

Capítulo LXXXIII

IATF de búfalas en el edo. Cojedes, Venezuela. Resultados y perspectivas

Gabriela Pérez Rondón
M^a Virginia Suárez Novoa

La producción bufalina juega un importante rol en la ganadería a nivel mundial, especialmente en sistemas agrícolas de países en vías de desarrollo. En la actualidad, existe elevado interés en la producción de búfalos como recurso para aumentar la cantidad de proteína de origen animal que proporciona su carne, leche y sus derivados. Como consecuencia, diferentes estrategias están siendo utilizadas para optimizar la producción en esta especie, la cual es considerada como un animal de triple propósito, por producir leche, carne y trabajo (Ranjhan, 2007).

La creciente demanda nacional de leche, carne y la necesidad de reducir los costos de producción hace imprescindible adoptar estrategias de planificación orientada a optimizar la producción de la explotación. Una de las características fundamentales que cada finca debe buscar en la actualidad, es obtener en breve tiempo, un significativo mejoramiento genético, que le permita ser competitiva en el mercado con productos de calidad, de acuerdo con las exigencias del consumidor.

La Biotecnología de la Reproducción es uno de los productos más emblemáticos de la investigación aplicada en el campo de ciencias de la vida y de la producción animal. Una serie de nuevas tecnologías han contribuido de manera decisiva a la evolución de la cría en los últimos 60 años (Thibier, 2005). La aplicación biotecnológica permite alcanzar los objetivos de mejora planteados en las unidades de producción, a corto y mediano plazo, razón por la cual debemos aprovechar su aplicación tecnológica para acelerar el mejoramiento genético productivo y reproductivo en la especie bufalina.

La Inseminación Artificial (IA) ha permitido la introducción de genotipos deseados, en menor tiempo, contribuyendo al mejoramiento genético de la población en diferentes especies (Leboeuf *et al.*, 1998; Drost *et al.*, 1999; Samper, 2001; Singleton, 2001). Sin embargo, en las búfalas los intentos realizados hasta ahora, han puesto en evidencia una serie de dificultades al tratar de implementar algunas biotecnologías en esta especie, la cual posee características fisiológicas y reproductivas diferentes a las

del vacuno (Drost, 2007). En primer lugar, se mantiene una fuerte tendencia a la estacionalidad reproductiva de los búfalos, la que origina que los partos se concentren en períodos de días cortos (fotoperiodo negativo) en el caso de los países distantes de la línea ecuatorial debido a la acción de la melatonina, y en la época de mayor oferta forrajera y de menor temperatura, en el caso de países tropicales. En segundo lugar, la alta incidencia de celos sin manifestaciones evidentes (silenciosos), lo cual hace difícil llevar a cabo un programa de IA, incluso aplicando la sincronización del estro (Zicarelli, 2002).

EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE LAS BÚFALAS

Las búfalas de agua son poliéstricas estacionales, con una duración media del ciclo estral de 21 días, con un rango de 18 a 24 días, y una duración media del estro de 18 horas, con un rango entre 5 a 36h (Campanile *et al.*, 2010). En comparación con el ganado vacuno, los signos del comportamiento del celo o estro son menos manifiestos en las búfalas de agua, siendo raro el comportamiento homosexual. Los signos secundarios como la inflamación de la vulva, enrojecimiento de la mucosa vulvar, secreción vaginal y micción frecuente, no son indicadores fiables de estro (Baruselli *et al.*, 2000; Drost, 2007), estando la IA obstaculizada por la débil expresión de los signos del celo (Baruselli *et al.*, 1999).

Una característica reproductiva a ser considerada en las búfalas es la baja incidencia del comportamiento homosexual durante el celo. Solamente el 3,44% demuestra ese comportamiento (Baruselli, 1994), por lo tanto, para una eficiente detección de celo se debe hacer uso de machos receladores provisto de marcadores o chin-ball. De igual manera, la amplia variación en la duración de los celos de las búfalas (6 a 48 horas), dificulta el empleo normal de la IA (Baruselli, 1996).

