

APLICACIÓN DE SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (rbST) EN PROTOCOLOS DE IATF Y SU EFECTO EN EL ÍNDICE DE DETECCIÓN DE CELO Y TASA DE GESTACIÓN EN BOVINO LECHERO EN AMBIENTE TROPICAL HÚMEDO

Application of recombinant bovine somatotropin (rbST) in FTAI protocols and its effect on estrus detection and pregnancy rates in dairy cattle in a humid tropical environment

Miguel A. Gutiérrez-Reinoso¹, Luís M. Vargas-Ortiz^{1,2}, Manuel García-Herreros³

¹ Medicina Veterinaria,
Universidad Técnica de
Cotopaxi (UTC),
Latacunga, Ecuador.

² Centro de Investigación,
Posgrado y Conservación
Amazónica (CIPCA),
Universidad Estatal
Amazónica (UEA), Napo,
Ecuador

³ SENESCYT, Proyecto
Prometeo, Quito, Ecuador.

Autor correspondiente:
Manuel García-Herreros
DVM, PhD; Secretaría
Nacional de Educación
Superior, Ciencia,
Tecnología e Innovación
(SENESCYT), Av. 9 de
Octubre N22-64 y Ramírez
Dávalos, Quito, Ecuador.
Tel.: (593) 2 2222-777 ext.
2704.
E-mail:
herrerosgm@gmail.com

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de somatotropina bovina recombinante (rbST) en diferentes protocolos de IATF con el fin de determinar su influencia en el índice de detección de celo y tasa de gestación en bovino lechero (*Bos taurus*) mantenido en ambiente tropical húmedo, con el fin de aplicar un protocolo de IATF diferenciado que optimice la fertilidad en dicho ambiente. Se utilizaron tres grupos de animales de la raza Brown Swiss a los que se les aplicaron diferentes protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) mediante la aplicación de rbST en diferentes tiempos: T1 (Control, sin aplicación de rbST), T2 (aplicación de rbST el 7° día del protocolo coincidiendo con la retirada del implante de P4) y T3 (aplicación de rbST el 9° día del protocolo, 48h después de la retirada del implante de P4). La detección de celos en el tratamiento T2 (100%) fue significativamente mayor en comparación con T1 y T3 (62,5% y 75% respectivamente), siendo un 37.5% mayor comparado con T1 y un 25% mayor comparado con T3 ($p < 0,05$). En cuanto a la tasa de gestación existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T2 (62,5%) siendo un 12,5% más elevado que T1/T3 (50%) ($p < 0,05$). En conclusión, la inclusión de la hormona somatotropina bovina recombinante (rbST) en diferentes protocolos de IATF influyó positivamente en el índice de detección del celo y en la tasa gestación los cuales fueron significativamente mayores cuando fue administrada en el 7° día del protocolo coincidiendo con la retirada del implante de P4, siendo posible desarrollar protocolos eficientes de sincronización de celo e IATF optimizando la fertilidad del bovino lechero (*Bos taurus*) en ambientes tropicales húmedos.

Palabras clave: rbST; IATF; Fertilidad; Ambiente tropical; Bovino

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of the application of recombinant bovine somatotropin (rbST) in different FTAI protocols to determine its influence on estrus detection and pregnancy rates in dairy cattle (*Bos taurus*) maintained under humid tropical conditions in order to apply a differentiated FTAI protocol that optimises fertility in this environment. Different fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols were applied by including rbST in three groups of Brown Swiss breed cows: T1 (Control, no rbST), T2 (rbST application on Day-7, at P4 implant removal) and T3 (rbST application on Day-9, 48 h after P4 implant removal). Estrus detection rates were significantly higher when compared T2 (100 %) with T1/T3 (62.5 % and 75 %, respectively), being a 37.5% higher when compared to T1 and a 25% higher when compared to T3 ($p < 0.05$). With regard to pregnancy rate, statistically significant differences were observed among T2 (62.5 %) and T1/T3 (50 %) treatments, being a 12.5% higher in T2 ($p < 0.05$). In conclusion, the application of rbST in different FTAI protocols had a positive influence on estrus detection and pregnancy rates which were significantly higher when applying rbST on Day-7 (at P4 implant removal), being possible to develop efficient estrus synchronization and FTAI protocols and optimize fertility in dairy cattle (*Bos taurus*) in humid tropical environments.

