

Artículo original:

EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN PARA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES IN VIVO EN VAQUILLAS HOLSTEIN

Evaluation of two superovulation protocols for in vivo embryo production in Holstein Heifers

Rivadeneira V.(1*); E. Alvarado(2)

INTRODUCCIÓN

(1) Mg.Sc. en la Especialidad de Producción Animal-
Universidad Nacional Agraria La Molina.

(2) Profesor Principal de la Facultad de Zootecnia-
Universidad Nacional Agraria La Molina.

*Email: virginia.rivadeneira@gmail.com

Palabras Clave:

Superovulación, Holstein, cuerpo lúteo, progesterona

La superovulación seguida de inseminación artificial puede ser usada para obtener embriones de donantes valiosas. Estas técnicas, asociadas con la transferencia de embriones a receptoras, son una poderosa herramienta para diseminar alta calidad genética (Baruselli *et al.*, 2011).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo comparar dos protocolos superovulatorios para la producción de embriones in vivo. Se evaluó la respuesta superestimuladora a nivel ovárico en la formación de folículos y cuerpos lúteos y la producción de embriones viables y no viables. Se recurrió al uso de dos fuentes de progesterona y estrógeno en el tratamiento de sincronización de emergencia de onda folicular; hormona folículo estimulante para lograr superestimulación ovárica; prostaglandina, para inducir luteólisis y hormona luteinizante para sincronizar la ovulación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el establo Monte Grande ubicado en el distrito de Puente Piedra, provincia y departamento de Lima. La investigación se realizó entre los meses de mayo del año 2004 a diciembre del año 2005. Para la ejecución del trabajo se utilizaron 8 vaquillas de la raza Holstein Friesian entre 15 y 18 meses de edad, con un peso de 340-380 kg y una condición corporal de 3-3,5, distribuidas en 2 tratamientos de 4 repeticiones cada uno. Fueron seleccionados los animales sin patologías al momento de la evaluación y con ovarios funcionales, diagnosticados vía palpación rectal.

Se consideraron dos tratamientos en momentos independientes del ciclo estral, con cuatro repeticiones cada uno.

Tratamiento 1 (T1): se utilizó un implante intravaginal de progesterona (CIDR, Pfizer®) e inyección de 2 mg de benzoato de estradiol el día de la inserción del implante (día "0").

Tratamiento 2 (T2): se utilizó un implante auricular conteniendo 3mg de norgestomet (Crestar, Intervet®) e inyección de 5mg de valerato de estradiol (EV) y 3mg de norgestomet (día "0"), con el objetivo de controlar la emergencia de onda folicular.

El tratamiento superestimulador en ambos protocolos consistió en dosis decrecientes de hormona folículo estimulante (Folltropin-V, Bioniche®), altamente purificada equivalente a 360 mg NIH del día 5 al 8, dos veces al día (60, 60; 50, 50; 40, 40; 30, 30). El día 7 en la mañana se inyectó una dosis de Prostaglandina F2alfa (Lutalyse, Pfizer®) vía intramuscular, para asegurar la remoción del cuerpo lúteo. El día 8 en la mañana se realizó la remoción de los implantes de progesterona.

Vacas Holstein criadas bajo un sistema intensivo



El día 9 en la mañana se inyectó 5ml de hormona luteinizante (Lutropin-V, Bioniche®) equivalente a 25 mg Armour Standard de hormona luteinizante para la sincronización de la ovulación y se procedió a la inseminación artificial con semen congelado importado de toros de la raza Holstein Friesian a las 12 y 24 hs posteriores (día, 9 y 10).

En todos los casos la colecta embrionaria se realizó a los 7 días de la primera inseminación artificial y se le aplicó a cada vaquilla donante una dosis de 5ml de prostaglandina F2alfa (Lutalyse) intramuscular luego de finalizada la colecta embrionaria.

Se evaluaron cuatro variables: la respuesta superestimuladora a través de la producción de cuerpos lúteos y folículos, determinada vía palpación rectal de los ovarios de cada animal el día de la colecta; de la misma manera, se evaluó la producción de embriones viables y total de embriones (viables,-no viables) determinada al momento de la colecta, por cada tratamiento.



Se utilizó el Diseño Completamente al Azar, cuyo modelo aditivo lineal es:

$$y_{ij} = u + t_i + e_{ij} \quad ; \text{ Donde:}$$

y_{ij} = variable de respuesta correspondiente al número de folículos, cuerpos lúteos, embriones viables y embriones totales

u = media general

t_i = efecto del i ésimo tratamiento

e_{ij} = efecto del error de muestreo

RESULTADOS Y DISCUSION

Respuesta superestimuladora:

La respuesta superestimuladora fue determinada por la cantidad de folículos y cuerpos lúteos a nivel ovárico que se obtuvo a la palpación rectal el día de la colecta. En dos animales del T1 la respuesta superovulatoria fue muy alta y al haberse determinado el número de cuerpos lúteos vía palpación rectal, incrementó el error de conteo de estructuras ováricas; en razón que el número de embriones fue mayor al número de cuerpos lúteos palpados; asimismo, no se pudo medir con exactitud el tamaño de los mismos.