Una de las estrategias empleadas para optimizar la utilización de la IA en esta especie, es el uso de protocolos para la sincronización del celo y de la ovulación, los cuales permiten una IA a tiempo fijo (IATF), sin la necesidad de la detección del estro (De Rensis & López-Gatius, 2007). Esta biotecnología se fundamenta en la manipulación del cuerpo lúteo (CL), ya sea para inducir luteólisis prematura utilizando prostaglandinas o para prolongar la fase lútea usando progestágenos. En los últimos años, surgió la idea que puede ser necesaria la manipulación más precisa del desarrollo de las ondas foliculares para lograr una mejor sincronía de la ovulación y mejorar la fertilidad. Por esa razón, los investigadores han centrado su atención en la evaluación de programas en los que se administran hormonas como la GnRH, FSH, LH, eCG, hCG, prostaglandinas, progesterona y estradiol (De Rensis & López-Gatius, 2007).

El uso de la progesterona o prostaglandina permite controlar la ovulación, pero no el desarrollo folicular, el cual puede convertirse en un factor limitante para el control preciso de la ovulación. Por esta razón, en el ganado bovino lechero se han desarrollado diferentes sistemas para el control y la inducción del desarrollo folicular (García-Ispuerto *et al.*, 2012). Estos nuevos sistemas se basan en el uso combinado de la GnRH, que modula el reinicio del desarrollo folicular y la PGF_{2α} que controla la luteólisis (protocolo Ovsynch). La GnRH se puede administrar en cualquier día del ciclo, con el fin de inducir la ovulación y/o la luteinización del folículo dominante presente. Esto es seguido por el inicio de una nueva onda de crecimiento folicular, de la

que emerge un nuevo folículo dominante. La administración de PGF_{2α} 6-7 días después de la administración de GnRH produce la luteólisis de todas las estructuras luteales presentes y permite que este nuevo folículo dominante (FD) se desarrolle a folículo preovulatorio. La administración, 48-50 horas más tarde, de GnRH o hCG produce la ovulación del FD y por lo tanto, es posible realizar la inseminación artificial 16-18h después de la segunda inyección de GnRH o hCG sin necesidad de detectar el estro, en una técnica denominada inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) (Thatcher *et al.*, 2002).

Este protocolo ha sido utilizado en búfalas por Baruselli (2001) quien reportó que si el tratamiento se lleva a cabo durante la temporada de reproducción favorable, se alcanza una tasa de gestación comparable a lo reportado en la especie bovina; mientras que si se realiza durante temporada desfavorable a la reproducción, las tasas de gestación serán inferiores al 10%. Una menor fertilidad se observó cuando el protocolo Ovsynch se empleó al azar en búfalas, sin conocimiento previo de la actividad ovárica (Neglia *et al.*, 2003). Además, De Rensis *et al.* (2003, 2005) y Presicce *et al.* (2005) reportaron un aumento en la fertilidad cuando un FD está presente al momento de la primera administración de GnRH. En experiencias previas, los autores del presente trabajo, hemos obtenido tasas variables de fertilidad (entre 29,6% y 66,7%), con un media de 48,7% en búfalas lactantes (Pérez *et al.*, 2008), lo que coincide con lo logrado por Baruselli *et al.* (1999) y siendo muy similar a lo descrito por Crudeli (2002).

En el presente capítulo, se presenta una información preliminar de los resultados obtenidos entre los años 2012-2014, en programas de sincronización de la ovulación en búfalas, realizados, en tres explotaciones ubicadas en los llanos Venezolanos. Los tratamientos fueron agrupados en dos periodos del año, Septiembre-Febrero (P1) considerado como una época más favorable y entre Marzo-Mayo (P2) considerado como una época de transición o desfavorable. Todas las búfalas mestizas de razas Murrah x Mediterráneo incluidas en los programas de sincronización tenían al menos 40 días post-parto, condición corporal de 2,5 a 3,5 en la escala del 1 al 5 (Hegazy *et al.*, 1994), con adecuado manejo sanitario y nutricional, además de contar con muy buen manejo por parte del personal.

