

PROTOCOLOS DE INSEMINACION ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF) Y SU EFECTO EN LA LIBERACION DE LH Y TASA DE GESTACIÓN EN VAQUILLAS MANTENIDAS EN AMBIENTE TROPICAL HUMEDO

Timed-fixed artificial insemination (TAI) protocols and its effect on LH release and pregnancy rate on heifers maintained in a humid tropical environment

M.A. Gutierrez-Reinoso¹, A.R. Bautista-Solis^{1,2}, R. Quinteros-Pozo², M. Garcia-Herreros^{1,3}

<http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.6>

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.

E-mail: herrerosgm@gmail.com

RESUMEN

El objetivo principal del presente estudio fue analizar dos protocolos de IATF y su efecto en la liberación de LH sérica y la tasa de gestación en vaquillas (*Bos taurus*) mantenidas en zona tropical húmeda con el fin de establecer el protocolo óptimo que maximice la fertilidad bajo este ambiente. 40 vaquillas fueron distribuidas en dos grupos (T1 y T2; 20 individuos/grupo) a las que se les aplicó protocolos diferentes de IATF. En ambos protocolos de IATF se tomaron muestras de sangre (día, 9) para determinar los niveles de LH en suero sanguíneo. La tasa de gestación se determinó mediante ultrasonografía a los 42 días post-inseminación. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de LH entre ambos protocolos, siendo los niveles de LH evaluados tres veces superiores en T1 ($P < 0.01$). Además, se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a la tasa de gestación entre ambos protocolos T1 y T2, siendo el resultado de T1 más efectivo ($P < 0.01$). Los niveles séricos de LH tras la aplicación de los protocolos de IATF son un importante indicador de fertilidad. La aplicación de protocolos eficientes de IATF que sean capaces de elevar las concentraciones de LH a niveles adecuados es crucial para incrementar la fertilidad y obtener tasas de gestación elevadas en vaquillas (*Bos taurus*) mantenidas en ambientes tropicales húmedos.

Palabras clave: IATF, LH, Tasa de gestación, bovino.

ABSTRACT

The main objective of the present study was to analyse two IATF protocols and its effect on serum LH release and the pregnancy rate in heifers maintained under humid tropical conditions in order to establish the optimal protocol to maximize fertility under this environment. 40

heifers were divided into two groups (20 subjects per group; T1 and T2). In both TAI protocols blood samples were obtained on day 9 to determine the LH levels. The pregnancy rate was determined by ultrasonography on day 43 post-insemination. Statistically significant differences in LH serum levels between T1 and T2 protocols were observed, being LH levels three times

higher in T1 ($P < 0.01$). In addition, statistically significant differences were observed in pregnancy rates between T1 and T2 treatments, being more effective T1 protocol ($P < 0.01$). The serum LH levels after IATF protocol application is an important indicator of fertility. The efficient implementation of TAI protocols in heifers maintained under humid tropical conditions is crucial to increase fertility and pregnancy rates. Efficient TAI protocols able to raise LH to appropriate levels are crucial to increase fertility and to get high pregnancy rates in heifers (*Bos taurus*) maintained under humid tropical environments.

Keywords: TAI, LH, Pregnancy rate, bovine

INTRODUCCION.

En la Región Amazónica, la mala calidad de los pastos, con bajos niveles de nutrientes y energía en la dieta, el factor medio ambiental con temperaturas elevadas acompañado de una humedad relativa alta y una infraestructura y manejo particular de los animales "al sogueo" con cambios de áreas de pastura dos veces al día, modifican considerablemente la fisiología reproductiva del ganado bovino, provocando índices muy bajos de gestación, sin lograr una producción eficiente y sustentable en las explotaciones tropicales. Desde el uso de biotecnologías, como la inseminación artificial, el control de la dinámica folicular y la ovulación por medio de terapias hormonales (protocolos de IATF), se ha logrado acortar los días abiertos en el ganado bovino, reduciendo los problemas asociados con la detección de celos, permitiendo sistematizar los trabajos reproductivos en las ganaderías, además de incorporar adecuados programas de manejo reproductivo orientado a obtener mejores resultados aumentando su

productividad (Bo et al., 2003; Bó et al., 2007; Gouveia et al., 2002). El objetivo principal del presente estudio fue evaluar dos protocolos de IATF sobre los niveles séricos de LH, así como determinar la tasa de gestación de vaquillas bajo condiciones ambientales tropicales de tipo húmedo con el fin de incrementar la fertilidad en este tipo de ambientes.

