

SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN BÚFALAS A TIEMPO FIJO

Alex Angulo, Luz Muñoz, Marco González*, Luz Dary Álvarez.

Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Reproducción animal. Montería, Colombia. *Correspondencia: marcog@escarsa.net.co

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la eficiencia en la inducción y sincronización de la ovulación en búfalas frente al uso de dos tratamientos, teniendo en cuenta para ello la tasa de preñez (TP). Se conformaron dos grupos homogéneos de 18 animales cada uno. Posteriormente, se le asignó al azar a cada grupo uno de los siguientes tratamientos: Grupo I: Inyección intramuscular de 150 mg de PGF_{2a} (día -12). Grupo II: inyección intramuscular de 2 ml de solución salina (día -12). Después de esto los animales de los 2 grupos recibieron tratamiento por el método «Ovsynch» (GnRH/PGF_{2a}/GnRH): Inyección intramuscular de 50 mg de GnRH sintética (día 0). Inyección intramuscular de PGF_{2a}, (día 7). Inyección intramuscular de 50 mg de GnRH sintética (día 9). Todos los animales recibieron inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) a las 16 horas después de la última inyección de GnRH. El diagnóstico de preñez por palpación rectal se realizó a los 50 días después de la IATF. La TP total en las búfalas fue de 55.6%. La TP para los animales del Grupo II fue de 44.4% y para los animales del Grupo I fue de 66.7%. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las tasas de preñez obtenidas con los dos tratamientos ($p > 0.05$). No obstante, se observó una diferencia numérica de 22 puntos porcentuales que equivalen al 50% de diferencia entre los dos tratamientos a favor del protocolo Ovsynch modificado.

Palabras clave: Búfalos, Sincronización, Ovulación, Inseminación Artificial, GnRH, PGF_{2a}

SYNCHRONIZATION OF OVULATION AND ARTIFICIAL INSEMINATION IN BUFFALES AT FIXED TIME

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the efficiency in the induction and synchronization of the ovulation in buffaloes as opposed to the use of two treatments, considering for it the Conception Rate (CR). Two homogenous groups of 18 animals were satisfied Later, it was assigned at random to each group one of the following treatments: Group II: intramuscular injection of 2 milliliter of saline solution (day -12). Group I: intramuscular injection of 150 mg of PGF_{2a} (day -12). After this the animals of the 2 groups received treatment by the «Ovsynch» method (GnRH/PGF_{2a}/GnRH): intramuscular injection of 50 mg of synthetic GnRH (day 0). inside muscle injection 150 mg of PGF_{2a}, (day 7). intramuscular injection of 50 mg of synthetic GnRH (day 9). All the animals received artificial insemination time fixed (AITF) 16 hours after the last injection of GnRH. The diagnose of conception by rectal palpation was made 50 days after the AITF. The total CR in buffaloes was of 55.6%. The CR for the animals of Group II was of 44,4 % and for the animals of Group I > was of 66,7 %. both had not statistically significant differences between the conception

rates obtained with treatments ($p < 0.05$). However, a numerical difference of 22 points was observed that favors to buffaloes of Group I, being able future studies to suggest the increase of the number of animals by treatment.

Key words: Buffales, Synchronization, Ovulation, Artificial Insemination, GnRH, PGF_{2a}

INTRODUCCIÓN

La sincronización de la ovulación es la técnica que se utiliza aplicando hormonas que pueden ser estimulantes de la liberación de otras hormonas implicadas directamente en el proceso de la ovulación, o que pueden actuar reemplazando las hormonas que se liberan en dicho proceso. En los dos casos las hormonas pueden ser sintéticas o naturales. La aplicación de esta técnica permite realizar la inseminación artificial (I.A.) a tiempo fijo sin la necesidad de observar los celos, lo cual sirve como herramienta a los criadores en la optimización del uso de biotecnologías reproductivas como I.A., transferencia de embriones y monta dirigida.

Algunos investigadores manifiestan dificultad en la detección del celo en búfalas dado que estas no presentan conductas homosexuales bien manifiestas durante el celo que contribuyan a identificar esta fase del ciclo estral (Baruselli, et al 1997; Zicarelli, et al 1997). Esta situación dificulta la implementación de programas de I.A. como herramienta para mejoramiento genético de la especie.