Se realizó una evaluación ecográfica utilizando un equipo de ultrasonografía Aloka SSD 500 V, equipado con un transductor lineal transrectal de 5 MHz (Aloka Co. Ltd, Japón), con el fin de observar la presencia de estructuras en el ovario y para el diagnóstico de gestación, 30 días después de la IA. La presencia de un CL fue identificada antes de iniciar los protocolos. Es importante destacar que el protocolo clásico de Ovsynch solo se debe utilizar en búfalas que presenten un cuerpo lúteo funcional (CL) y una buena actividad folicular.

TRATAMIENTOS EN BÚFALAS ADULTAS

Con el objetivo de evaluar diversos tratamientos en condiciones de llano Venezolano y mejorar la fertilidad, en el P1 se implementó el protocolo Ovsynch y dos variantes Ovsynch + GnRH y Ovsynch + eCG en búfalas adultas. Las búfalas sincronizadas con el protocolo Ovsynch + eCG tenían condición corporal de 2,5, razón por la cual se utilizó la hormona eCG en la época favorable.

Las Búfalas, múltiparas (uno o más partos), sincronizadas con el protocolo Ovsynch (n= 43), fueron complementadas con 5 mL de GnRH por vía i.m. (20 µg acetato de buserelina, Conceptal®, Intervet) el día 0 (día aleatorio del ciclo estral), seguido por 25 mg de PGF_{2α} (dinoprost trometamina, Lutalyse®, Pfizer) en el día 7. Una segunda inyección de 2,5 mL de GnRH (10 µg acetato de buserelina, Conceptal®, Intervet) vía i.m se realizó el día 9. Todas las hormonas fueron administradas a las 4:00 pm. Las búfalas fueron inseminadas 16h luego de la segunda administración de GnRH (8:00 am; Fig. 1) con semen congelado de búfalos de probada fertilidad.

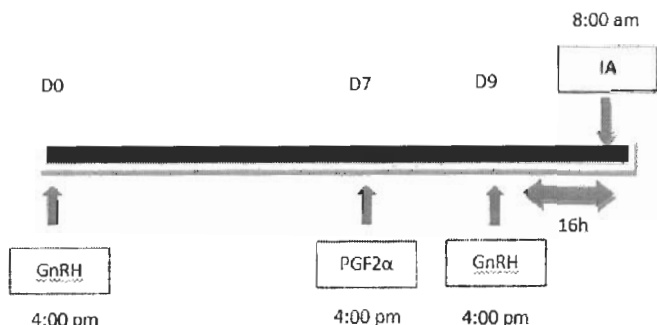


Figura 1. Protocolo de sincronización de la ovulación para IATF (Ovsynch) en el periodo Septiembre-Febrero (P1).

El lote de 43 búfalas sometidas al tratamiento Ovsynch clásico (P1) fueron examinadas para comprobar el estado de gestación 30 días post-inseminación, alcanzando 67,44% de preñez (Datos no publicados). Estos resultados son superiores a los citados por otros autores en Venezuela y el mundo, como 35 a 60% (Araujo Berber *et al.*, 2002; Baruselli *et al.*, 2003; Presicce *et al.*, 2005; Ali & Fahmy, 2007; Pérez *et al.*, 2008; Oropeza *et al.*, 2010; Rossi *et al.*, 2014).

En el P1, se modificaron los protocolos Ovsynch como: Ovsynch + GnRH (n=13; Figura 2) y Ovsynch + eCG (n=39; Figura 3).

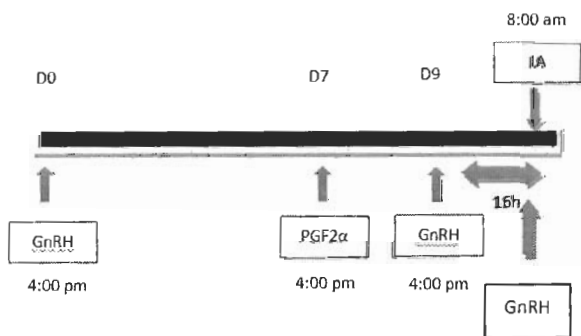


Figura 2. Protocolo de sincronización de la ovulación para IATF (Ovsynch+GnRH) en el periodo Septiembre-Febrero.

