

REUTILIZACION DE DISPOSITIVO INTRAVAGINAL (DIB 0,5 g) EN NOVILLAS LECHERAS, POSTERIOR A LA INSEMINACIÓN.

Reuse of Intravaginal Device (IDB 0.5g) in Dairy Heifers, Post Insemination

Fátima Graciela Arteaga-Chávez ^{1*}, Ernesto Antonio Hurtado, Edwin Darío Velásquez-Zambrano, Jorge Ignacio Macías Andrade y Javier Horacio Zambrano-Zambrano

¹Departamento de Biología Molecular, Carrera de Medicina Veterinaria, Escuela Superior Politécnica de Manabí, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 vía Calceta – Morro – El Limón Sector El Gramal, provincia de Manabí, Ecuador. * Teléfono 593-995579569. Correo electrónico: fatimitaespa@yahoo.es

RESUMEN

Con el objetivo de valorar la eficacia de la adición de progesterona (P4) exógena mediante la re inserción post inseminación artificial de un dispositivo intravaginal (DI) para la reducción de muerte embrionaria, como estrategia para incrementar la tasa de preñez se seleccionaron novillas mestizas (Gyr, Pardo Suizo y Holstein), con pesos entre 300 y 350 kg, sometidas a iguales condiciones de manejo sanitario y alimenticio. Se utilizaron 40 animales, los cuales fueron sincronizadas con P4 dispositivo intravaginal bovino (DIB) de acuerdo al protocolo; inseminadas a tiempo fijo entre 53 a 54 horas post retiro del implante. Los animales se distribuyeron en dos grupos: la re inserción del dispositivo vaginal (DIB 0,5 g) a los siete días (d) después de la inseminación con el retiro 10 d después (T1) y sin re inserción DI (T2, testigo). La preñez se diagnosticó mediante ecografía trans-rectal al d 30 y se confirmó al d 60 por palpación rectal. Se tomaron muestras de sangre a nivel de la vena yugular a cinco novillas del T1 en los d 7; 12 y 17 post inseminación, para medir los niveles de P4 plasmática. Se realizó prueba de Ji-cuadrado (X^2) para el porcentaje de preñez a los 30 y 60 d. Los resultados alcanzados en el porcentaje de preñez fueron 60% para el T1 y 50 % para el T2, en 30 y 60 d. El promedio de P4 fue de 8,33 ng /mL en T1. Se concluye que la adición de P4 utilizada mediante un dispositivo 0,5 g utilizado siete d post inseminación artificial, en novillas no tiene efecto significativo para reducir la muerte embrionaria.

Palabras clave: Implante; tasa de preñez; sincronización de celo; progesterona; reproducción.

ABSTRACT

In order to assess the effectiveness of the addition of progesterone (P4) exogenous by post artificial insemination of an intravaginal device (ID) for reducing embryonic death reintegration as a strategy to increase the pregnancy rate crossbred heifers were selected (Gyr, Brown Swiss and Holstein), weighing between 300 and 350 kg, subject to the same conditions of health and food handling. 40 animals, which were synchronized with P4 intravaginal bovine device (IBD) according to the protocol used; inseminated at fixed time between 53 to 54 hours after implant removal. The animals were divided into two groups: the reintegration of the vaginal device (IBD 0.5 g) at seven days (d) after insemination with retirement after 10 d (T1) without reintegration DI (T2, control). Pregnancy was diagnosed by trans-rectal ultrasound to d 30 and confirmed by rectal palpation 60 d. Blood samples from the jugular vein level five T1 heifers in d 7 were taken; 12 and 17 post insemination, to measure plasma levels P4. Chi-square test (X^2) is performed for the pregnancy rate at 30 and 60 d. The results achieved in the pregnancy rate was 60% for T1 and 50% for T2, 30 and 60 d. The average was 8.33 P4 ng / mL in T1. It is concluded that the addition of P4 used by a device on seven 0.5 g d post AI in heifers has no significant effect in reducing embryonic death.

Key words: Implant; pregnancy rate; estrus synchronization; progesterone; reproduction.

