

Efecto de la progesterona sobre la tasa de preñez a la inseminación artificial a tiempo fijo con un protocolo CO-Synch en vacas Braford en anestro

Rodríguez Pérsico, J.M.⁽¹⁾; Esperanza, G.⁽²⁾; Aragón, M.A.⁽³⁾; Bó, G.A.⁽⁴⁾ y Callejas, S.S.⁽⁵⁾

Resumen

Existen pocos antecedentes de IATF en rodeos de carne en Argentina que utilicen protocolos CO-Synch (combinación de GnRH y PG). El objetivo fue evaluar el efecto de un DISP monodosis (0,558 g de P4) sobre la tasa de preñez a la IATF en vacas Braford en anestro y sin cría al pie. Se utilizaron 279 vacas Braford, CC $2,6 \pm 0,3$ (escala 1-5), sin cría al pie y en anestro (100% sin CL al D0; 54,4% con folículos ≥ 10 mm). El D0, se aplicó 0,105 mg de acetato de buserelina (GnRH) y las vacas fueron distribuidas homogéneamente en función de las estructuras ováricas (EO; folículos ≥ 10 mm o < 10 mm) en dos grupos: que recibieron un DISP [Grupo CO-Synch-DISP (n=139)] o no lo recibieron [Grupo CO-Synch (n=140)]. El D7 se retiró el DISP y se aplicó 0,150 mg de D-cloprostenol vía im. A las 48 h (D9), se aplicó la segunda dosis de GnRH y fueron IATF. Se utilizó semen congelado de un solo toro. El trabajo fue realizado por un solo inseminador. Ningún animal perdió el DISP. Cinco animales fueron excluidos del análisis por falta de diagnóstico de gestación. Fueron considerados para el análisis los efectos de Tratamiento, EO y su interacción. El análisis estadístico se realizó mediante regresión logística (InfoStat). No hubo efecto de la EO ($P > 0,05$). Sí hubo efecto del Grupo, siendo los porcentajes de preñez de 38,2% (52/136) y 23,2% (32/138) para CO-Synch-DISP y CO-Synch ($P < 0,01$), respectivamente. La interacción no fue significativa ($P > 0,05$). Se concluye que el agregado de un DISP (0,558 g de P4) en un protocolo CO-Synch con IATF a las 48 h, aumenta el porcentaje de preñez en vacas Braford en anestro sin cría al pie.

Palabras clave: vaca; anestro; progesterona; dispositivo intravaginal; CO-Synch; GnRH.

Effect of progesterone in CO-Synch protocols for fixed-timed artificial insemination on pregnancy rate in Braford anestrous cows

Summary

There are few works in beef cattle in Argentina that uses CO-Synch protocols (GnRH and PG combination) for FTAI. The objective of the study was to evaluate the effect of adding and intravaginal device with progesterone (IVD=DISP; 0,558 g of P4) on pregnancy rates in anestrous and non-suckled beef cows. A total of 279 Braford cows, BCS $2,6 \pm 0,3$ (1-5 scale), non-suckled and no-

(1) Biogénesis Bagó, Argentina. Ruta Panamericana Km 38,5, Garín (B1619IEA), Buenos Aires, Argentina. juan.persico@biogenesishago.com

(2) Grupo GCT, Argentina.

(3) Estudio Mc Lean y Asoc., Argentina.

(4) IRAC - Instituto de Reproducción Animal Córdoba, Argentina.

(5) Área de Reproducción, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil, (CIVETAN, CONICET-CICPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina.

Recibido: 16 de junio de 2016.

Aceptado: 14 de agosto de 2016.