En la actualidad existen varios protocolos que permiten realizar la sincronización de la ovulación a fin de usar I.A. a tiempo fijo (IATF). El protocolo «Ovsynch» es uno de ellos, se utiliza con hormonas liberadoras de Gonadotropina (GnRH), prostaglandinas y sus análogos. Los bovinos han respondido con gran éxito al protocolo de sincronización «Ovsynch» lográndose buenas tasas de concepción. No obstante, en las búfalas existen pocos reportes acerca del uso de este protocolo. Baruselli (2003) adelantó estudios para lograr optimizar la tasa de concepción en búfalos en la región rural de Sao Pablo (Brasil), en ese trabajo, el autor modificó el protocolo «Ovsynch», aplicando una dosis de GnRH el día menos siete (-7) a la aplicación del protocolo «Ovsynch» tradicional; esto como una alternativa para mejorar los resultados observados (51,8%) con el método tradicional, obteniendo una tasa de concepción del 56% con esta variación al método.

El uso de la sincronización en la especie bufalina, está en espera de resultados de investigaciones. El propósito del presente trabajo fue evaluar la eficiencia en la inducción y sincronización de la ovulación en búfalas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo experimental doble ciego, con el que se evaluó la eficiencia del método de sincronización de la ovulación, «Ovsynch modificado» frente al modelo Tradicional, comparando la efectividad de los métodos a través de la tasa de preñez alcanzada con cada uno.

El estudio se realizó en la hacienda Belterra, municipio de Tierralta a 15 Km. del casco urbano, a 8°, 18' de latitud norte y a 76°, 04' de longitud, con una altitud aproximada de 52 msnm, una temperatura promedio de 28 °C y una precipitación anual alrededor de los 1.680 mm; su terreno es completamente plano con un suelo franco-arcilloso. El universo de estudio estuvo conformado por la población bufalina de la hacienda que se encontraba en edad reproductiva, de la cual se seleccionó una muestra de 36 animales, homogéneos en cuanto al número de partos y al número de días postparto, sin anomalías de tracto reproductivo y vacías al momento de la palpación transrectal. Una vez seleccionada la muestra se conformaron en forma aleatoria dos grupos, cada uno de 18 animales, los cuales se enumeraron en forma consecutiva del 1 al 36; los números se hicieron con pintura blanca a nivel de la paleta de ambos lados. Todos los animales se colocaron en pastoreo en potreros de braquipará (*Brachiaria arrecta*), urare (*Brachiaria radicans*), pará o admirable (*Brachiaria mutica*), alemán (*Echlyochloa polystachia*), climacuna (*Dichantium anulatum*), angletón (*Dichantium aristatum*) y leguminosas nativas; se suministró sal mineralizada al 8% y se les ofreció agua a voluntad.

Una vez conformados los grupos se asignaron los tratamientos en forma aleatoria así:

Al grupo I o grupo de estudio se le aplicó la técnica «Ovsynch» modificado (T₁); los animales de este grupo recibieron una dosis de Prolise® (PGF_{2a}) de 2 ml. equivalente a 150 mg. de PGF_{2a}, 12 días antes del día cero (0) para el protocolo tradicional.

Al grupo II o grupo de control, se les aplicó el protocolo «Ovsynch» tradicional (T₂); los animales de este grupo recibieron un placebo 12 días antes de iniciar el protocolo de sincronización, aplicando 2 ml. de solución salina a fin de someter todos los animales al mismo número de inyecciones y al mismo grado de estrés.

Los animales fueron llevados en forma separada a 2 potreros en condiciones similares de agua, sombra y alimentos. El día cero (0) es decir, 12 días después de la aplicación del placebo y la primera dosis de Prolise® se llevaron nuevamente los animales al corral, los dos grupos recibieron una dosis de 2 ml. de Gestran Plus® equivalentes a 50 mg. de GnRH sintética y finalizada la actividad se llevaron de regreso a los potreros en los que se encontraban. Los animales se reunieron nuevamente el 7 días después del día cero (0) y se les aplicó una dosis de Prolise (PGF_{2a}) de 2 ml; para esta dosis se tuvo en cuenta la numeración asignada para el tratamiento, es decir, el animal que tenía el número 1 en la paleta entró de primero para ser inyectado con Prolise; quince (15) minutos más tarde se inyectó la siguiente y así sucesivamente hasta llegar a la número 36. La aplicación del medicamento se realizó en las primeras horas de la mañana con el fin de que la Inseminación Artificial se realizara en las horas de la noche, sesenta y cuatro (64) horas después de la aplicación de la PGF_{2a}. La aplicación de la última dosis de GnRH (Gestran Plus®) se realizó cuarenta y ocho (48) horas después de la aplicación de la prostaglandina F_{2a}. Con el fin de evitar el stress los animales se llevaron al potrero en grupos de 9 animales, para evitar que las búfalas pasaran más de 5 horas en el corral después de ser inyectadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la información disponible en la hacienda del registro de partos de 1998 a 2002 se realizó un análisis de series de tiempo, con el fin de evaluar el

