

Momento de ovulación según diferentes Protocolos de Sincronización a Tiempo Fijo y a Celos Detectado en Búfalos de Corrientes

Crudeli, Gustavo A.¹ - Pellerano, Gabriela S.¹ - Torres Jiménez, Gonzalo¹
Maldonado Vargas, Pablo¹ - Giménez, Laura²

1. *Cátedra de Fisiopatología de la Reproducción y Obstetricia - Depto. de Producción Animal
Facultad de Cs. Veterinarias - UNNE.
Sargento Cabral 2139 - (3400) Corrientes - Argentina.
Tel./Fax: +54 (03783) 425753 / 420854 int. 131
E-mail: gcrudeli@vet.unne.edu.ar*

2. INTA - EEA. El Sombrerito - Corrientes.

ANTECEDENTES

El empleo de la inseminación artificial (IA) en bovinos ha sido ampliamente estudiado y utilizado con éxito en establecimientos rurales de todo el mundo, permitiendo que la mejoría genética de los rebaños sea más rápida y eficiente. En tanto, en bubalinos esta biotécnica ha merecido una menor cantidad de estudios y ha sido menos empleada por los criadores debido a ciertas dificultades en la identificación de las manifestaciones del estro y del momento apropiado para realizar la IA. Una característica reproductiva que debe ser considerada en los bubalinos es la baja incidencia del comportamiento homosexual durante el celo. Al contrario de los bovinos, es raro observar esta sintomatología en los bubalinos, o sea solamente el 3.44 % (Barurelli, 1994^a), lo que indica que, con mayor frecuencia, el macho realiza la monta en el período de celo. Este comportamiento disminuye la visualización externa del celo y demuestra que es indispensable la utilización de retajos para detección de celo en esta especie. Esta característica, asociada a grandes variaciones de la duración de los celos bubalinos (6 a 48 horas), torna el manejo de detección de celo más trabajoso y dificulta el empleo de la IA (Baruselli, 1996). Rodeos con ineficiencias en la detección de celo presentan disminución en el desempeño reproductivo con consecuente aumento del período de servicio y el intervalo entre partos, acarreando serios perjuicios al productor. La sincronización de la ovulación por métodos hormonales en bovinos ha presentado resultados animadores para el empleo de la I.A. a tiempo fijo (I.A.T.F.). Los protocolos de sincronización existentes permiten realizar la IA a tiempo fijo (en horario predeterminado), sin la necesidad de observar el estro, facilitando el manejo del rodeo y optimizando el empleo de esta biotecnología a campo. Así, el presente trabajo tiene por finalidad estudiar la respuesta de los bubalinos a los protocolos hormonales que utilizan GnRH y prostaglandinas, en un esquema de IA a tiempo fijo. Se realizó un trabajo con el objetivo de comparar dos diferentes protocolos de IATF, versus un sistema que utiliza la detección de celo en bubalinos.

El estudio de la dinámica folicular durante el ciclo estral esclarece los fenómenos que interfieren en la sincronización del celo y ovulación. La sincronización del celo y la ovulación depende del control de algunos factores importantes como la prevención del desarrollo de folículos persistentes que contienen ovocitos envejecidos, reclutamiento de una nueva onda folicular, independientemente del estado del ciclo estral, la manipulación de la fase luteínica y la sincronización precisa del futuro folículo ovulatorio (Driancout, 2000)

Estudiando la dinámica folicular durante el tratamiento "Ovsynch" se verificó que después de la primera aplicación de GnRh ocurre la ovulación y/o el inicio de una nueva onda de crecimiento folicular, que resulta en la presencia de un folículo dominante 7 días después, el día de la aplicación de PGF2 α , la luteólisis provocada por esta hace que todos los animales tratados ovalen entre 24 a 32 horas después de la segunda dosis de GnRH; esos resultados demuestran una gran eficiencia del método Ovsynch en la sincronización de ovulación en bovinos. (Pursley et al, 1995)