INTRODUCCIÓN

La situación económica mundial requiere de prácticas de manejo eficaces para mejorar la rentabilidad de los establecimientos de producción de leche. Aunque los sistemas de manejo de los rebaños lecheros comerciales difieren en distintas partes del mundo, el objetivo reproductivo principal es preñar a las vacas lecheras lo más rápido posible después del parto [10]. Sin embargo, el desempeño reproductivo ha disminuido progresivamente, debido principalmente a la disminución de la fertilidad de las vacas de leche y a la detección ineficiente de los celos en la mayoría de los sistemas de manejo [10, 21].

Lucy citado por Lluén [11] menciona que la fertilidad reducida es preocupación de ganaderos, investigadores y profesionales afines por representar un agravante en la ganadería bovina (*Bos taurus* y *Bos indicus*); por ejemplo, en Estados Unidos ha disminuido el porcentaje de concepción en los últimos 40 años; así en 1951, se lograba preñar el 65% de las vacas servidas, mientras que en el 2000 se obtiene menos de 40%. La baja fertilidad ha coincidido con un incremento en la producción de leche.

La alta mortalidad embrionaria es la principal causa del intervalo entre los nacimientos, en el ganado bovino. La mayoría de las muertes ocurren durante el período embrionario de la gestación (<45 d) [15-17] y según Wathes [20], la mayoría de estas pérdidas embrionarias se producen en los primeros días después de la fecundación y durante la implantación del embrión.

De acuerdo a la literatura, la baja fertilidad se indicaba sólo a las vacas repetidoras con más de tres servicios infértiles. Sin embargo, actualmente se sabe que este problema es crítico desde el primer servicio, en el cual con frecuencia el porcentaje de concepción no supera el 30%. Morales citado por Lluén [11] reporta que se han observado vacas altas productoras de leche, con bajas concentraciones séricas de progesterona (P4) lo cual se asocia con la sub fertilidad.

Con el empleo de los dispositivos intravaginales bovinos (DIB) se pretende minimizar estos problemas reproductivos, es así como Bó y col [4], mencionan que la P4 liberada por el DIB es estructuralmente idéntica a la endógena y tiene un rol importante sobre la dinámica folicular ovárica de los niveles supraluteales (> 1 ng/mL) obtenidos a los pocos minutos de la introducción del dispositivo, que provocan la regresión del folículo dominante y aceleran el recambio de las ondas foliculares. El cese de la secreción de productos foliculares (Estrógeno e Inhibina) produce el aumento de la hormona folículo estimulante (FSH) que va a ser la responsable del comienzo de la emergencia de la siguiente onda folicular.

Brito [2] indica que la aplicación de P4 mediante el uso de una unidad nueva del dispositivo intravaginal, 9 d post inseminación y

con permanencia de 7 d, incrementa el porcentaje de preñez en las vacas Holstein mestizas con una condición corporal de 2,5 a 3,5 en una escala de 1 al 5, obteniéndose un incremento del 38,9%.

Mientras que Baruselli y col. [1] y Bó y col. [3] indican que, la utilización de 400 UI de gonadotropina corionica equina (eCG) al momento de retirar el dispositivo de liberación de P4, dio como resultado un aumento en la concentración de P4 en plasma y en la tasa de preñez en vacas con cría al pie, tratadas durante el anestro posparto (vacas repetidoras de servicio).

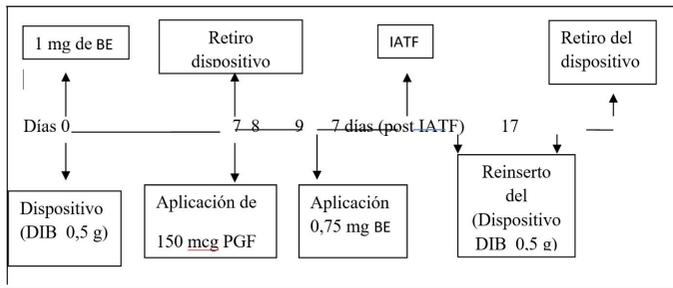
Estas referencias bibliográficas son punto de partida para valorar la eficacia de la adición de P4 exógena mediante la reinserción post inseminación artificial (PIA) de un dispositivo intravaginal (DI) que permita reducir la mortalidad embrionaria, como estrategia para incrementar la tasa de preñez.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la hacienda Pambilar ubicada en el cantón El Carmen de la provincia de Manabí, Ecuador, que presenta una altitud entre 300 a 400 m.s.n.m, temperatura promedio de 24,3°C y precipitación promedio anual de 2846 mm. Con un clima seco en el mes de mayo a diciembre y uno húmedo, desde enero a mayo. [7].

