

# Avances recientes en Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en vaquillonas

Bó, G. A.<sup>(1)</sup>

## Resumen

Los protocolos diseñados para controlar la dinámica de la onda folicular y la ovulación en el ganado bovino han reducido, e incluso eliminado, la necesidad de la detección del celo. Una reciente modificación en el tratamiento de sincronización para vaquillonas ha sido la incorporación de protocolos que disminuyen el período de inserción del dispositivo con progesterona y alargan el período de proestro. Estos protocolos han sido denominados Co-Synch de 5 días y se han reportado resultados que muestran un incremento en las tasas de preñez con respecto a los protocolos convencionales (Co-Synch de 7 días) usados actualmente en USA y despiertan mucho interés entre los productores y técnicos. Estos protocolos que prolongan el período de proestro y otros que utilizan estradiol están también siendo investigados en Argentina con resultados preliminares interesantes.

**Palabras clave:** GnRH; benzoato de estradiol; dispositivo con progesterona; tratamiento corto; IATF

## Recent advances in Fixed-Time Artificial Insemination in heifers

### Summary

The protocols designed to control follicular wave dynamics and ovulation have reduced or eliminated the necessity of heat detection in cattle. Recent modifications of the synchronization treatment in heifers have been the incorporation of protocols that decrease the period of insertion of the progesterone device and lengthen the proestrus period. This protocol has been named 5-day Co-Synch and has been reported to result in higher pregnancy rates than the conventional fixed-time AI protocol currently used in USA (i.e. 7-day Cosynch) and has created much interest among producers and practitioners. These protocols that prolonged the proestrus period and other similar treatments using estradiol are under investigation in Argentina with interesting preliminary results.

**Key words:** GnRH; estradiol benzoate; progesterone device; short treatment; FTAI.

## Introducción

La detección de celo insume mucho tiempo y mano de obra, está sujeta a influencias ambientales y con frecuencia es ineficaz e inexacta. Por lo tanto, el desempeño reproductivo es a menudo poco satisfactorio cuando la inseminación artifi-

cial (IA) se lleva a cabo después de la detección de celo. Alternativamente, los tratamientos que sincronizan, tanto la emergencia de una nueva onda de folículos ováricos como la ovulación, y emplean IA a tiempo fijo (IATF, sin detección de celos) pueden resultar en un rendimiento reproductivo

(1) Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Zona Rural General Paz, (5145) Córdoba, Argentina. Instituto A.P. de Ciencias Básicas y Aplicadas, Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Villa María, Villa del Rosario, Córdoba. e-mail: gabrielbo62@gmail.com

Trabajo presentado en la Jornada Syntex de Reproducción en rodeos de cría, Tandil, 20 de septiembre de 2013.

satisfactorio porque todos los animales son inseminados, demuestren celo o no. Los tratamientos para IATF que más se usan en la Argentina utilizan estrógenos y progestágenos en conjunto con prostaglandinas y gonadotropina coriónica equina (eCG; <sup>1</sup>). Los que más se usan en Estados Unidos y Europa utilizan GnRH combinados con prostaglandinas y progestágenos (<sup>1</sup>). El propósito de este trabajo es revisar los nuevos adelantos en la sincronización de la ovulación en vaquillonas con los productos farmacéuticos disponibles en Argentina.