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un trabajo con el objetivo de comparar dos diferentes protocolos de Sincronización a tiempo fijo, versus uno de detección de celo en bubalinos. Con tal motivo fue realizado el experimento en un establecimiento localizado en la cercanía de Itatí, provincia de Corrientes. Se formaron tres grupos cada uno con 6 hembras adultas de raza Murrah, Mediterránea o cruce de ambas. En el grupo 1 (GI), un protocolo Ovzinch, el que consistió en el día 0 una dosis de GnRH, de 10 μ gr Receptal® (acetato de buserelina-Hoescht). El día 7 se le aplicó una dosis de PGF2 α , Preloban® (cloprostenol, Hoescht), de 150 mg, y el día 9, la segunda dosis de GnRh. En el grupo 2 (G II) se utilizó el protocolo Ovzinch, similar al anterior, mas 1/2 implante auricular de Crestar®, (Norgestomet) Intervet Argentina, el cual se colocó el día 0 junto con una dosis de 10 μ gr Receptal®, el día 7, se retiró el implante y se le aplicó una dosis de PGF2 α y el día 9, la segunda dosis de GnRh. En tanto que en el grupo 3 (GIII) se inyectó GnRH el día 0, PGF2 α el día 7, a similar dosis que en los grupos anteriores y de allí en adelante se detectó celo, para ello se utilizó una hembra androgenizada para utilizarla como retajo marcador con dispositivo Chin-ball, con pintura amarilla. Posteriormente al primer tratamiento (I-S) se sincronizó el retorno (II-S), que correspondía al día 27 del inicio, con la aplicación de una dosis de GnRH a los tres grupos y el día 34 una dosis de PGF2 α , mientras que el día 36 una segunda dosis de GnRH a

los grupos 1 y 2, siendo que a este último, no se le aplicó el 1/2 implante auricular y con detección de celo al G3. Para evaluar la dinámica folicular durante el tratamiento y el momento de ovulación, las búfalas fueron sometidas a exámenes ultrasonográficos por vía transrectal, fue utilizado para ello un equipo PIE MEDICA®L 485 vet. con transductor transrectal de 8 Mhz. El transductor fue introducido en el recto y movido sobre la superficie del tracto reproductivo para el examen de los ovarios.

Se realizó un análisis de varianza para evaluar diferencias entre grupos, se utilizó el Test de Duncan al 5%, del programa SAS V8 (Statistical Analysis Systems) y el LSMEANS del PROC GLM para tratar el desbalance en el número de datos por grupo.

DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados totales (I-S y II-S) se pueden observar en el siguiente cuadro:

Cuadro N° 1: Grupo, N° de animales, % de ovulación y de celo para I y II-S.

Grupo	N° Animales	I-S % ovulación	II-S % ovulación	I-S % celo	II-S % celo
I	5	60 %	80 %	-	-
II	6	67 %	67 %	-	-
III	6	50 %	100 %	33 %	83 %

El detalle de los resultados obtenidos por grupo, registrando el día de la ovulación en los tres tratamientos se registran en los cuadros 2, 3 y 4 para los GI, GII y GIII respectivamente:

Cuadro N° 2: Características de las hembras del Grupo I.

N°	Carav.	Origen	Raza	CC	C/S cría	I-S Ovulación	II-S Ovulación
1	9	Misiones	Murrah	2,5	c/c	-----	Día 36
2	12	Misiones	Mediterr.	2,5	s/c	-----	Día 39
3	15	Misiones	Mediterr.	3	c/c	Día 12	Día 37
4	33	Misiones	Mediterr.	1,5	c/c	Día 10	-----
5	485	Corrientes	Mediterr.	3	c/c	Día 10	Día 38

Cuadro N° 3: Características de las hembras del Grupo II.

N°	Carav.	Origen	Raza	CC	C/S cría	I-S Ovulación	II-S Ovulación
1	3	Misiones	Mediterr	3,5	c/c	Día 10	Día 40
2	7	Misiones	Mediterr	2,5	c/c	Día 10	Día 37
3	16	Misiones	Mediterr	2,5	c/c	-----	-----
4	19	Misiones	Mediterr	2,5	c/c	-----	Día 37
5	23	Misiones	Mediterr	2	c/c	Día 10	----
6	451	Misiones	Mediterr	3,5	c/c	Día 10	Día 37

Cuadro N° 4: Características de las hembras del Grupo III.

