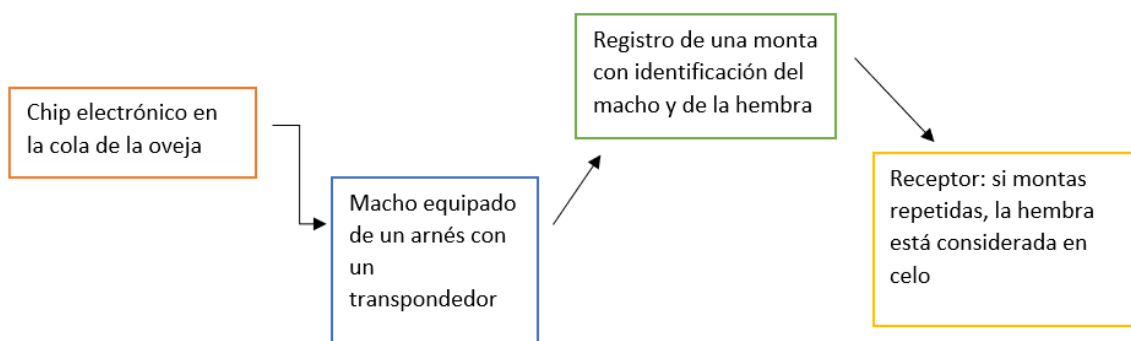


Figura 12: Adaptado de *Experton et al., (2015)*.

Los collares “Heatime” (inicialmente desarrollados para los bovinos) fueron testados primero durante el periodo de anestro estacional en cabras tratadas mediante un tratamiento lumínico. Después de la inducción, los datos de actividad fueron medidos por “Heatime” sobre 40 cabras Alpinas, se formaron dos grupos: las cabras de actividad “alta” y las de actividad “baja”. Para los dos grupos el 85% y 62% (sensibilidad) de los celos sincronizados fueron detectados con valores de predicción positivos (VPP) de 92 y 100% para los grupos de hembras de actividad “baja” y “alta”. Después de la IA, solo el 31% y 8% de los que retornaron en celo fueron detectados con VPPs de 80 y 100% para los grupos de actividad “baja” y “alta”. Por lo que el detector mostró una eficacia real a la hora de detectar los celos inducidos por tratamiento hormonal. La próxima etapa de este trabajo será adaptar las condiciones de utilización del dispositivo para detectar eficazmente los celos inducidos por el efecto macho (*Lurette et al., 2016*).

El detector “Alpha” fue desarrollado para las explotaciones de pequeños rumiantes y testado en explotaciones de ovinos en lactación de corderos y lecheros, en agricultura ecológica y convencional. Experimentos realizados sobre ovejas Lacaune (lecheras) y Merina (lactantes) permitieron realizar IA con ovejas en celo natural y fuera de temporada sexual después del efecto macho, en ganaderías ecológicas y convencionales. En los ensayos con la raza Lacaune, 118 ovejas fueron detectas en celo

por el detector “Alpha” y fueron inseminadas dentro de un periodo de 6 días consecutivos a medida que estaban entrando en celo (un momento de IA al día, cada oveja fue inseminada una única vez) con una fertilidad media del 74%. Estos experimentos permitieron darse cuenta de que la IA sin tratamiento hormonal de sincronización es alcanzable. Sin embargo, las ovejas inseminadas entre 0 y 35 horas después de la detección del celo tuvieron mejores resultados de fertilidad a la IA comparando a las que se inseminaron más tarde (Lurette *et al.*, 2016).

### c. Legislación sobre el uso de las feromonas: existe un vacío legal en ganadería ecológica

En agricultura ecológica las feromonas están autorizadas para la protección de los cultivos (CE n°889/2008) y para la limpieza y desinsectación de los edificios (CE n°834/2007). Sin embargo, en el caso de la reproducción animal no se menciona casi nada, tan sólo el artículo 23.2 del reglamento CE n°889/2009 habla del manejo de la reproducción y de los ciclos sexuales, en el cual está explicado que “la utilización de hormonas o de sustancias análogas con el fin de controlar la reproducción o para otros fines (por ejemplo, la inducción o sincronización de los celos) está prohibida” (parte del artículo 23.2 del reglamento CE n°889/2009).

Hemos visto anteriormente que las feromonas son distintas a las hormonas, parece entonces que la utilización de las feromonas en sí no sería el mayor impedimento que hay en la agricultura ecológica (la utilización de moléculas cercanas químicamente a las feromonas como pueden ser los aceites esenciales está admitida) pero la utilización con el objetivo de sincronizar los celos (uso zootécnico) podría suponer un problema (artículo 23.2 del RCE n°889/2008). Los estudios acerca del uso de las feromonas son todavía escasos, faltan todavía contestar a muchas preguntas (tipo de moléculas, cantidades, modos de administración, eficacia...) antes de poder valorar la necesidad de leyes más explícitas (Experton *et al.*, 2015).