comportamiento de la parición de las búfalas a través del tiempo y poder establecer su estacionalidad, observando que la mayor frecuencia de partos se registró en el periodo julio a octubre, siendo el mes de septiembre el momento donde se alcanzó el mayor registro. Los resultados difieren de lo obtenido por Baruselli en 1993 en el Vale do Riveira, Brasil, donde el mayor porcentaje de partos se presentó entre los meses de febrero a mayo con un pico máximo en el mes de febrero. (Figura 1).

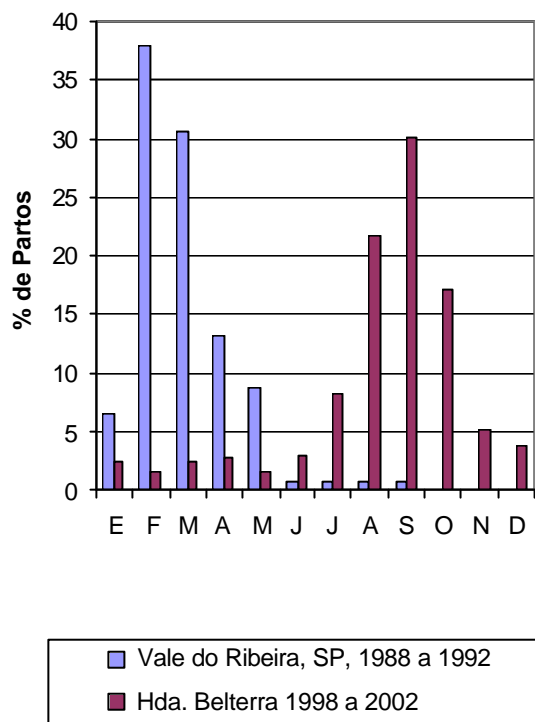


Figura 1. Estacionalidad de la parición. Hacienda Belterra, 1998 – 2002 y Vale do Riveira Sao Pablo Brasil, 1988 – 1992.

Tomando como referencia los meses en donde se evidenció la estacionalidad de la parición, se realizó la retrocuenta para establecer el periodo de concepción en la Hacienda Belterra, encontrando que este se presenta en los meses de septiembre a diciembre, presentándose a su vez la mayor concepción en el mes de noviembre. (Figura 2)

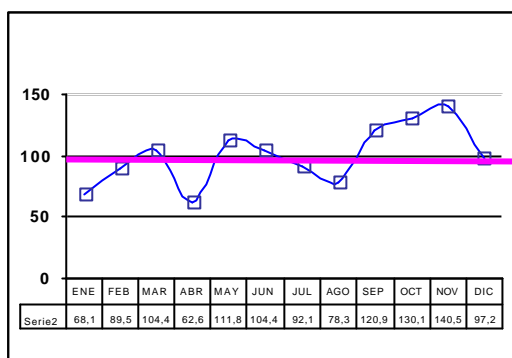


Figura 2. Estacionalidad de la gestación.

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos con los tratamientos aplicados; la tasa global de preñez fue del 55.6% (20/36). En el grupo I (grupo de estudio), la tasa de preñez obtenida fue superior a la del grupo II, (66.6 y 44,4% respectivamente). Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas

($p > 0.05$), se pudo evidenciar una diferencia matemática de 22.3 puntos porcentuales a favor del protocolo Ovsynch modificado, que equivalen a un 50% de diferencia sobre el protocolo Ovsynch tradicional.

Tabla 1. Tasa de preñez según tipo de tratamiento.