N	Carav.	Origen	Raza	CC	C/S cría	Celo	I-S Ovulación	Celo	II-S Ovulación
1	453	Misiones	Mediterr.	3	c/c	No	-----	Si	Día 40
2	454	Corrientes	Mediterr.	3	s/c	No	Día 10	Si	Día 38
3	474	Misiones	Mediterr.	3	c/c	No	-----	Si	Día 37
4	6	Misiones	Mediterr.	2,5	c/c	Si	Día 12	Si	Día 40
5	31	Misiones	Mediterr.	3	c/c	No	Día 10	No	Día 39
6	36	Misiones	Mediterr.	2	c/c	si	-----	Si	Día 38

En el cuadro N° 5 se registra el momento de ovulación en horas teniendo en cuenta la dosis de PGF2 α , para los GI, GII y GIII.

Cuadro N° 5: Determinación del momento de la Ovulación a partir de la ultima dosis de PGF2 α para I y II-S.

GRUPOS	N	C.C	MOMENTO DE LA OVULACION I-S				MOMENTO DE LA OVULACION II-S			
			>72	>88	> 96	>120	>72	> 88	> 96	>120
GI	5	2.5	2		1		1	1	1	1
GII	6	2.75	1	3			3			1
GIII	6	2.5	2			1	1		2	3

En el cuadro N° 6 se registra el momento de ovulación en horas teniendo en cuenta la ultima dosis de GnRH, para los GI y GII.

Cuadro N° 6: Determinación del momento de la ovulación a partir de la ultima dosis de GnRH para I y II-S.

GRUPOS	N	C.C	MOMENTO DE LA OVULACIÓN I-S				MOMENTO DE LA OVULACION II-S			
			<24	>32	> 48	>56	<24	> 32	> 48	> 56
GI	5	2.5		2		1	1	1		2
GII	6	2.75	1	3			3			1

En el cuadro N° 7 se registra el promedio en horas del momento de ovulación, teniendo en cuenta la ultima dosis de GnRH y PGF2 α , en los tratamientos, para los GI, GII y GIII.

Cuadro N° 7: Momento de ovulación (hs) a partir de la ultima dosis de GnRH y PGF2 α para GI, GII y GIII en I y II-S.

Grupo	Promedio de hs de la ovulación a la 2° GnRh		Promedio de hs de la ovulación a la PGF2 α	
	I-S	II-S	I-S	II-S
I	51,3 \pm 16	50 \pm 15	91,3 \pm 16	97,2 \pm 15
II	29,3 \pm 4	55 \pm 17	81 \pm 2	102,7 \pm 17
III	-----	-----	99,7 \pm 15	124,7 \pm 3

El intervalo en horas entre la aplicación de la segunda GnRH en I-S y la ovulación para los GI y GII fue de 39 \pm 8 hs. También fue posible corroborar que los animales del GI presentaron un mayor intervalo que el GII (GI 51,3 \pm 16 hs, GII 29,3 \pm 4 hs), mostrando un coeficiente de variación (CV) de 49 % , el cual es muy alto, principalmente debido a que una hembra ovulo muy tardíamente (vaca N° 15), no existiendo diferencias significativas entre los grupos (P > 0,05). Cuando comparamos estos resultados con los obtenidos por Baruselli (2001), quién registra un intervalo entre tratamiento y ovulación de 33,9 \pm 4,9 hs, el que fue en promedio ligeramente inferior a nuestros datos. En tanto cuando se sincronizó el retorno (II-S), el intervalo entre la aplicación de la segunda GnRH y la ovulación para los GI y GII fue de 52,5 \pm 11 hs. También fue posible corroborar que los animales del GI presentaron un menor intervalo que el GII (GI 50 \pm 15 hs - GII 55 \pm 17 hs), mostrando un CV de 62 %, muy superior al del primer retorno, en este caso hubo una vaca que tuvo un período muy largo (108 Hs.), destacando que esta misma hembra había tenido en la I-S, el menor tiempo. En esta segunda etapa tampoco se registraron diferencias significativas (P> 0,05).