## CONCLUSION

En conclusión, existen herramientas, métodos o peculiaridades de los pequeños rumiantes que permiten llevar a cabo un manejo de la reproducción sin hormonas, lo cual es imprescindible en las explotaciones ecológicas. Se ha explicado lo que era y cómo se podía usar el efecto macho pero también la nutrición y el fotoperiodo para la mejora del manejo reproductivo. Las nuevas tecnologías también pueden ser interesantes para lograr una reproducción sin hormonas con el uso, por ejemplo, de los detectores automatizados de celo. Queda todavía por sensibilizar más a los ganaderos del interés que pueden suponer estas prácticas y este enfoque de la reproducción, para

poder avanzar todavía más hacia una ganadería sostenible y más cercana a la naturaleza, enseñándoles el interés en cuanto a coste-efectividad y al aumento de la productividad y además pudiendo dar una mejor imagen tanto a la sociedad como al mercado actual. Para poder lograrlo, falta aún estudiar mejor el impacto de los factores externos sobre los animales, pero también estudiar mejor el papel de la genética sobre la reproducción y la producción animal.

## CONCLUSION

In conclusion, there are tools, methods and particularities to the small ruminants that enable controlling the reproduction without the use of hormones, which is essential in organic exploitations. This work explained what the male effect is, and also how nutrition and photoperiod can be used to improve the control of the reproduction. New technologies may represent an opportunity to successfully install a hormones-free control of reproduction, using for example, automated heat detectors. More farmers need to be sensitized about opportunity that this method represents and must be taught about the cost-effectivity of such methods. This may also be a potential advance towards sustainable livestock and lifestyle that is closer to nature. In order to succeed, we need further research about the impact of external factors on the animal, but also more studies on the role of genetics on reproduction and livestock production.

## VALORACION PERSONAL

Realizar este trabajo me ha permitido aprender más sobre unas técnicas que me interesaban por ser aplicables en ganaderías “menos” intensivas. Poder desarrollar sobre este tema tiene especial interés para mí, ya que, me gustaría más tarde trabajar con rumiantes. Además, me parece interesante poder mejorar el día a día de los ganaderos cuando estos intentan poder adecuarse a la demanda actual.

He podido darme cuenta de que la información acerca de este tema es muy amplia y, por lo tanto, me ha permitido aprender a sintetizar y a seleccionar lo que a mí me parecía más relevante. Además, me ha confirmado la importancia que tienen los idiomas a la hora de poder encontrar artículos científicos, y he adquirido destreza en entenderlos.

Me gustaría agradecer a mi director José Alfonso Abecia Martínez por toda la ayuda y el tiempo que me ha dedicado en la realización de este trabajo. También me gustaría agradecer a mi familia, puesto que sin ellos no hubiera podido seguir estudiando lo que me gusta durante estos cinco años de

carrera.

## BIBLIOGRAFIA

Abecia, J.A., Araya, J., Chemineau, P., Palacios, C., Keller, M., Delgadillo, J.A. (2018). "Photoperiod-melatonin-induced, sexually-activated rams increase pregnancy rate and number of lambs per ewe in a ram effect." **Large Animal Review**, 24, pp. 31-35.

Abecia, J.A., Chemineau, P., Flores, J.A., Keller, M., Duarte, G., Forcada, F., Delgadillo, J.A. (2015). « Continuous exposure to sexually active rams extends estrous activity in ewes in spring ». **Theriogenology**, 84 (3), pp. 1549-1555. DOI : 10.1016/j.theriogenology.2015.08.002.

Abecia, J.A., Chemineau, P., Gómez, A., Keller, M., Forcada, F., Delgadillo, J.A. (2016). "Presence of photoperiod-melatonin-induced, sexually-activated rams in spring advances puberty in autumn-born ewe lambs." **Animal Reproduction Science**, 170, pp. 114-120. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2016.04.011.

Abecia, J.A., Chemineau, P., Keller, M., Delgadillo, J.A. (2017). "Extended day length in late Winter/early spring, with a return to natural day length of shorter duration, increased plasma testosterone and sexual performance in rams with or without melatonin implants". **Reproduction in domestic animals**, 52(5), pp. 851-856.