Taurus Año 18 N°71: 18 - 22

cyclic (100% with no CL at D0; 54,4% follicles ≥ 10 mm). On D0 all animals received i.m. 0,105 mg of buserelina acetate (GnRH) and were homogenously distributed based on ovarian structures (OS; follicles ≥ 10 mm or < 10 mm) to two groups, that received [CO-Synch-DISP (n=139)] or not [CO-Synch (n=140) and IVD]. On D7 IVD was removed and all females received i.m. 0,150 mg of D-Cloprostenol. After 48 h (D9), another i.m. dose of GnRH was administered and all cows were FTAI. Frozen semen from one bull was used and AI was performed by one veterinarian. No IVD were lost but five cows had no pregnancy diagnosis evaluation. Statistical analysis was made by logistic regression (InfoStat); Treatment, OS and their interaction were considered. No effect of OS was found ($P > 0,05$). There was effect of Group on pregnancy rates: 38,2% (52/136) and 23,2% (32/138) for CO-Synch-DISP and CO-Synch ($P < 0,01$), respectively. No effect of the interaction was found ($P > 0,05$). In conclusion, adding an IVD (DISP) with 0,558 g of progesterone in a CO-Synch FTAI (48 h) protocol, increases pregnancy rate in non-suckled and no-cyclic Braford cows.

Key words: cow; anestrous; progesterone; intravaginal device; CO-Synch; GnRH.

Introducción

Para controlar el ciclo estral e implementar una inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se han utilizado diferentes tratamientos hormonales como son: el uso de un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) combinado con sales de estrógenos y un agente luteolítico [PG, ^(1,2)], la combinación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) con Prostaglandina F $_{2\alpha}$ [PG; ⁽¹⁶⁾] o un esquema de dos administraciones de PG separado por 11 en vaquillonas y 14 días en vacas lecheras ^(3,4).

En los rodeos en los cuales se encuentran hembras en anestro y cíclicas se utilizan dispositivos intravaginales con progesterona (P4) debido a que éstos inducen actividad sexual en aquellas que se encuentran en anestro, y por otro lado, sincronizan las que se encuentran con actividad sexual cíclica ⁽⁴⁾. En este sentido, la utilización de un dispositivo intravaginal con P4 incluido en el protocolo Ovsynch (GnRH Día 0 - PG Día 7 - GnRH Día 9 e IATF Día 10) en vacas lecheras ⁽⁸⁾ y CO-Synch (GnRH Día 0 - PG Día 7 - GnRH e IATF Día 9) en vacas para carne ^(7,13) ha permitido mejorar el porcentaje de preñez. Algunos autores ⁽¹²⁾ observaron que la mejora en la preñez se producía cuando la inclusión del dispositivo con progesterona en estos tratamientos se realizaba en vacas que: estaban en anestro y no respondían a la 1^o GnRH; y en aquellas que estaban cíclicas y que tenían niveles de progesterona menores a 1 ng/mL en el momento de administrar el agente luteolítico (sin respuesta a la 1^o GnRH y/o final de la fase luteal). Así, estos autores concluyeron que la inclusión de un dispositivo con progesterona en el protocolo CO-Synch mejora la fertilidad, principalmente en vacas que no están ciclando.

Finalmente, la mayoría de los trabajos que fueron realizados en EEUU con protocolos tipo CO-Synch en vacas con cría ^(6,9,12,13,20), utilizaron DISP con una concentración igual o superior a 1,38 g de P4.

En consecuencia, se trabajó sobre la siguiente hipótesis: adicionar progesterona a un protocolo de IATF, basado en GnRH y PG (CO-Synch), mejora el porcentaje de preñez en vacas en anestro. El objetivo de presente estudio fue evaluar el efecto de la inserción de un DISP impregnado con 0,558 g de P4 sobre el porcentaje de preñez en vacas Braford en anestro y sin ternero al pie, tratadas con un protocolo CO-Synch e IATF.

Materiales y métodos

Animales y lugar de trabajo

El trabajo se realizó en un establecimiento comercial ubicado en el Departamento de Concepción, provincia de Corrientes. Se utilizaron 279 vacas Braford, cola de parición, que resultaron vacías del servicio de primavera. Las mismas fueron seleccionadas de un rodeo de 700 hembras, de las cuales el 41% se encontraba ciclando. Ninguna de las vacas seleccionadas para esta prueba tuvo un cuerpo lúteo (CL). Esto fue determinado por ecografía ovárica realizada en el Día -1 (Día 0: inicio de los protocolos) con un ecógrafo Honda HS 101 V (Honda, Japón) con un transductor transrectal de 5 MHz. El 54,4% tenía folículos mayores o iguales a 10 mm de diámetro (anestro superficial), y el resto menor a 10 mm (anestro profundo; 45,6%).