Keywords: rbST; TAI; Fertility; Condition tropical; Bovine

INTRODUCCION

Los problemas reproductivos más frecuentes en ganado bovino mantenidos en ambientes tropicales están basados fundamentalmente en anestro e inactividad ovárica (Gutiérrez-Reinoso *et al.*, 2015a). Este hecho cobra gran relevancia debido a que gran parte de la población residente en este tipo de ambientes dependen directa o indirectamente de los beneficios derivados de la actividad ganadera. Por ello es fundamental aumentar la productividad incrementando los índices de fertilidad en estas condiciones ambientales, especialmente en ganado bovino poco adaptado (*Bos taurus*) a menudo sometido a un manejo zootécnico deficiente, con dietas que proporcionan bajas cantidades de energía e incluso deficientes niveles sanitarios (Frisch *et al.*, 1996; Gutiérrez-Reinoso *et al.* 2015b). Estos factores influyen directamente incrementando el problema de la detección del celo, aumentando el tiempo de anestro pos-parto y la falta de ciclicidad del ganado. Por ello, la implementación de protocolos de sincronización del celo conjuntamente

con la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), pueden ser una alternativa factible para mejorar los parámetros reproductivos en estas condiciones ambientales de alta humedad y temperatura (Bo *et al.*, 2007). Sin embargo, muchos protocolos de sincronización del celo combinado con IATF han resultado no ser suficientemente eficientes en estos ambientes, lo cual incrementa la necesidad de desarrollar nuevos protocolos que mejoren la eficiencia reproductiva (Bisinotto *et al.*, 2014).

La hormona del crecimiento (GH) o somatotropina es una hormona polipeptídica compleja similar a la prolactina, que está constituida por una cadena de 191 aminoácidos unidos por puentes disulfuro. Esta hormona es secretada por la hipófisis de forma pulsátil y posee una gran especificidad de especie. La GH actúa a nivel del metabolismo de los carbohidratos y los lípidos. Además interfiere con la función de la insulina, estimulando la producción de glucosa a nivel del hígado disminuyendo el número de receptores de membrana insulínicos produciendo así hiperglucemia mediante un efecto anti-insulínico. Otra de las funciones de la hormona GH es su actuación a nivel del anabolismo proteico, elevando los niveles de nitrógeno y fósforo plasmático debido al aumento de la concentración de aminoácidos a nivel sanguíneo (Haldar *et al.*, 2007). Además, se ha descrito que la GH estimula la eritropoyesis (Petri *et al.*, 2007). Todas estas funciones junto con una adecuada alimentación, condicionan la utilización de la GH con fines de mejora de la fisiología reproductiva del ganado. De hecho, se ha observado que en ambientes templados y fríos, la aplicación de somatotropina exógena a baja dosis, mejoró las tasas de fertilidad en vacas lecheras (Ribeiro *et al.*, 2014). Así, la aplicación de la GH en protocolos de sincronización de celo, seguido de IATF podría ser también una buena alternativa para paliar los problemas reproductivos presentes en ambientes extremos de humedad y temperatura.

Debido a lo expuesto anteriormente, el objetivo principal del presente estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de la hormona somatotropina bovina recombinante (rbST) en diferentes protocolos de IATF con el fin de determinar su impacto en el índice de detección de celo y la tasa de gestación en ganado bovino (*Bos taurus*) mantenido en condiciones ambientales tropicales húmedas.

MATERIALES Y METODOS

Código de ética

Los autores declaran que el estudio presentado se ha llevado a cabo de acuerdo con el Código de Ética para

los experimentos con animales, tal y como se refleja en la normativa:

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm.

Ubicación de los animales y condiciones climáticas

En el presente trabajo de investigación se utilizaron 24 vacas de raza Brown Swiss (*Bos taurus*) de 2° y 3° parto y de condición corporal 2,5-3. Estos animales estaban ubicados en el cantón Tena, provincia del Napo, Ecuador (latitud: S 1° 10' / S 1° 0'; longitud: W 77° 45' / W 77° 30'; altitud: 510 msnm). El clima de esta región es de tipo tropical húmedo con temperaturas que alcanzan los 32°C y humedad ambiental entre el 90 y el 98%. Previamente a la ejecución del protocolo experimental, todos los animales fueron sometidos a un riguroso control zootécnico de manejo y control sanitario, así como chequeo ginecológico (visual, semiológico, palpación rectal y ultrasonográfico) verificando la ausencia de cualquier problema patológico o de otra naturaleza.