Tabla 1: Promedio de embriones totales, embriones viables, folículos y cuerpos lúteos para los protocolos evaluados.

	N	Embriones Totales	Embriones Viables	Folículos	Cuerpos Lúteos
T1	4	7,25 a	6,25 a	0,75 a	6,75 a
T2	4	2,75 a	0,75 a	4,00 a	3,75 a

Promedios en la misma columna no son significativamente diferentes.

Análisis estadístico SAS: GLM, Duncan's Multiple Range Test

La presencia de un mayor número de folículos no ovulados en el T2, puede deberse a que el implante auricular de norgestomet más la inyección intramuscular de 5mg de EV y 3mg de norgestomet, produce una emergencia de onda folicular retardada y menos sincrónica en vaquillas ($5,7 \pm 1,5$ d), que con una inyección de 5 mg estradiol-17 β y 100 mg de progesterona ($3,6 \pm 0,5$ d), de acuerdo a lo informado por Colazo *et al.* (2005), mientras que la administración de 2mg de benzoato de estradiol en combinación con 50mg de progesterona intramuscular, resultó en la emergencia de una onda folicular de $4,1 \pm 0,1$ días con un implante intravaginal de progesterona para ganado de carne, según Moreno *et al.* (2001). De acuerdo a esto, posiblemente en el tratamiento superestimulador (T2) se haya iniciado en días anteriores a la emergencia de onda, pero el hecho de que la FSH exógena utilizada tiene una vida media corta, resultó en una respuesta similar en cuanto a la cantidad de folículos en crecimiento con respecto al T1, posiblemente no todos los folículos del T2 lograron desarrollarse, debido a que se suspendió el aporte de FSH exógena antes de que se hubiera completado el desarrollo de estos y el aporte de FSH endógena no habría sido suficiente para completar el desarrollo de los folículos en crecimiento. Además, Colazo *et al.* (2005), observaron que con una dosis de 5mg de estradiol (EV) el tamaño del folículo dominante tiende a ser menor previo a la ovulación, que con dosis de 1 ó 2 mg de EV. Esta variación en días en la emergencia de onda folicular y tamaño del folículo ovulatorio, podrían ser las causas que no todos los folículos hayan alcanzado la madurez para responder a la inyección de LH, por eso la mayor cantidad de folículos no ovulados en el T2, a diferencia del T1 en el que la mayor parte de los folículos ovularon. Bo *et al.* (2006) demostraron que un retraso en el tiempo medio de ovulación originó una tendencia a un mayor número de folículos ovulados.

Respuesta superovulatoria:

Se debe tener presente que aunque todas las donantes respondieron al tratamiento superestimulador, para el caso del T2 no todas las donantes ovularon (solo 2 de las 4 donantes presentaron respuesta superovulatoria, es decir más de dos cuerpos lúteos presentes al momento de la colecta), por lo tanto, se observa un menor número de embriones producidos comparados con el T1. En este estudio se obtuvo un menor número de embriones totales en promedio, que lo reportado por Bo *et al.* (2006) usando benzoato de estradiol y Crestar®. En el caso del T2, se encontró un promedio de 2 embriones no viables (degenerados), que es un número similar al encontrado por Colazo *et al.* (2005) en vacas no lactantes, posiblemente por el efecto del norgestomet y EV en la sincronización, que al ser más variable, haya afectado la calidad de los folículos. En el caso de T1, el promedio de embriones viables fue superior (6,25) si lo comparamos con Bo *et al.* (1995 y 1999), para ganado de leche ($5,1 \pm 0,3$) en tratamiento tradicional, y similar a ($6,0 \pm 0,4$) al protocolo que utilizó estradiol y progestágeno para sincronización de onda folicular.

CONCLUSIONES

A la evaluación estadística, no existen diferencias significativas entre ambos protocolos de superovulación ($p > 0,05$) para las cuatro variables evaluadas (embriones totales, embriones viables, folículos y cuerpos lúteos). La ausencia de diferencias estadísticamente significativas, a pesar de la evidente diferencia numérica entre ambos tratamientos puede deberse a la gran variabilidad individual que se presenta con los diferentes protocolos superovulatorios y al reducido tamaño de animales.

BIBLIOGRAFÍA

- Baruselli, P.; R.Ferreira; J. Sales; L. Gimenes; M. Sá Filho; C. Martins; C. Rodrigues; G. Bó. 2011. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology*, 76: 1583–1593
- Bó, G.A.; G. Adams; M. Caccia; M. Martinez; R. Pierson; R. Mapletoft 1995. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science*, 39: 193-204.
- Bó, G.A.; R.J. Mapletoft. 1999. Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación en donantes de embriones. *Taurus*, 1: 14-27.
- Bó, G.; P. Baruselli; P. Chesta; C. Martins. 2006. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology*, 65: 89-101
- Colazo, M.; M. Martinez; J. Small; J. Kastelic; C. Burnley; D. Ward; R. Mapletoft. 2005. Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. *Theriogenology*, 63: 1454-1468
- Moreno, D.; L. Cutaia; M. Villata; F. Ortisi; G. Bó. 2001. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone, *Theriogenology*, 55: 408 (abstract).