Las vacas se encontraban, al momento de comenzar con los trabajos, sin cría al pie, ya que habían sido destetadas 15 días previos al inicio de los mismos. La condición corporal (CC) promedio (\pm desvío estándar) fue de $2,6 \pm 0,3$ (escala 1 a 5; 1: emaciada y 5: obesa) ⁽¹¹⁾. La alimentación se basó en campo natural con buena disponibilidad.

Determinaciones y tratamientos

En el Día 0, las vacas fueron distribuidas homogéneamente en dos grupos en función del estatus ovárico, para recibir los siguientes tratamientos:

1) **Grupo CO-Synch-DISP** (Fol ≥ 10 mm n=77; Fol <10mm n=62; Total n=139): se colocó un dispositivo intravaginal con 0,558 g de progesterona (CRONIPRES MONODOSIS[®], Biogénesis Bagó, Argentina) más una inyección intramuscular (im) de 0,105 mg de acetato de buserelina (GONAXAL[®], Biogénesis Bagó, Argentina). El Día 7 se retiró el DISP, se administró 0,150 mg de D-Cloprostenol (PG; ENZAPROST[®] D-C, Biogénesis Bagó, Argentina). Al cabo de 48 h posteriores al retiro, se administró una nueva dosis de acetato de buserelina.

2) **Grupo CO-Synch** (Fol ≥ 10 mm n=75; Fol <10mm n=65; Total n=140): recibieron el mismo esquema de tratamiento anteriormente descrito, pero sin el agregado del dispositivo intravaginal con P4.

El servicio se realizó por IATF en el Día 9 (48 h post aplicación de la PG y en el mismo momento que se aplicó la segunda GnRH), utilizando 1 toro de probada fertilidad y un solo inseminador.

El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía, a los 33 días de realizada la IATF.

Análisis de datos

Se estudió el efecto del tratamiento (DISP), la estructura ovárica al inicio del mismo (Fol ≥ 10 mm o Fol <10mm) y su interacción, sobre el porcentaje de preñez a la IATF, en un protocolo CO-Synch. Fue realizado un análisis de regresión logística perteneciente al programa InfoStat⁽⁵⁾, fijando un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0,05$).

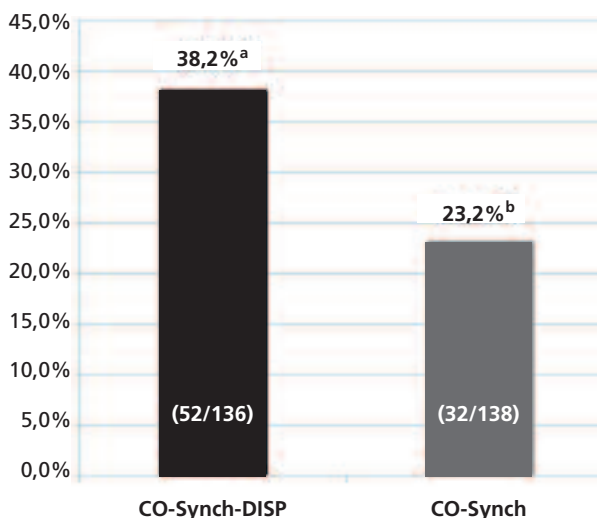
Cinco animales debieron ser excluidos de la prueba porque no se pudo determinar el estado de gestación ya que no pasaron por la manga. Tres animales pertenecían al grupo CO-Synch-DISP y dos al grupo CO-Synch.