Grupos experimentales

El grupo total de animales (24 individuos) se dividió en 3 subgrupos (8 animales por grupo). El primer grupo (T1) fue utilizado como grupo control, y a los otros dos grupos (T2 y T3) se les aplicó un protocolo previo de

sincronización para a continuación realizar inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) mediante la inclusión de la hormona rbST en diferentes puntos cronológicos del protocolo.

Sincronización de celo e IATF

En todos los protocolos de IATF llevados a cabo, se aplicó un implante subcutáneo auricular de progesterona (P4) (Crestar®, Norgestomet, Intervet International B.V. Boxmeer, Holanda) simultáneo a una dosis de Valerato de Estradiol (Intervet International B.V. Boxmeer, Holanda) y otra de P4 (Gestavec 25, Laboratorio Vecol, Colombia). Transcurrida una semana (día 7 del protocolo) se retiró el implante a todos los grupos (T1, T2 y T3). En el caso de T1, en el momento de la retirada del implante, se aplicó una dosis de PGF2a (Prostal; Lab. Over SRL, Argentina). En el caso de T2, en el momento de retirada del implante se aplicó una dosis de PGF2a conjuntamente con una dosis de rbST (Lactotropina; Elanco, México). Finalmente, en el caso de T3, en el momento de retirada del implante se aplicó una dosis de PGF2a pero la dosis de somatotropina bovina recombinante (rbST) fue aplicada 48h después de la retirada del implante. Todos los grupos de animales (T1, T2 y T3) fueron inseminados el día 9. En la Tabla 1 se muestran con más detalle los diferentes protocolos llevados a cabo

Tabla 1. Protocolos de sincronización de celo, inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y toma de muestras sanguíneas en los diferentes grupos experimentales

| Día | Hormona | Dosis | Principio Activo Total |
|------------------------|---------------------|--------|------------------------|
| PROTOCOLO GRUPO 1 (T1) | | | |
| 1 | Crestar (P4) y (VE) | 2,0 ml | 3 mg y 5 mg |
| 1 | Gestavec (P4) | 1,6 ml | 40 mg |
| 7* | Prostal (PGF2a) | 2,0 ml | 150 µg |
| PROTOCOLO GRUPO 2 (T2) | | | |
| 1 | Crestar (P4) y (VE) | 2,0 ml | 3 y 5 mg |
| 1 | Gestavec (P4) | 1,6 ml | 40 mg |
| 7* | Prostal (PGF2a) | 2,0 ml | 150 µg |
| 7 | Lactotropina (rbST) | 1,4 ml | 500mg |
| PROTOCOLO GRUPO 3 (T3) | | | |
| 1 | Crestar (P4) y (VE) | 2,0 ml | 3 y 5 mg |
| 1 | Gestavec (P4) | 1,6 ml | 40 mg |
| 7* | Prostal (PGF2a) | 2,0 ml | 150 µg |
| 9 | Lactotropina (rbST) | 1,4 ml | 500 mg |

IATF realizada entre 52 a 56 h pos-retirada del implante

* Retirada del implante

Evaluación de la fertilidad y diagnóstico de gestación

Como parámetros de control de la fertilidad se tomaron el índice de detección del celo [(N° vacas positivas al celo/N° total vacas) X100] y la tasa de gestación [(N°

vacas gestantes/N° vacas inseminadas) X100]. El diagnóstico de gestación se realizó a los 35 días post-IATF mediante ultrasonografía transrectal (Ecógrafo IMAGO®, Francia) con sonda lineal de 7,5 mhz para

posteriormente poder determinar las tasas de gestación en cada uno de los grupos estudiados. Finalmente, para la confirmación definitiva de la gestación el día 75 post-IATF, se realizó un segundo diagnóstico ultrasonográfico a todos los animales.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se llevó a cabo mediante la utilización del software estadístico SPSS v. 15 para Windows. Tras una previa exploración de los datos se procedió a la aplicación del test ANOVA para la comparación de las medias (concentraciones hormonales). Posteriormente, una vez que se determinó la existencia de diferencias entre las medias, se llevó a cabo un análisis de comparación múltiple Pos-hoc Scheffé. Para el análisis de las variables porcentuales se aplicó la prueba de χ^2 . Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS

A continuación en la Tabla 2 se muestran detalladamente los diferentes resultados obtenidos en el presente estudio:

Tabla 2. Resultados obtenidos del índice de detección de celo y tasa de gestación en los diferentes grupos experimentales

| Grupo | n | Detección de celo (%) | Tasa de gestación (%) |
|-------|---|-----------------------|-----------------------|
| T1 | 8 | 62,50 ^a | 50,00 ^a |
| T2 | 8 | 100,00 ^b | 62,50 ^b |
| T3 | 8 | 75,00 ^c | 50,00 ^a |

Las diferencias entre valores dentro de cada columna (a-c) se consideraron significativas cuando $P < 0,05$.

Como podemos observar en la Tabla 2., el índice de detección de celos fue significativamente mayor en T2 (8/8 animales) comparado con T1 y T3 (5/8 y 6/8 animales respectivamente) siendo un 37.5% mayor comparado con el T1 y un 25% mayor comparado con el T3 ($p < 0,05$). Respecto al índice de gestación, podemos observar que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T2 y T1/T3 (5/8 vs. 4/8 vacas gestantes en T1 y T3), siendo el primero un 12,5% más elevado ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Los problemas de fertilidad en estos ambientes son la causa de importantes pérdidas debido a que afecta directamente en la productividad de los animales

(Gutiérrez-Reinoso *et al.* 2015b). Las ventajas más evidentes de los protocolos de IATF se basan en un manejo más eficiente de los animales, sincronización de estos para elevar la eficiencia de detección del celo y por tanto del momento de la inseminación, disminuye las pérdidas sanitario-productivas y favorece la concentración de partos en un tiempo determinado, lo cual repercute positivamente en el manejo nutricional y la asistencia a los animales (Gutiérrez-Reinoso *et al.* 2015a).

Según la literatura el índice de gestación deseable a la 1ª inseminación se encuentra entre el 60-70% en *Bos taurus* en climas templados-fríos (Dunne *et al.*, 2000). En el presente estudio, los resultados indicaron que en T2 la aplicación de somatotropina bovina recombinante (rbST) (día 7 del protocolo) produjo un efecto positivo sobre la tasa de gestación y el índice de detección de celos. La aplicación de la hormona somatotropina bovina recombinante (rbST) al 9º día, no produjo diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control, así como en el índice de gestación al 1er servicio. Es importante señalar que el momento de la aplicación de la hormona somatotropina bovina recombinante (rbST) debe ser cuidadosamente elegido, y debe encontrarse dentro de un protocolo de IATF cuidadosamente diseñado. Estudios previos diseñados en ganado bovino (*Bos taurus*) mantenidos en ambiente semicálido (Bulbarela, 2001), demostraron que la aplicación de somatotropina (rbST) en el momento de la inseminación no resultó eficiente per se respecto al incremento del índice de gestación (36,2%) en comparación con animales no tratados (34,8%), lo cual indica la importancia de realizar un protocolo de inseminación más adaptado a este tipo de ambientes. Sin embargo, en otros ambientes, el efecto de la rbST fue positivo (Santos *et al.*, 2004). En el presente estudio, el índice de detección del celo se incrementó significativamente respecto a T1. Según algunos estudios, el índice de gestación al 1er servicio, se presenta en un 45-60% en zonas ganaderas tropicales, lo cual indica que el T2 superó ligeramente el porcentaje máximo obtenido hasta la fecha, reflejando que es un protocolo aceptable dentro de lo que se conoce para climas tropicales. En el caso de T3 estaríamos en los niveles más bajos reportados en otros estudios, lo cual determina que se trataría de un protocolo que no sería de elección en dichos ambientes de alta humedad y temperatura. La detección del celo es una de las características más afectadas en climas tropicales debido a numerosos factores tales como el estrés calórico, disminución de la ingestión, el gasto energético y la consecuente bajada de la condición corporal que conjuntamente afectan al desempeño reproductivo. En el presente estudio, el mejor índice de detección de celo se obtuvo a partir del tratamiento T2,

que fue significativamente superior a los otros, lo cual indica que sería el tratamiento de IATF de elección para incrementar la manifestación de éste.