## El protocolo Cosynch de 5 días

El protocolo más utilizado para vaquillonas en Estados Unidos utiliza GnRH y un dispositivo con progesterona por 7 días, con tasas de preñez que rondan el 50%. Sin embargo en los últimos años se han realizado investigaciones tendientes a aumentar esa tasa de preñez. Se ha analizado el efecto de diferentes factores que podrían afectar la fertilidad en vaquillonas. Se ha propuesto que en vaquillonas el tamaño del folículo es determinante a la hora de inducir una ovulación (<sup>9</sup>). Sin embargo, se han reportado publicaciones recientes que sugieren que la fertilidad a los tratamientos de IATF que utilizan GnRH y progestágenos puede mejorarse si se disminuye el período de crecimiento del folículo dominante ovulatorio y se prolonga la duración del proestro (<sup>2, 4, 8, 10</sup>). Bridges y col. (<sup>2</sup>) compararon un protocolo Cosynch de 7 días con un dispositivo de progesterona con IATF a las 60 horas y un protocolo Cosynch de 5 días con IATF a las 72 horas en vacas de razas para carne. En ese estudio, las tasas de preñez fueron 11% mayores que con el protocolo de 5 días. Santos y col. (<sup>13</sup>) informaron resultados similares en vacas lecheras. La hipótesis planteada fue que el protocolo de 5 días permitió un proestro más prolongado con mayores concentraciones de estradiol, debido al crecimiento del folículo dominante que va a estar estimulado por pulsos frecuentes de LH antes de la ovulación. Además del efecto sobre los folículos, se propone también que un proestro prolongado permite una mayor concentración de estradiol durante el período preovulatorio, que a su vez produce una mayor expresión de receptores de progesterona en el epitelio uterino, favoreciendo la función uterina durante el período de pre-implantación de la preñez (<sup>3</sup>). Sin embargo, debido a un

intervalo más corto entre la primera GnRH y la inducción de la luteólisis en el protocolo de 5 días, es aparentemente necesario administrar dos inyecciones de PGF con 6 a 24 horas de intervalo, para inducir la regresión completa del CL inducido por la GnRH.

Más recientemente, Kasimanickamy col. (<sup>6</sup>) informaron que las vaquillonas inseminadas a las 56 horas en un protocolo de Cosynch de 5 días tenían, en promedio, una tasa de preñez a la IA 10,3% más elevada que las vaquillonas inseminadas a las 72 horas. Además, Colazo y Ambrose (<sup>4</sup>) demostraron que la preñez por IATF no fue distinta con protocolos Cosynch de 5 días y 7 días con una sola administración de PGF en vaquillonas lecheras. En ese estudio, el uso de la primera GnRH en el protocolo Cosynch de 5 días tampoco parecía ser necesaria, ya que las tasas de preñez no fueron distintas cuando no se utiliza. A la inversa, Lima y col. (<sup>7</sup>) observaron un aumento de la tasa de preñez en vaquillonas lecheras que recibieron la GnRH final al mismo tiempo que la IA a las 72 horas después de la remoción del dispositivo con progesterona en comparación con la administración de GnRH a las 56 horas e IATF 16 horas después. Además, tanto Lima y col. (<sup>7</sup>) como Colazo y Ambrose (<sup>4</sup>), también mostraron que no hubo diferencias en las tasas de preñez entre vaquillonas que recibieron o no una primera GnRH en el momento de la inserción del dispositivo con progesterona. Finalmente, Lima y col. (<sup>8</sup>) realizaron un experimento con un alto número de vaquillonas de leche y encontraron las mejores tasas de preñez cuando se colocó GnRH en el día de la inserción del dispositivo con progesterona y dos inyecciones de PGF, con 24 h de intervalo, en el momento de la remoción del dispositivo con progesterona. Indudablemente, se necesita investigación adicional para evaluar los protocolos Cosynch de 5 días en vaquillonas y confirmar que realmente mejoren las tasas de preñez con respecto a los tratamientos convencionales.

## Protocolo J Synch

Como se describió anteriormente, los protocolos que alargan el proestro realizados en Estados Unidos, utilizaron dispositivos con progesterona y GnRH. Recientemente reportamos datos preliminares de un tratamiento realizado utilizando un protocolo basado en benzoato de estradiol (EB) y

un dispositivo con progesterona (que son las hormonas más usadas en Argentina) pero donde la remoción del dispositivo con progesterona fue realizada 6 días después (en lugar de 7 u 8 días) y se prolongó el proestro administrando GnRH como inductor de la ovulación en el momento de la IATF que fue realizada 72 horas después de la remoción del dispositivo, en lugar de hacerlo a las 48 horas <sup>(5)</sup>.