Resultados

Ninguno de los animales perdió el DISP. Hubo un efecto significativo del tratamiento sobre la tasa de preñez, los cuales resultaron ser de 38,2% (52/136) y 23,2% (32/138) para el grupo CO-Synch-DISP y CO-Synch ($P < 0,01$), respectivamente (Gráfico 1). No se observó efecto de la estructura ovárica ni tampoco de la interacción

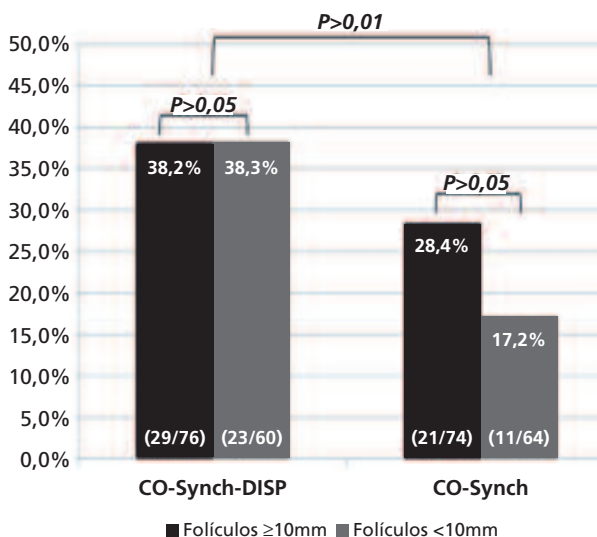
entre la estructura ovárica y el tratamiento ($P > 0,05$; Gráfico 2).

Gráfico 1. Porcentaje de preñez en vacas Braford, en anestro y sin cría, sincronizadas con el protocolo CO-Synch que incluye (CO-Synch-DISP) o no (CO-Synch) un dispositivo intravaginal con 0,558 g de P4 y fueron IATF (48 h).



^{a,b} Valores con superíndice diferentes difieren ($p < 0,01$).

Gráfico 2. Porcentaje de preñez, en función del status ovárico, en vacas Braford en anestro y sin cría, sincronizadas con el protocolo CO-Synch que incluye (CO-Synch-DISP) o no (CO-Synch) un dispositivo intravaginal con 0,558 g de P4 y fueron IATF (48 h).



Discusión

En el presente trabajo se observó una mejora significativa en el porcentaje de preñez al incluir un DISP con P4 en el tratamiento CO-Synch, siendo esto coincidente con lo reportado por algunos autores⁽¹²⁾, quienes registraron valores de 48,1% y

58,6% para los tratamientos CO-Synch CO-Synch+CIDR (CIDR=DISP con 1,38 g, Zoetis, USA), respectivamente ($P < 0,05$). No obstante, estos valores son superiores al del presente trabajo, lo que podría explicarse por diferentes tipos de animales, semen utilizado, características propias del manejo o bien por la concentración de P4 del DISP. Los trabajos provenientes de EEUU utilizan DISP con concentraciones iguales o superiores a 1,38 g.^(6,12,13,20) siendo que en el presente estudio se utilizaron DISP monodosis con una concentración de 0,558 g. En un meta-análisis reciente⁽²¹⁾, fueron descriptos los efectos benéficos de la inclusión de la P4 en protocolos CO-Synch, ya sea de 5 o 7 días y con un rango de IA desde 48 a 72 h, atribuyéndole un diferencial de 7,1% ($P = 0,018$) a favor, siendo en las condiciones del presente estudio (7 días, DISP 0,558 g de P4 y IATF 48 h) de un 15% entre el Grupo Co-Synch-DISP vs. Co-Synch.

Por otro lado, en un trabajo realizado en vacas *Bos taurus* con cría al pie⁽⁶⁾ se observó un 42,6% de preñez cuando se implementó el protocolo CO-Synch+CIDR, aproximándose al valor registrado (38,2%). Estos autores evaluaron diferentes momentos para la IA, observando que cuando la IATF se realizó a intervalos mayores de proestro (definido como el tiempo desde el retiro del DISP y la aplicación de la PG hasta la segunda GnRH e inseminación), la tasa de preñez aumentaba, logrando diferenciarse estadísticamente a las 56 h (62,4%) y 64 h (54,1%). Tal como es sugerido⁽¹⁵⁾, es probable que estos beneficios se deban a una multiplicidad de factores entre los cuales están: un mayor tiempo de maduración folicular, mayor concentración de estradiol preovulatorio, una mayor competencia del ovocito, como así también un ambiente más favorable (funcionalidad del oviducto, ambiente uterino y transporte espermático).