MATERIAL Y METODOS

El diseño experimental fue llevado a cabo en el Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica (CIPCA) perteneciente a la Universidad Estatal Amazónica (UEA) 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). Se emplearon 40 vaquillas distribuidas en dos grupos (T1 y T2), compuesto cada uno por 20 animales (*Bos taurus*, condición corporal entre 2,5 y 3) mantenidos a libre pastoreo con buenas condiciones sanitarias y de manejo. El Tratamiento (T1), consistió en colocar un implante Crestar® (Intervet International B.V. Boxmeer - Holanda), compuesto por 3 mg de Norgestomet (análogo sintético de P4) el día 0. La remoción del implante se realizó el día 7 y se aplicó 150 ug de PG2a (BioprostD biotay) + 2 mg ECP (Cipionato de Estradiol-Pfizer) + 400 UI eCG (Folligon). Finalmente, el día 9, se extrajo sangre de la vena coccígea media (VCM) realizándose la IA, además de la aplicación de 0.2 mg GnRH (Fertagyl®). El Tratamiento (T2), consistió en aplicar P4 mediante un DIB-Syntex (Dispositivo Intravaginal Bovino) el día 0. El día 7, se retiró el DIB y se aplicaron 150 ug de PG2a (BioprostD biotay). Finalmente, el día 9, se extrajo sangre de la VCM y se realizó la IA entre las 52 y 56 horas tras la retirada del implante de P4, además de la aplicación de 0.2 mg GnRH (Fertagyl®).

Tabla 1. Esquema de los Protocolos de IATF aplicados en el presente estudio

PRIMER TRATAMIENTO DE IATF (T1)				
DIA	HORA	HORMONA	DOSIS	CONCENTRACION
0	7 am	Crestar (P4) y VE	2 cc	3 y 5 mg
7	7 am	Retirar Implante	-	-
7	7 am	PG2a	2 cc	150 µg
7	7 am	ECP	1 cc	2 mg
7	7 am	eCG	2 cc	400 UI
9	11 am	GnRH	2 cc	0,2 mg
IATF 52-56 horas de la retirada del implante				
SEGUNDO TRATAMIENTO DE IATF (T2)				
DIA	HORA	HORMONA	DOSIS	CONCENTRACION
0	7 am	DIB	1	1g
7	7 am	Retirar Dispositivo	-	-
7	7 am	PG2a	2 cc	150 µg
9	11 am	GnRH	2 cc	0,2 mg
IATF 52-56 horas de la retirada del dispositivo				

La sangre extraída de la VCM, fue depositada en tubos al vacío sin anticoagulante y a continuación fueron remitidos en refrigeración al laboratorio para la realización del examen hormonal de LH. Se procedió a la centrifugación y extracción del suero de cada muestra y se realizó la cuantificación por inmunoanálisis mediante la prueba de ELISA competitivo. Los resultados de los valores obtenidos fueron analizados e interpretados para constatar si los niveles de la hormona luteinizante (LH) se elevaron a nivel de la sangre.

A los 42 días post-inseminación se realizó el diagnóstico para confirmar la gestación mediante ultrasonografía (Ibex Pro y Lyte) haciendo referencia al número de animales gestantes del total que fueron sometidos a ambos protocolos de IATF.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante el test t-Student, considerando significativo un valor de $P < 0,05$.

RESULTADOS

En cuanto a los niveles séricos de LH, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los protocolos T1 y T2, siendo los niveles de LH evaluados tres veces superiores en T1 comparado con T2 ($22,13 \pm 0,83$ vs $7,20 \pm 1,10$ ng/ml) ($P < 0.01$). Respecto a la tasa de gestación, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T1 y T2, siendo el resultado del protocolo T1 más efectivo que protocolo T2 (75% versus 40% de vaquillas gestantes) ($P < 0.01$).

Tabla 2. Niveles de LH y tasa de gestación en diferentes protocolos de IATF

TRATAMIENTO	CONCENTR. LH (ng/ml)	TASA DE GESTACIÓN (% positivas)
T1 (Crestar® + PG2a + ECP + eCG + GnRH)	$22,13 \pm 0,83^a$	75,00 ^a
T2 (DIB® + PG2a + GnRH)	$7,20 \pm 1,10^b$	40,10 ^b

Diferentes superíndices en la misma columna (a-b) indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