En este trabajo se comparó la eficiencia en la sincronización de celos y consecuente ovulación de dos tratamientos alternativos. Se utilizaron 28 vaquillonas para carne *Bos taurus*, de entre 16 y 17 meses de edad, que fueron divididas al azar en dos grupos. El grupo 1 (BE 6 d; n=14) recibió en el Día 0, 2 mg de benzoato de estradiol (BE) y un dispositivo intravaginal con 0,6 g de progesterona. El grupo 2 (GnRH 5 d; n=14) recibió en el Día 1, 10,5  $\mu$ g de GnRH y un dispositivo intravaginal con 0,6 g de progesterona. Los dispositivos fueron retirados en ambos grupos en el Día 6 y todas las vaquillonas recibieron 150  $\mu$ g de D-Cloprostenol (PGF). La IATF se realizó a las 72 horas desde la PGF (Día 9) y en el mismo momento se aplicó 10,5  $\mu$ g de GnRH en todos los animales. Durante el transcurso de estos tratamientos, todas las vaquillonas fueron examinadas mediante ultrasonografía transrectal para observar el desarrollo folicular y la ovulación. El día promedio ( $\pm$  DS) de inicio de la nueva onda folicular ocurrió antes ( $P < 0,05$ ) en las vaquillonas tratadas con GnRH ( $2,1 \pm 1,0$ ) que en las tratadas con BE ( $3,7 \pm 0,9$ ). Sin embargo, la tasa ovulatoria (91,6 vs 92,8%), el diámetro del folículo ovulatorio ( $11,7 \pm 0,2$  vs  $12,0 \pm 0,5$  mm), el intervalo desde la PGF hasta la ovulación ( $97,1 \pm 17,4$  vs  $95,1 \pm 12,5$  hs) y el porcentaje de concepción (50,0 vs 57,1%) no difirieron significativamente ( $P > 0,05$ ) entre los grupos. Esto fue repetido en ensayos de campo con un

total de 854 vaquillonas inseminadas en rodeos comerciales con este tratamiento alternativo y el promedio de preñez fue del 53,7%, resultando en datos aceptables y alentadores.

Se diseñó otro experimento para comparar el protocolo J Synch con el protocolo Co-Synch de 5 días y el protocolo convencional con progesterona y estradiol <sup>(11)</sup>. Se utilizaron vaquillonas Holando Argentino de 17 meses de edad y con una condición corporal de 2,5 a 3,5 (escala del 1 al 5). Se utilizaron 3 protocolos de IATF simultáneamente, haciendo coincidir el momento de retiro del dispositivo. Las vaquillonas en el grupo BE-7 días recibieron un dispositivo con 1 g de progesterona y 2 mg de BE en el Día 0, 500  $\mu$ g de cloprostenol, junto con la remoción del dispositivo en el Día 7, 1 mg de EB en el Día 8 y fueron IATF a las 56 h del retiro del dispositivo. Las del grupo BE-6 días recibieron un DIB y 2 mg EB en el Día 1, PGF junto con el retiro del dispositivo en el Día 7 y en este caso se administró 10  $\mu$ g de acetato de buserelina y se realizó la IATF a las 72 horas del retiro del dispositivo. Las vaquillonas del grupo Cosynch-5 días recibieron un dispositivo con 1 g de progesterona y GnRH en el Día 2. En el Día 7 se retiró el dispositivo y se aplicaron dos dosis de PGF (al mismo tiempo de la remoción del DIB y 12 horas después). A las 72 horas del retiro del dispositivo se realizó la IATF y se aplicó GnRH. Se realizaron dos experimentos. En el primero se evaluó la dinámica folicular y ovulación por medio de ultrasonografía (20 animales por grupo) y en el segundo se evaluaron los porcentajes de preñez a la IATF realizando ultrasonografía a los 32 días de la IATF. Los resultados están resumidos en la Tabla 1. La hora media de ovulación fue antes para el grupo BE-7 días que para los grupos BE-6 días y Cosynch-5 días ( $P = 0,001$ ). El tamaño del folículo preovulatorio fue menor para el grupo

BE-7 días y para el grupo BE-6 días y que para el grupo Cosynch-5 días de  $P=0,014$ ). En el segundo experimento, a pesar de que las tasas de preñez son numéricamente menores en el grupo BE-7 días que para el grupo BE-6 días y para el grupo Cosynch-5 días, las diferencias no fueron significativas ( $P=0,401$ ). Los resultados preliminares indican que los 3 protocolos resultan en aceptables tasas de preñez a la IATF en vaquillonas lecheras.

**Tabla 1:** Hora media ( $\pm$ EE) de ovulación, tamaño del folículo preovulatorio y tasas de preñez en vaquillonas Holando Argentino.