En otro trabajo⁽¹⁰⁾, se observó que la implementación del protocolo CO-Synch combinado con un DISP en vacas que tuvieron en el inicio del tratamiento niveles de P4 $< 0,5$ ng/mL o entre 0,5 y 1,99 ng/mL se preñaron el 41% y 37%, respectivamente. Animales con valores superiores (≥ 2 ng/mL) tuvieron porcentajes de preñez mayores al 50%. A pesar de que en el presente trabajo no se determinó el nivel plasmático de P4 se podría asumir que el mismo fue menor a 1 ng/mL dado que ninguna de las vacas tenía un CL; en consecuencia, el resultados de preñez registrado

(38,2%) es coincidente con los reportados por estos autores. De la misma manera, se puede ver que la inclusión de P4 a través del DISP en el protocolo CO-Synch, tuvo un efecto inductor de la ciclicidad sobre esos animales, que explicarían en parte el mayor porcentaje de preñez del grupo CO-Synch-DISP. Con respecto al grupo CO-Synch, el porcentaje de preñez (23,2%) fue levemente inferior al publicado⁽¹⁹⁾, quienes informaron un 28,4% de preñez en vacas en anestro.

La inducción del pico de LH mediado por la GnRH es responsable de la ovulación de grandes folículos y aquellos funcionalmente dominantes en su fase de crecimiento⁽²²⁾. En consecuencia, la presencia de folículos de mayor tamaño aumenta la respuesta y la sincronización de las ondas foliculares a la 1^ª GnRH, mientras que folículos más pequeños no responderán y continuarán su evolución. Existe variación en las respuestas a dicha aplicación. Algunos autores⁽¹²⁾ indican una respuesta en vacas de cría en anestro del 53% mientras que otros⁽¹⁹⁾ del 26,8%. La presencia de P4, proveniente del DISP en el protocolo Co-Synch-DISP, evita que estos animales manifiesten celo y ovulen anticipadamente, mientras que la falta del mismo no evitará tal evento, generando celos y ovulaciones tempranas, disminuyendo la probabilidad de preñez^(14,17,18). Aunque el resultado de preñez fue independiente del tamaño del folículo en el presente estudio, esta situación podría explicar en parte, las diferencias observadas entre el Grupo CO-Synch-DISP y el Co-Synch cuando los folículos al inicio del tratamiento fueron < 10 mm. En futuros trabajos habría que estudiar cuál es el momento más adecuado para realizar la IATF en vacas en anestro que son sincronizadas con el protocolo CO-Synch que incluya un DISP del tipo monodosis. En el mismo sentido, habrá que considerar un proestro más prolongado, buscando el equilibrio entre lo práctico y el mejor resultado a primo inseminación. De la misma manera, sería interesante evaluar el efecto de la eCG, como también evaluar el impacto según las concentraciones de P4, más allá del logrado por la adición misma de P4.

Conclusiones

La inclusión de un dispositivo intravaginal con 0,558 g de progesterona al protocolo CO-Synch mejora significativamente el porcentaje de preñez en vacas Braford, en anestro y sin cría al pie, que son inseminadas a tiempo fijo.