DISCUSIÓN

Según Lara (2013), los protocolos de IATF en ambientes tropicales que utilizan implantes con análogos sintéticos de progesterona (P4), proporcionan niveles de LH desde 21.85 ng/ml hasta 30.59 ng/ml. En el presente estudio obtuvimos valores promedios de $22,13 \pm 0,83$ ng/ml lo cual indica que las concentraciones de LH en suero sanguíneo obtenidas se encuentran dentro de parámetros evaluados en otras regiones tropicales el caso de T1. Sin embargo, no ocurrió lo mismo en el caso del T2. Una de las causas por las cuales los resultados obtenidos a partir del protocolo T2 en cuanto al nivel hormonal de LH sérico fueron mucho más bajos, se podrá deber a los altos niveles de P4 circulantes durante dicho protocolo, que de alguna manera pueden suprimir la frecuencia y la magnitud de los pulsos de LH, afectando al crecimiento del folículo dominante y como consecuencia a la ovulación, así como a una óptima formación del cuerpo lúteo con suficiente funcionalidad en la producción de P4 (Barros et al., 2010; De Rensis et al., 2002; Fields et al., 2012).

En cuanto a la tasa de gestación, Brogliatti (2003) reporta resultados respecto al porcentaje de gestación entorno al 45-60% en explotaciones ganaderas en

zonas tropicales, indicando que el resultado es aceptable. En el presente estudio, se observaron tasas de gestación con un porcentaje del 70% (T1) superando así los resultados obtenidos anteriormente de tasas de gestación entre el 33-65% en ambientes de tipo tropical húmedo (Ramírez-Godínez et al., 2000). Además, en el presente estudio se demuestra que la retirada del implante del análogo de P4 (T1) acompañado con la aplicación de eCG, mejora significativamente la dinámica folicular y la tasa de ovulación, lo cual repercute positivamente en la tasa de gestación, lo cual manifiesta que es posible diseñar protocolos de IATF eficientes en estos ambientes extremos. Por tanto, hay que tener en cuenta que el uso de protocolos de IATF basados en dispositivos intravaginales sin acompañamiento de estradiol y eCG influye negativamente en la fertilidad de vaquillas mantenidas en ambientes tropicales húmedos. Así, debería tenerse en cuenta el uso de estradiol en estos ambientes, pues los índices reproductivos se verían afectados. Por tanto, sería necesario incluir en este tipo de protocolos algún tipo de sal de estradiol acompañada de eCG para mejorar los valores fisiológicos reproductivos, a pesar de que el costo total del tratamiento pueda ser más elevado (De Rensis et al., 2014; Martínez et al., 2002).

CONCLUSION

Los niveles séricos de LH tras la aplicación de los protocolos de IATF son un importante indicador de fertilidad. La aplicación de protocolos eficientes de IATF que sean capaces de elevar las concentraciones de LH a niveles adecuados (T1 en el presente estudio) es crucial para incrementar la fertilidad y obtener tasas de gestación elevadas en vaquillas mantenidas en ambientes tropicales húmedos.

REFERENCIAS

- Barros CM, Ereno RL, Simões RA, Fernandes P, Buratini J, Nogueira MF. Use of knowledge regarding LH receptors to improve superstimulatory treatments in cattle. *Reprod Fertil Dev* 2010; 22: 132-137.
- Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2003; 78: 307-326.
- 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: 223-236.
- Brogliatti GM. Inseminación artificial a tiempo fijo. *Rev. Brangus, Bs.As.*, 2003; 25: 72-74.
- De Rensis F, López-Gatius F. Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reprod Domest Anim.* 2014; 49: 177-182.
- De Rensis F, Marconi P, Capelli T, Gatti F, Facciolongo F, Franzini S, Scaramuzzi RJ. Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology* 2002; 58: 1675-1687.
- Fields SD, Gebhart KL, Perry BL, Gonda MG, Wright CL, Bott RC, Perry GA. Influence of standing estrus before an injection of GnRH during a beef cattle fixed-time AI protocol on LH release, subsequent concentrations of progesterone, and steroidogenic enzyme expression. *Domest Anim Endocrinol* 2012; 42: 11-19.
- Gouveia Nogueira MF, Barros BJ, Teixeira AB, Trinca LA, D'Occhio MJ, Barros CM. Embryo recovery and pregnancy rates after the delay of ovulation and fixed time insemination in superstimulated beef cows. *Theriogenology* 2002; 57: 1625-1634.
- Lara RQ. Evaluación de tres protocolos de sincronización a tiempo fijo en vacas mestizas en la Amazonía Ecuatoriana. Tesis de grado. Universidad Central del Ecuador. 2013.
- Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J Anim Sci* 2002; 80: 1746-1751.
- Ramírez-Godínez JA, Rodríguez-Almeida FA, Espinoza-Campa OM, Valdés-Saucedo R. Uso de la PMSG o PGF2a al retirar el implante del SMB en vacas productoras de carne. *Agrociencia* 2000; 34: 423-428.