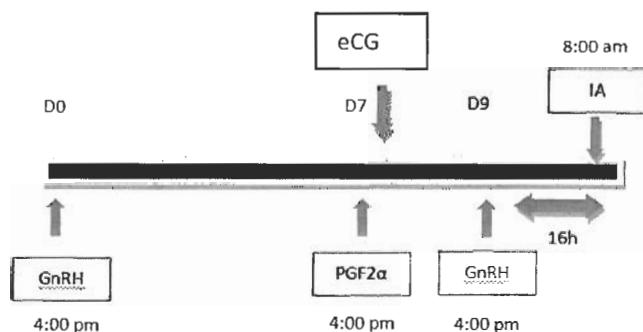


Figura 3. Protocolo de sincronización de la ovulación para IATF (Ovsynch + eCG) en el periodo Septiembre-Febrero.

El diagnóstico de gestación 30 días post-inseminación, reflejó una tasa de fertilidad de 69,23% y 43,59%, respectivamente (Datos no publicados). Esta información preliminar indica que no se justifica la utilización de una dosis de GnRH adicional al comparar la fertilidad con el Ovsynch clásico a pesar de la diferencia de 1,79% de preñez a favor del protocolo Ovsynch + GnRH (Figura 4), considerando el factor costo-beneficio.

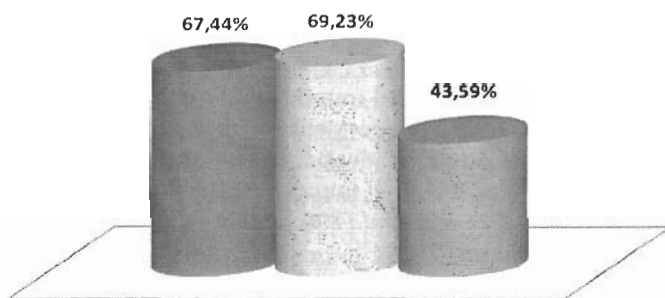


Figura 4. Tasa de concepción seguida a tres protocolos de sincronización de la ovulación para IATF en el periodo Septiembre-Febrero.

En el caso del protocolo Ovsynch + eCG (con una fertilidad de 43,59%) el cual fue utilizado en búfalas con condición corporal 2,5, para favorecer la acción foliculoestimulante de la hormona gonadotrofina coriónica equina (eCG), para inducir el crecimiento folicular y la secreción de estrógeno, favoreciendo la ovulación. Esto sugiere que se debe mejorar el plano nutricional, con el fin de incrementar la condición corporal de las búfalas a ser sincronizadas.

En el período P2 (desfavorable) se empleó la sincronización de la ovulación con el protocolo modificado Ovsynch + eCG (400 UI; Foligon®, Intervet) + GnRH, (n=112, Figura 5), resultando en 55,81% de preñez (Figura 6), siendo estos resultados superiores a los conseguidos por Rossi *et al.* (2014) en periodos de transición y/o desfavorables.

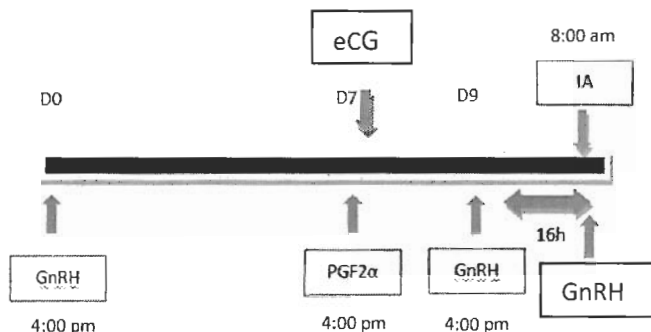


Figura 5. Protocolo de sincronización de la ovulación para IATF (Ovsynch+eCG+GnRH) en el período Marzo-Mayo.