Bibliografía

1. Bó, G.A.; Adams, G.P.; Pierson, R.A.; Tribulo, H.E.; Caccia, M. and Mapletoft, R.J. 1994. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology* 41⁽⁶⁾: 1555-1569.
2. Bó, G.A.; Adams, G.P.; Caccia, M.; Martinez, M.; Pierson, R.A. and Mapletoft, R.J. 1995. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *AnimReprodSci* 39: 193-204.
3. Callejas, S. 2004. Control farmacológico del ciclo estral bovino: bases fisiológicas, protocolos y resultados. Parte I. *Rev. Taurus* 24: 22-34.
4. Callejas, S. 2005. Control farmacológico del ciclo estral bovino: bases fisiológicas, protocolos y resultados. Parte II. *Rev. Taurus* 25: 16-35.
5. Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M. y Robledo, C.W. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
6. Dobbins, C.A.; Eborn, D.R.; Tenhouse, D.E.; Breiner, R.M.; Johnson, S.K.; Marston, T.T. and Stevenson, J.S. 2009. Insemination timing affects pregnancy rates in beef cows treated with CO-Synch protocol including an intravaginal progesterone insert. *Theriogenology* 72: 1009-1016.
7. Echterkamp, S.E. and Thallman, R.M. 2011. Factors affecting pregnancy rate to estrous synchronization and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 89:3060-3068.
8. El-Zarkouny, S.Z.; Cartmill, J.A.; Hensley, G.A. and Stevenson, J.S. 2004. Presynchronization of estrous cycles before Ovsynch and progesterone in dairy cows: Ovulation, pregnancy rate, and embryo survival. *J. DairySci.* 87:1024-1037.
9. Gunn, P.J., Culp, K.C., Lemenager, R.P. and Bridges, G.A. 2016. Efficacy of the 5-day CO-Synch synchronization protocol with or without the inclusion of exogenous progesterone in beef cows. *The Professional Animal Scientist* 32 (1):82-89.
10. Hill, S.L.; Perry, G.A.; Mercadante, V.R.G.; Lamb, G.C.; Jaeger, J.R.; Olson, K.C. and Stevenson, J.S. 2014. Altered progesterone concentrations by hormonal manipulations before a fixed-time artificial insemination Co-Synch + CIDR program in suckled beef cows. *Theriogenology* 82: 104-113.
11. Houghton, P.L.; Lemenager, R.Rp.; Hendrix, K.S.; Moss, G.E. and Stewart, T.S. 1990. Effects of body composition, pre- and postpartum energy intake and stage of production on energy utilization by beef cows. *J. Anim. Sci.* 68:1447-1456.
12. Lamb, G.D.; Stevenson, J.S.; Kesler, D.J.; Garverick, H.A.; Brown, D.R. and Salfen, B.E. 2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F 2α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79:2253-2259.
13. Larson, J.E.; Lamb, G.C.; Stevenson, J.S.; Johnson, S.K.; Day, M.L.; Geary, T.W.; Kesler, D.J.; DeJarnette, J.M.; Schrick, F.N.; DiCostanzo, A. and Arseneau, J.D. 2006. Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F 2α , and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84:332-342.
14. Martínez, M.F.; Kastelic, J.P.; Adams, G.P.; Cook, B.; Olson, W.O. and Mapletoft, R.J. 2002. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*. 57:1049-1059.
15. Mussard, M.L.; Burke, C.R.; Behlke, E.J.; Gasser, C.L. and Day, M.L. 2007. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. *J AnimSci* 85: 937-943.
16. Pursley, J.R.; Mee, M.O. and Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH. *Theriogenology*44:915-923.
17. Roy, G.L. and Twagiramungu, H. 1999. Time interval between GnRH and prostaglandin injections influences the precision of estrus in synchronized cattle. *Theriogenology*. 51:413.
18. Seguin, B. 1997. Ovsynch: a method for breeding dairy cows doing heat detection. *TheBovinepractitioner*. 91:11.
19. Stevenson, J.S.; Thompson, K.E.; Forbes, W.L.; Lamb, G.C.; Grieger, D.M. and Corah, L.R. 2000. Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F 2α with or without timed insemination. *J. Anim. Sci.* 78:1747-1758.
20. Stevenson, J.S.; Lamb, G.C.; Johnson, S.K.; Medina-Britos, M.A.; Grieger, D.M.; Harmoney, K.R.; Cartmill, J.A.; El-Zarkouny, S.Z.; Dahlen, C.R. and Marple, T.J. 2003. Supplemental norgestomet, progesterone, or melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations. *J. Anim. Sci.* 81:571-586.
21. Stevenson, J.S.; Hill, S.L.; Bridges, G.A. and Lamb, G.C. 2015. Progesterone status, parity, body condition, and days postpartum before estrus or ovulation synchronization in suckled beef cattle influence artificial insemination pregnancy outcomes. *J. Anim. Sci.* 93:2111-2123.
22. Twagiramungu, H.; Guilbault, L.A. and Dufour, J.J. 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 73:3141-3151.