Se utilizaron 40 novillas mestizas Gyr, Pardo Suizo y Holstein, con pesos entre 300 y 350 kg con condiciones corporales categorizadas como buenas (> a 3), previamente sometidas a un chequeo ginecológico (30 d antes), con el fin de escoger las que estaban en condiciones óptimas para la reproducción, de una población de 78 animales, de la misma manera se hizo el control sanitario, aplicación de vitaminas correspondientes, todas fueron mantenidas en las mismas condiciones de manejo y alimentación con pastoreo en pasto Saboya (*Panicum máximum*). La selección de las hembras para integrar los dos tratamientos bajo estudio (T1 con y T2 sin reinserción) se realizó al azar.

Una vez seleccionadas, éstas fueron sincronizadas con progestágeno DIB (dispositivo de silicona inerte impregnado con 0,5g de progesterona natural de liberación controlada), se utilizó el protocolo: benzoato de estradiol 1 mg al inicio (d 0) conjuntamente con el dispositivo intravaginal DIB 0,5 g; el d siete se retiró el dispositivo DIB y se inyectó 150 mcg de prostaglandina (PGF₂α); 24 horas (h) post retiro se aplicó 0,75 mg de benzoato de estradiol. En ambos tratamientos, la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se realizó entre las h 53 a 54 post retiro del DIB, a las 20 novillas del tratamiento se les reinsertó (DIB 0,5 g) reutilizado a los siete d después de la inseminación y se retiró a los 17 d después de la reinserción, los animales testigo solo se inseminaron (FIG. 1).



T1. ESQUEMA DEL PROTOCOLO UTILIZADO DIB: DISPOSITIVO INTRAVAGINAL BOVINO BE: BENZOATO DE ESTRADIOL PGF: PROSTAGLANDINA F2A TF: INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO

Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular (8 mL) a cinco novillas del tratamiento con re inserción en los d 7,12 y 17, post inseminación, para medir los niveles de P4 plasmática (prueba de ELISA), con el fin de obtener datos que fueron comparados con parámetros normales, teniendo en cuenta que con esta variable se evaluó, si la reutilización del dispositivo de progesterona (DIB 0,5 g) siete d post IA eleva los niveles de P4 durante el tratamiento como fuente adicional de P4 exógena para reducir el porcentaje de muerte embrionaria. La determinación de P4 se realizó de acuerdo a los procedimientos mencionados por Roa y col. [14].

Para obtener las observaciones de preñez se realizó en ambos tratamientos el diagnóstico mediante ecografía transrectal (ecógrafo Ibex. Pro, LCD, España) al d 30 y se confirmó al d 60 por palpación rectal. Dicha variable fue analizada con la prueba de Ji-cuadrado (X^2) mediante la tasa de preñez a los 30 d, por medio del programa estadístico InfoStat [8].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Valoración de la eficacia de la re inserción del dispositivo intravaginal mediante la tasa de preñez a los 30 d

En la TABLA 1 se observan los porcentajes de preñez a los 30 d cuando se aplica el dispositivo (DIB 0,5g). El mayor promedio obtenido fue para T1 (con re inserción). Sin embargo, la prueba estadística X^2 no detecto diferencias significativas ($P > 0,05$), con el tratamiento control (T2), o sea, se sugiere la reutilización de un dispositivo intravaginal (DIB 0,5 g), siete d post IA, no tiene efecto sobre la tasa de preñez.

**TABLA I
PORCENTAJE DE PREÑEZ (PP) A LOS 30 DÍAS EN NOVILLAS TRATADAS CON DISPOSITIVO (DIB 0,5 G)**

Tratamientos	N	PP (%)
T1 (con re inserción)		60,00
T2 (sin re inserción)	20	50,00
P =	20	0,5250 ns

N: número PP: porcentaje de preñez ns: no significativo ($P > 0,05$).

Estos resultados, son diferente a los reportados por Flores y col. [5] quienes encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos con implante y sin implante.