La distribución de la fertilidad o tasas de concepción de acuerdo a los meses de aplicación de los tratamientos se señalan en la Figura 7. Se pudo comprobar el movimiento ascendente de los niveles de fertilidad durante el periodo Septiembre-Diciembre que varó entre 40% a 66,67%; este nivel se mantuvo en el mes de Enero (66,7%), para luego descender en el período Febrero-Mayo, entre 62,5% y 30%. Estos datos que difieren de lo reportado por Rossi *et al.* (2014) quienes no encontraron diferencias significativas en la aplicación de sincronización para IATF y la época del año en la cual fue realizada. Estos datos podrían sugerir el marcado efecto que ejerce la disponibilidad de pastos, alimentación y/o manejo de las explotaciones, teniendo presente la ubicación geográfica y el efecto de la cantidad de horas luz/día en el hemisferio norte y en el trópico.

Ovsynch+ eCG+GnRH

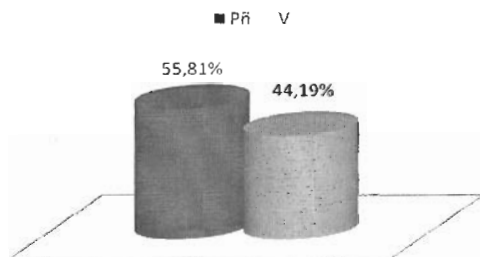


Figura 6. Tasa de concepción del protocolo de sincronización de la ovulación Ovsynch + eCG + GnRH (P2, Marzo-Mayo).

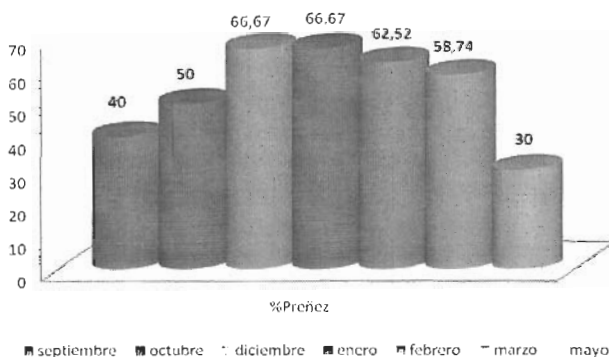


Figura 7. Tasa de preñez según el mes de la aplicación de protocolos de IATF.

TRATAMIENTO EN LAS BUBILLAS

Con el fin de evaluar un protocolo de IATF, se trató un lote de 20 bubillas mestizas Murrah × Mediterráneo, perteneciente a un sistema de cría sin ordeño, con promedio de 2 años de edad, 492,4 kg de peso y condición corporal entre 3,5 y 4 en la escala del 1 al 5 (Hegazy *et al.*, 1994). El trabajo se realizó en el mes de Noviembre durante la época del año favorable para la reproducción de la especie bufalina, utilizando el protocolo Ovsynch, ampliamente descrito en búfalas por Baruselli *et al.* (1999) y Baruselli (2000), modificado para bubillas por Zicarelli (2010, Comunicación personal). El protocolo consistió en administrar una primera dosis de 0,021 mg de GnRH (Conceptal®, Acetato de Buserelina) el día 0, luego el día 7 se administró una segunda dosis de 20 μ g (0,021 mg) de GnRH. El día 14 se aplicó una dosis de 25 mg de prostaglandina F_{2 α} (PGF_{2 α} , Lutalyse®, Dinoprost Trometamina) y el día 16 se administró una tercera dosis de 10 μ g (0,010 mg) de GnRH. Veintidós horas más tarde se llevó a cabo la IA sin detección de celo, en conjunto con la aplicación de una dosis de 10 μ g (0,010 mg) de GnRH al momento de la inseminación. Las hormonas fueron aplicadas siempre a la misma hora del día durante el protocolo (10:00 h), a excepción de la última dosis de GnRH. Se utilizó semen proveniente del mismo butoro para todo el lote. El diagnóstico de gestación fue realizado el día 27 post inseminación mediante la técnica ultrasonográfica (ALOKA SSD-500, 5 MHz), obteniéndose 65% de preñez (Perez *et al.*, 2011).