Tratamientos	BE-7 días	BE-6 días	Cosynch-5 días
<b>Experimento 1</b>			
n	20	20	20
Hora media Ovulación	82,7 $\pm$ 3,1 <sup>a</sup>	103,8 $\pm$ 3,3 <sup>b</sup>	96,8 $\pm$ 3,3 <sup>b</sup>
Diámetro folículo ovulatorio (mm)	12,8 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	13,1 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	14,9 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>
<b>Experimento 2</b>			
n	48	49	45
Vaq. Preñadas (%)	23 (47,9%)	29 (59,2%)	24 (53,3%)

<sup>ab</sup> Las medias difieren significativamente ( $P<0.05$ )

## Resumen final y conclusiones

En los últimos 20 años se han realizado progresos significativos en la mejor comprensión de los patrones del crecimiento de los folículos ováricos bovinos y las tecnologías que coordinan el crecimiento y ovulación de los folículos <sup>(1)</sup>. Las tasas de preñez que se obtienen a la IATF en vaquillonas rondan el 50%. Sin embargo, se han reportado recientemente que esas tasas se podrían incrementar si se disminuye el período de crecimiento del folículo dominante ovulatorio y se prolonga la duración del proestro. Con estos protocolos se espera tener una mejoría significativa en las tasas de preñez de vaquillonas. Si bien los resultados hasta ahora son alentadores se necesita mucho más trabajo para confirmar si esta mejora es consistente y repetible, y sobre todo si son superiores a los tratamientos que se utilizan ahora en Argentina.

## Bibliografía

- Bó, G.A., Baruselli P.S., Mapletoft R.J. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim. Reprod.* 10,137-42.
- Bridges G.A., Hesler L.A., Grum D.E., Mussard M.L., Gasser C.L. and Day M.L. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF $_{2\alpha}$  from 7 to 5 days and leng-

thening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69, 843-51.

- Bridges G.A., Mussard M.L., Pate J.L., Ott T.L., Hansen T.R. and Day M.L. 2012. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Anim. Reprod.Sci.* 133, 16-26
- Colazo M.G. y Ambrose D.J. 2011. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. *Theriogenology* 76, 578-88.
- De la Mata J.J. y Bó G.A. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos con benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 55, 17-23.
- Kasimanickam R, Asay M, Firth P, Whittier WD, Hall JB. 2012. Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate in beef heifers synchronized with five-day CO-Synch controlled internal drug release (CIDR) protocol. *Theriogenology* 77,1624-1631.
- Lima FS, Ayres H, Favoreto MG, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Baruselli PS, Risco CA, Thatcher WW, Santos JEP. 2011. Effects of gonadotropin releasing hormone at initiation of the 5-day timed artificial insemination (AI) program and timing of induction of ovulation relative to AI on ovarian dynamics and fertility of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 94, 4997-5004.
- Lima F.S., Ayres H., Favoreto M.G., Bisinotto R.S., Greco L.F., Ribeiro E.S., Baruselli P.S., Risco C.A., Thatcher W.W., Santos J.E.P. 2013. Hormonal manipulations in the 5-day timed artificial insemination protocol to optimize estrous cycle synchrony and fertility in dairy heifers. *J Dairy Sci* 96, 7054-65.
- Perry G.A., Smith M., Lucy M.C., Green J.A., Parks T.E., MacNeil M.D., Roberts A.J., Geary T.W. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102, 5268-73.
- Rabaglino M.B., Risco C., Thatcher M.J., Kim I.H., Santos J.E., Thatcher W.W. 2010. Application of one injection of prostaglandin F $_{2\alpha}$  in the five-day Co-Synch+CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. *J. DairySci.* 93,1050-58.
- Ré M y Bó G.A. 2013. Sincronización de la ovulación en vaquillonas de leche utilizando tratamientos que prolongan el proestro. X Simposio Internacional de Reproduccion Animal, IRAC, Cordoba, Argentina, pp. 324.
- Santos JEP, Narciso CD, Rivera F, Thatcher WW, Chebel RC. 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed AI protocol on reproduction of dairy cows. *J DairySci.* 93:2976-2988.