Igualmente son diferentes a los encontrados por Larson y col. [9], los cuales demostraron que el tratamiento con dispositivo de aplicación intravaginal a base de P4 al 1,9g aumentó las concentraciones circulantes de P4 en los animales tratados frente a los animales control, encontrando al d cuatro 0,7 ng/mL ($P < 0,05$) y mayor tasa de preñez del 35% (22/63) al 48% (32/67) ($P = 0,068$). El efecto del tratamiento fue mayor en vacas de primera lactancia y la segunda, donde las tasas de preñez eran un 33% (18/55) en los controles y el 51% (31/61) en los animales tratados ($P = 0,03$).

Valoración de la eficacia de la re inserción del dispositivo intravaginal mediante tasa de preñez a los 60 d

Al d 60 el porcentaje de preñez se mantuvo igual en ambos tratamientos previo al diagnóstico que se realizó a través del chequeo por palpación rectal. Las novillas confirmadas preñadas a los 30 d continuaron en la misma condición a los 60 d, lo cual indica que en este lapso de tiempo no existió muerte embrionaria, con lo que se ratifica la misma diferencia en el porcentaje de preñez entre los tratamientos ($P > 0,05$) a los 60 d post inseminación (TABLA II).

**TABLA II
PORCENTAJE DE PREÑEZ (PP) A LOS 60 DÍAS EN NOVILLAS TRATADAS CON DISPOSITIVO (DIB 0,5 G)**

Tratamientos	N	PP (%)
T1 (con re inserción)		60,00
T2 (sin re inserción)	20	50,00
P =	20	0,5250 ns

N: número PP: porcentaje de preñez ns: no significativo ($P > 0,05$).

Si bien no hay diferencia en la tasa de preñez, los porcentajes se encuentran dentro del promedio (aceptables $> 50\%$) para estas condiciones. Esta respuesta animal podría estar condicionada a que son animales que recién inician su vida reproductiva con condiciones corporales óptimas y sin estar en producción.

Lo anterior permite hacer referencia a lo señalado por Wiltbank y col. [21] quienes mencionan que los cuerpos lúteos de las vacas lactantes suelen ser de mayor tamaño que los de las novillas (5400 vs 800 mm³, respectivamente). Sin embargo, la concentración de P4 en sangre suele ser inferior en las vacas lactantes, que en las novillas. Esta observación podría explicarse por una menor producción de P4 por gramo de CL en las vacas lactantes que en las novillas.

Determinación del nivel de P4 sérica durante la re inserción del dispositivo (DIB 0,5 g)

El promedio general de P4 en plasma sanguíneo del d 7 al 17 en las novillas tratadas con el dispositivo fue de 8,33 ng/mL; estos valores están dentro de las concentraciones para vacas

preñadas tal como lo reportan diversos autores [3, 12, 18, 19]. Se observa en la TABLA III la concentración de P4 en plasma sanguíneo en novillas tratadas con reinserción de dispositivo, existiendo una variación entre los d. Sin embargo, no se detectó diferencias significativas entre estos ($P > 0,05$).

Pinto y Chacón [13] argumentan, que las concentraciones medias de P4 en vacas gestantes oscilan entre 7,87 – 20,30 ng/mL. Según Holý [6], estas variaciones se deben posiblemente, a que durante la gestación de la hembra bovina; otros órganos como la placenta y las glándulas suprarrenales producen P4, por lo que a medida que avanza la gestación los niveles de P4 periférica tienden a aumentar, mientras que en la vena ovárica disminuyen.

TABLA III
CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA EN PLASMA SANGUÍNEO (NG/ML) EN NOVILLAS TRATADAS CON REINSERCIÓN DE DISPOSITIVO (DIB 0,5 G) A 7, 12 Y 17 DÍAS POST INSEMINACIÓN

Número de Novillas	Días		
	7	12	17
1	11,43	2,57	3,83
2	4,26	13,78	11,37
3	9,14	1,14	2,06
4	13,81	4,35	8,01
5	13,04	9,81	5,41