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos concluir que los protocolos de sincronización de la ovulación deben ser aplicados de acuerdo a las condiciones climatológicas de cada explotación, con un excelente nivel nutricional y por ende, con una buena condición corporal. Debe ser manejado por personal capacitado para tal fin, con las medidas higiénicas ideales y optimizando al máximo el tiempo de aplicación de las hormonas. El semen a utilizar debe ser de animales probados, recomendando revisar la vitalidad del semen antes de aplicarlo. Debemos hacer énfasis en el manejo de los animales, para que no sean sometidos a mucho estrés; en el caso particular de las bubillas, se deben pasar muchas veces por la manga de trabajo y ser palpadas, para que se acostumbren; de ese modo, el día de la IATF se encontrarán mucho más tranquilas, lo cual repercute en el manejo de la técnica y en los resultados favorables de fertilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali A, Fahmy S. 2007. Ovarian dynamics and milk progesterone concentrations in cyclic and non-cyclic buffalo cows (*Bubalus bubalis*) during Ovsynch program. *Theriogenology* 68: 23-28.
- Baruselli PS. 1994. Basic requeriments for artificial insemination and embryo transfer in buffaloes. *Buffalo J (Suppl. 2)*: 53-60.
- Baruselli PS. 1996. Reproducao de bubalinos. *Anais 1 Simp Brasil Bubalinocultura. Cruz das almas. Brazil. p 117 (Resumen).*

- Baruselli P. 2000. Comportamento reprodutivo, sincronização do ciclo estral e da ovulação e inseminação artificial em tempo fixo em búfalos. In: Simp intern Búfalos Venezuela, Maracaibo. Memorias 65 pp. CD ROOM.
- Baruselli PS. 2001. Sincronizacao da ovulacao com GnRH e prostaglandina F_{2α} para inseminação artificial em tempo fixo em bubalinos. Tese Faculdade de Medicina Veterinaria e Zootecnia da Universidade Sao Paulo. 52 pp.
- Baruselli PS, Madureira EH, Visintin JA, Barnabe VH, Barnabe RC, Amaral R. 1999. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. Rev Bras Reprod Anim 23: 360.
- Baruselli PS, Madureira EH, Barnabe VH, Barnabe RC, Berber RCA, Amaral R. 2000. Timed insemination using synchronization of ovulation in buffalo. Proc 14 Intern Cong on Anim Reprod. Estocolmo vol 2: 4-18.
- Baruselli PS, Maduriera EH, Barnabe VH, Barnabe RC, de Araujo-Berber RC. 2003. Evaluation of synchronization of ovulation for fixed timed insemination in buffaloes (*Bubalus bubalis*). Braz J Vet Res Anim Sci 40: 431.
- Campanile G, Baruselli P S, Neglia G, Vecchio M, Gasparrini B, Gimenes LU, Zicarelli L, D'occhio M J. 2010. Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. Anim Reprod Sci. Dio:10.1016/j.anirerosci.2010.03.2010.03.012.
- Crudeli GA, Pellerano GS, Torres G, Maldonado P, Rieszer N, Rodriguez S. 2002. Evaluación de diferentes protocolos de sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo versus celo detectado en búfalos en el nea argentino. Comunicaciones científicas y tecnológicas. Unne. 035:11.
- de Araujo-Berber RC, Maduriera HE, Baruselli PS. 2002. Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed time insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). Theriogenology 57: 1421.
- De Rensis F, López-Gatius F. 2007. Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): a review. Theriogenology 67: 209.
- De Rensis F, Ronci G, Guarneri P, Ubaldi A, Nguyen BX, Presicce GA. 2003. Fertility of buffalo cows following synchronization and timed artificial insemination according to the ovarian status. Proc II Congresso Nazionale sull'Allevamento del Bufalo, Monterotondo, Italy, 28-30 Aug, pp. 297-300.
- De Rensis F, Ronci G, Guarneri P, Nguyen BX, Presicce GA, Huszenicza G, Scaramuzzi RJ. 2005. Conception rate after fixed time insemination following ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and noncyclic Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). Theriogenology 63: 1824-1831.
- Drost M. 2007. Bubaline versus bovine reproduction. Theriogenology 68: 447.
- Drost M, Ambrose JD, Thatcher MJ, Cantrell CK, Wolfsdorf KE, Hasler JF, Thatcher WW. 1999. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. Theriogenology 52 (7): 1161.
- Garcia-Ispuerto I, López-Helguera I, Martino A, López-Gatius F. 2012. Reproductive performance of anoestrous high-producing dairy cows improved by adding equine chorionic gonadotrophin to a progesterone-based oestrous synchronizing protocol. Reprod Dom Anim 47 (5): 752.
- Hegazy M, Essawy S, El-Wishy A, Youssef A, Vale W, Barnabé V, Mattos J. 1994. Effect of body condition score on reproductive performance of buffaloes. In: 4 World Buffalo Cong Proc. São Paulo. 3: 630.