Chemineau, P., Bodin, L., Migaud, M., Thiéry, J.C., Malpoux, B. (2010). « Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats ». **Reproduction in domestic animals**, 45 (3), pp. 42-49. DOI : 0.1111/j.1439-0531.2010.01661.x

Chemineau, P., Khaldi, G., Lassoued, N., Cognie, J., Thimonier, J., Poindron, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A. (2017). **Des apports originaux sur l'« effet mâle », une technique agro-écologique de maîtrise de la reproduction des brebis et des chèvres, fruits d'une longue collaboration scientifique entre la Tunisie, le Mexique et la France.**

De Santiago-Miramontes, M.A., Rivas Muñoz, R., Muñoz-Gutiérrez, M., Malpoux, B., Scaramuzzi, R.J., Delgadillo, J.A. (2008). "Ovulation rate in female anoestrous goats exposed to the male effect is increased by nutritional supplementation under grazing conditions. » **Animal Reproduction Science**, 105, pp.409-416.

Experton, C., Dartois, S., Frappat, B., Gatien, J., Le Danvic, C., Lurette, A., Viudes, G., Pellicer-Rubio, M., Freret, S., Fatet, A., Martineau, C., Ribaud, D., Chanvallon, A. (2015). « Maîtriser la reproduction des petits ruminants ». *Alteragri*, pp. 22-26.

Forcada, F., Abecia, J.A. (2006). "The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. » *Reproduction Nutrition Development*, 46, pp. 355-365.

Forcada, F., Abecia, J.A., Sierra, I. (1992). "Seasonal changes in oestrous activity and ovulation rate in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different body condition levels. » *Small Ruminant Research*, 8, pp.313-324.

Geldermann, H., R. Mir, M., W. Kuss, A., Bartenschlager, H. (2006). « OLA-DRB1 microsatellite variants are associated with ovine growth and reproduction traits ». *Genet. Sel. Evol.*, 38, pp. 431-444. DOI : 10.1051/gse:2006013

Hulet, C.V., Shupe, W.L., Ross, T., Richards, W. (1986). « Effects of nutritional environment and ram effect on breeding season in range sheep. » *Theriogenology*, 25, pp.317-323.

Lurette, A., Freret, S., Chanvallon, A., Experton, C., Frappat, B., Gatien, J., Dartois, S., Martineau, C., Le Danvic, C., Ribaud, D., Fatet, A., Pellicer- Rubio, M. (2016). « La gestion de la reproduction en élevages ovins et caprins, conventionnels et biologiques : état des lieux, intérêt et acceptabilité de nouveaux outils dans six bassins de production en France ». *INRA Productions Animales*, 29 (3), pp. 163-184.

Martin, G.B., Ferasyi, T.R. (2016). « Clean, Green, Ethical (CGE) management : what research do we really need ? ». *The International Journal of Tropical Veterinary and Biomedical Research*, 1 (1), pp. 1-8.

Martin, G.B., Milton, J.T.B, Davidson, R.H., Banchemo Hunzicker, G.E., Lindsay, D.R., Blache, D. (2004). *Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants*.

Mateescu, R.G., Thonneyn, M.L. (2010). « Genetic mapping of quantitative trait loci for aseasonal reproduction in sheep ». *International Foundation for Animal Genetics*, 41, pp. 454-459. DOI : 10.1111/j.1365-2052.2010.02023.x



Palacios, C., Abecia, J.A. (2017). « Towards a Sustainable Reproductive Sheep Management : Use of Photoperiod – Treated Rams to Increase Lamb Production in an Organic Farm ». ***Journal of Dairy and Veterinary Sciences***. 1 (2), pp. 1-3.

Pellicer-Rubio, M.T., Boissard, K., Grizelj, J., Vince, S., Freret, S., Fatet, A., Lopez-Sebastian, A. (2019). « Vers une maîtrise de la reproduction sans hormones chez les petits ruminants ». ***INRA Productions Animales***, 32 (1), pp. 51-66. DOI : 10.20870/productions-animales.2019.32.1.2436

Pope., W.F., McClure, K.E., Hogue, D.E, Day, M.L. (1989). « Effect of season and lactation on postpartum fertility of Polypay, Dorset, St. Croix and Targhee ewes ». ***Journal of Animal Science***, 67, pp.1167-1174.

Scaramuzzi, R. J., Martin, G.B. (2008). ***The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility***. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01152.x.

Zhang, S., Blache, D., A. Blackberry, M., B. Martin, G. (2005). « Body reserves affect the reproductive endocrine responses to an acute change in nutrition in mature male sheep ». ***Animal Reproduction Science***, 88 (3-4), pp. 257-269.