CONCLUSIÓN

La reutilización de un dispositivo intravaginal (DIB 0,5 g) como tratamiento para reducir muerte embrionaria entre los d 7 al 17 PIA no tuvo efecto significativo sobre el porcentaje de preñez en novillas. Además la concentración promedio de P4 durante el tratamiento evaluado se encuentra entre los rangos normales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BARUSELLI, P.; REIS, E.; MARQUES, M.; NASSER, L.; BÓ, G. The use of treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Anim. Reprod. Sci.** 82-83: 479-486. 2004.
- [2] BRITO, M. Efecto de la progesterona post inseminación en vacas Holstein post parto. En: **Reproducción Animal**. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Cuenca Azuay, EC. Tesis de Grado. 46. pp. 2013.
- [3] BÓ, G.; CUTAIA, L.; SOUZA, A.; BARUSELLI, P. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. In: **Proceedings of the 3th International Symposium on Animal Reproduction Applied**. Londrina, Brazil. 3-4/8. Pp 95-110. 2008.
- [4] BÓ, G.; CUTAIA, L.; TRIBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. **Taurus** 14: 10-21. 2002.
- [5] FLORES, E.; VEGA, J.; TELLO, V. Efectos del uso de un progestágeno (CIDR-B), tempranamente post - inseminación a tiempo fijo en la fertilidad de vacas lecheras alta productoras 2007. APPA-ALPA. Cuzco, Perú. En línea. http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/120-FLORES-CIDR.pdf. 23/03/2106.
- [6] HOLÝ, L. Introducción al proceso del examen de la fertilidad de la hembra y del macho. En: **Biología de la reproducción bovina**. 3ª Ed. Editorial Científico-Técnica, La Habana, Cuba. Pp 172-173. 1987.
- [7] GOBIERNO NACIONAL DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR. CANTÓN EL CARMEN. Gobierno autónomo descentralizado (GAD) El Carmen. 2012. En Línea. <http://www.elcarmen.gob.ec/carmen/index.php/extras/04/03/2016>.
- [8] INFOSTAT. Software estadístico. Universidad Nacional de Córdoba. Versión 5.0 2015.
- [9] LARSON, S.; BUTLER, W. AND CURRIE, W. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. **Anim. Reprod. Sci.** 102(1):172-179. 2007.
- [10] LUCY, M.; MCDUGALL, S.; NATION, D. P. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. **Anim. Reprod. Sci.** 82: 495-512. 2004.
- [11] LLUÉN, B. Causas de Infertilidad en Vacas Lecheras. 2008. Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria de San Marcos (SIRIVS). En línea. http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/infertilidad_lluen.pdf. 16/01/2016.
- [12] MARAÑA, D.; CUTAIA, L.; PERES, L.; PINCINATO, D.; BORGES, L.; BÓ, G. Ovulation and pregnancy rates in postpartum *bos indicus* cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate, with or without ecg and temporary weaning. **Reprod. Fertil. and Develop.** 18(2):116-117. 2005.
- [13] PINTO, M.; CHACÓN, R. Comparación de las concentraciones plasmáticas de Progesterona en vacas implantadas con dispositivos intravaginales y vacas gestantes. 2009. En línea. <http://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/416>. 27/02/2016.
- [14] ROA, N.; LINARES, T.; BARRIOS, D.; DE ROLO, M.; TAMASAUKAS, R. Determinación de progesterona plasmática por el método de ELISA en receptoras de embriones bovinos. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. VII:(2). 133-138. 1997.
- [15] SREENAN, J.; DISKIN, M.; MORRIS, D. Embryo survival rate in cattle: a major limitation to the achievement of high fertility. **BSAS Occasional Publ.** Vol. 1:(26). 93-104. 2001.

- [16] THATCHER, W.; STAPLES, C.; DANET-DESNOYERS, G.; OLDICK, B.; SCHMITT, E. Embryo health and mortality in sheep and cattle. **J. Anim. Sci.** 72 (Suppl. 3): 16-30. 1994.
- [17] VANROOSE, G.; DE KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryopathogen interactions. **Anim. Reprod. Sci.** 60: 131-143. 2000.
- [18] VENERANDA, G.; FILIPPI, L.; RACCA, D.; CUTAIA, L.; BÓ G. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and GnRH or estradiol benzoate and Ecg. **Reprod. Fertil. Dev.** 20:91. 2008.
- [19] VITTONI, J.; ALLER, J.; OTERO, G.; SCENA, C.; ALBERIO, R.; CANO, A. Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas tratadas con progesterona intravaginal. **Arch. Zoot.** 60(232): 1065-1076. 2011.
- [20] WATHES, D. Embryonic mortality and the uterine environment. **J. Endocrinol.** 134: 321-325. 1992.
- [21] WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GUMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenol.** 65, 17-29. 2006.