En tanto, el intervalo en horas entre la aplicación de la PGF2 α en I-S y la ovulación para los GI, GII y GIII fue de 89,7 \pm 5 hs. También fue posible corroborar que en los animales del GIII, se observó un mayor intervalo que el GI y GII (GI 91,3 \pm 16 hs; GII 81 \pm 2 hs, GIII 99,7 \pm 15 hs), (P > 0,05). Mientras que en el retorno (II-S), el intervalo entre la aplicación de la PGF2 α y la ovulación para los GI, GII y GIII en media fue de 110,5 \pm 8 hs. De igual manera fue posible comprobar que los animales del GIII mostraron un mayor intervalo que el GI y GII (GI 97,2 \pm 15 hs - GII 102,7 \pm 17 hs - GIII 124,7 \pm 3 hs) mostrando que el GIII es diferente con un α = 0.197 al GI con un CV de 28 %.

De los animales tratados se observa una tasa de ovulación del 60, 67 y 67 % para los GI, GII y GIII para el I-S respectivamente. Estos datos se presentan similares a los obtenidos por Baruselli, 1998, en el sur del estado de San

Pablo, Brasil, en búfalas en ordeño, donde obtuvo una tasa ovulatoria de 68,7 %, usando el método Ovzinch. En tanto en II-S la tasa de ovulación observada fue de 80%, 67% y 100% para los GI, GII, y GIII respectivamente.

Cuando se evaluó la relación existente entre la C.C y la ovulación, no hubo asociación para estas dos características, ($P > 0,05$) pues la vaca N° 3, del GII, tenía muy buena C.C. y ovuló en I-S, de forma rápida y en II-S muy tardíamente. Por otro lado la ecografía, en el caso del GIII, detecto en I-S, un 50% de ovulación aunque hubo sólo un 33% de hembras detectadas en celo, en tanto para el mismo grupo en II-S, sobre un total de hembras en celo del 83%, a la ecografía se observó que habían ovulado todas, es decir que el método de detección de celo en búfalas posee errores que se pueden catalogar como de muy importantes, demostrando la importancia de la utilización del Ecógrafo.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos demuestran:

- Que es posible en búfalos la utilización de protocolos a tiempo fijo, con el auxilio de la ultrasonografía, acortando el excesivo tiempo que demanda la detección de celo, la cual es dificultosa por el comportamiento de la especie.
- En relación al momento de ovulación, los datos obtenidos son coincidentes con aquellos de la bibliografía para animales lecheros, además se hace necesario lograr determinar la gran variación en horas de la ovulación en vacas del mismo grupo.
- Sería aconsejado la realización de nuevos trabajos en esta área, para poder concluir con mayor certeza.

BIBLIOGRAFIA

- BARUSELLI, P.S. Atividade ovariana e comportamento reprodutivo no período pós-parto em búfalos (*bubalus bubalis*). São Paulo, 1992, 99p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de medicina veterinária e zootecnia, Universidade de São Paulo.
- BARUSELLI, P.S. Basic requirements for artificial insemination and embryo transfer in buffaloes. Buffalo J., Supl. 2, p. 53-60, 1994a
- BARUSELLI, P.S. Reproducao de bubalinos. Anais: I Simposio Brasileiro de Bubalinocultura. Cruz das Almas- BA, p 117-153, 1996.
- BARUSELLI, P.S. Folliculogenesis in buffalo. *Bubalus bubalis*, v.4, p. 79-92, 1997. (supplement 4)
- BARUSELLI, P.S. Novos avanços na reprodução bubalina. In: Baruselli, P.S., (ed). A bubalinocultura brasileira: situação actual e perspectives. ABCB: Sao Paulo, p 77-138 1998.
- BARUSELLI, P.S. Sincronização da ovulação com GnRh e Prostaglandina F_{2α} para inseminação artificial em tempo fixo em bubalinos. Tese apresentada a Faculdade de Medicina Veterinaria e Zootecnia da Universidade de Sao Pulo. P 52-57, 2001.
- CRUDELI, G.A.; MALDONADO VARGAS, P.; FLORES BARBARAN, S.M.; "reproduction of buffaloes in the northeastern of argentine", v congresso mundial de bufalos, 13 al 16 de octubre de 1997. P. 779-782. Caserta, Italia.
- DRIANCOURT, M.A. regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, v. 55, p. 1211-1239, 2000.
- DROST, M. Reproductive technology in buffaloes (*bubalus bubalis*). *Bulgarian journal of agricultural science*, v.2, p.93-102, 1996.
- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*, v.28, p.929-36, 1987c.
- PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ and GnRh. *Theriogenology*, v. 44, p. 915-923, 1995.