- Leboeuf B, Manfredi E, Boue P, Piacère A, Brice G, Baril G, Broqua C, Humblot P. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest Prod Sci* 55 (3): 193.
- Neglia G, Gasparrini B, Caracciolo de Brienza V, Di Palo R, Campanile G, Presicce G A, Zicarelli L. 2003. Bovine and buffalo in vitro embryo production using oocytes derived from abattoir ovaries or collected by transvaginal follicle aspiration. *Theriogenology* 59: 1123-1130.
- Oropeza AJ, Rojas AF, Velazquez MA, Muro JD, Márquez YC, Vilanova LT. 2010. Efficiency of two timed artificial insemination protocols in Murrah buffaloes managed under a semi-intensive system in the tropics. *Trop Anim Health Prod* 42 (6):1149. doi: 10.1007/s11250-010-9539-9. Epub 2010 Apr 2.
- Perez G, Diaz T. 2008. IV Simposio Búfalos de las Américas. Mérida. Venezuela.
- Pérez G, Zicarelli L, León R, Fernández A, Díaz T, Serrano C. 2011. Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en Bubillas (*Bubalus bubalis*). VII Congreso de Ciencias Veterinarias. Maracay. Venezuela.
- Presicce GA, Senatore EM, De Santis G, Bella A. 2005. Follicle turnover and pregnancy rates following estrous synchronization protocols in Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Reprod Dom Anim* 40: 443.
- Ranjhan SK. 2007. Buffalo as a social animal for humanity. *Ital J Anim Sci*. 6 (Suppl 2): 30-38. IN: X Proc 8th World Buffalo Congress, Caserta, October 19, 2007.
- Rossi P, Vecchio D, Neglia G, Di Palo R, Gasparrini B, D'Occhio MJ, Campanile G. 2014. Seasonal fluctuations in the response of Italian Mediterranean buffaloes to synchronization of ovulation and timed artificial insemination. *Theriogenology* 82: 132.
- Samper JC. 2001. Management and fertility of mares bred with frozen semen. *Anim Reprod Sci* 68 (3-4): 219.
- Singleton WL. 2001 State of the art in artificial insemination of pigs in the United States. *Theriogenology* 56 (8): 1305.
- Thatcher WW, Moreira F, Pancarci SM, Bartolome JA, Santos JE. 2002. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Dom Anim Endocrin* 23 (1-2): 243.
- Thibier M. 2005. The zootechnical applications of biotechnology in animal reproduction: current methods and perspectives. *Reprod Nutr Dev* 45: 235.
- Zicarelli L. 2002. Advanced reproductive technologies for improving buffalo production. Proc 1st Buffalo Symposium of Americas. September 1-8. Belém, Pará, Brazil pp. 186.