CONCLUSIONES

En conclusión, la inclusión de la hormona somatotropina bovina recombinante (rbST) en diferentes protocolos de IATF influyó positivamente en el índice de detección del celo y en la tasa gestación los cuales fueron significativamente mayores cuando fue administrada en el 7° día del protocolo de IATF coincidiendo con la retirada del implante de P4, siendo posible desarrollar protocolos eficientes de sincronización de celo e IATF optimizando la fertilidad del bovino lechero (*Bos taurus*) en ambientes tropicales húmedos.

Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a la Secretaría Nacional de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) del Gobierno de Ecuador por hacer posible el presente trabajo de investigación a través de su programa Proyecto Prometeo. También nos gustaría agradecer el esfuerzo de todos los técnicos, haciendas y centros experimentales que hicieron posible la ejecución de la presente investigación.

Contribuciones de los autores

Todos los autores listados en el presente trabajo han contribuido en la preparación y ejecución de la presente investigación. MG-R y LV-O han contribuido en el desarrollo de la metodología. MG-R y MG-H han contribuido en la concepción y diseño del estudio, la edición del artículo y la supervisión del estudio.

Conflicto de intereses

Los autores firmantes del presente trabajo de investigación declaran no tener ningún potencial conflicto de interés personal o económico con otras personas u organizaciones que puedan influir indebidamente con el presente manuscrito.

REFERENCIAS

- Bisinotto RS, Ribeiro ES, Santos JE. Synchronisation of ovulation for management of reproduction in dairy cows. *Animal*. 2014; Suppl 1:151-9.
- Bó GA, Cutaia L, Peres LC, Pincinato D, Maraña D, Baruselli PS. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Soc Reprod Fertil Suppl*. 2007; 64:223-36.
- Bulbarela GG. Comportamiento reproductivo de un hato holstein en clima semicálido. Tesis de licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y

- Zootecnia. Universidad Veracruzana. Veracruz, México. 2001.
- Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Anim Reprod Sci*. 2000; 58(1-2): 39-44.
- Frisch JE, O'Neill CJ. Calving rates in a tropical beef herd after treatment with a synthetic progestagen, norgestomet, or a prostaglandin analogue, cloprostenol. *Aust Vet J*. 1996; 73(3):98-102.
- Gutierrez-Reinoso MA, Bautista-Solis AR, Quinteros-Pozo R, Garcia-Herreros M. Protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y su efecto en la liberación de LH y tasa de gestación en vaquillas mantenidas en ambiente tropical húmedo. *SPERMOVA*. 2015a; 5(1): 29-32. doi: 10.18548/aspe/0002.6
- Gutierrez-Reinoso MA, Masaquiza-Aragon JJ, Quinteros-Pozo R, Garcia-Herreros M. Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vaquillas repetidoras mantenidas en ambiente tropical húmedo *SPERMOVA*. 2015b; 5(1): 97-101. doi: 10.18548/aspe/0002.22
- Haldar A, Prakash BS. Effect of exogenous growth-hormone-releasing factor on blood metabolites and minerals in late maturing buffalo heifers (*Bubalus bubalis*). *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2007; 91(7-8):326-32.
- Petri A, Ferraris M, Binotti M, Tardivo I, Bona G, Miniero R. Growth hormone and erythropoiesis. review of the literature. *Minerva Pediatr*. 2007; 59(6):787-800.
- Ribeiro ES, Bruno RG, Farias AM, Hernández-Rivera JA, Gomes GC, Surjus R, Becker LF, Birt A, Ott TL, Branen JR, Sasser RG, Keisler DH, Thatcher WW, Bilby TR, Santos JE. Low doses of bovine somatotropin enhance conceptus development and fertility in lactating dairy cows. *Biol Reprod*. 2014 ;90(1):10.
- Santos JE, Juchem SO, Cerri RL, Galvão KN, Chebel RC, Thatcher WW, Dei CS, Bilby CR. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*. 2004; 87(4):868-81.