Tratamiento	NÚMERO DE BÚFALAS		TASA DE PREÑEZ x 100
	Diagnóstico Positivo	Diagnóstico Negativo	
Ovsynch Modificado (Grupo I)	12	6	66.7
Ovsynch Tradicional (Grupo II)	8	10	44.4
Total	20	16	55.6

Estos resultados son superiores a los obtenidos por Berdugo (2003)* quien obtuvo un 38% utilizando el protocolo Ovsynch tradicional y difieren de lo reportado por Ramírez y Guarín (2003), quienes obtuvieron una respuesta al tratamiento de Ovsynch tradicional del 36% (17/47). La tasa de preñez del grupo control es similar a las reportadas por Baruselli (1999) 48% (472/967), Baruselli (2000) 44,3% (116/262) y Baruselli (2002) 47.5% (106/223), utilizando en todos los casos el protocolo Ovsynch tradicional.

La evaluación de la probabilidad de preñez en función de los criterios de inclusión muestra una tendencia negativa con decrementos del 14.4%, 13.0% y 22.6% en la probabilidad de preñez a medida que aumentan el número de partos, los días intervalo entre partos y la edad de las búfalas respectivamente, y un incremento en la probabilidad a medida que aumentan los días postparto (11.5%). (Figura 3).

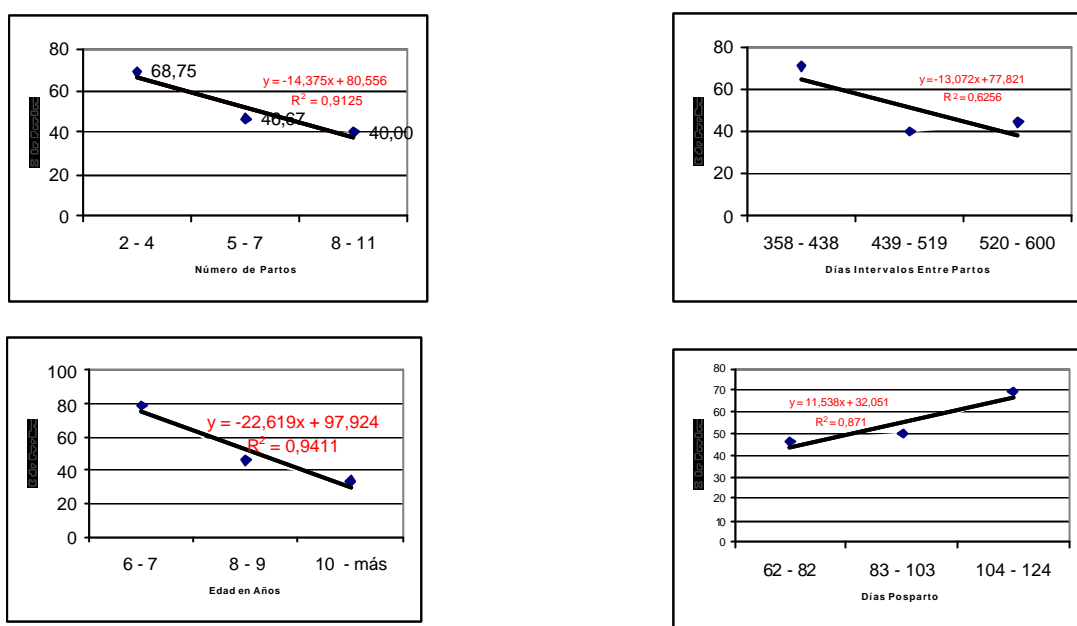


Figura 3. Evaluación de la probabilidad de preñez en función de criterios de inclusión en el estudio.

La tabla 2 muestra un análisis de los costos de la sincronización con los dos métodos utilizados, encontrando una disminución a favor del tratamiento Ovsynch Modificado del 27%. La adición de una dosis de prostaglandina $F_{2\mu}$ al protocolo Ovsynch

tradicional (Grupo Estudio), no solo mejoró la respuesta de los animales sino que además significó una diferencia de \$4.150 por preñez en el costo de los medicamentos, al compararlos con el protocolo Ovsynch Tradicional.

Tabla 2. Análisis de costos de la sincronización de la ovulación con los métodos $PGF_{2a}/GnRH/PGF_{2a}/GnRH$ y $GnRH/PGF_{2a}/GnRH$.

	Grupo I (Estudio)	Grupo II (Control)
Número de animales	18	18
Número de animales	18	18
Número de gestantes	12	8
Costo del GnRH .		
Costo cm de Gestran Plus	4.600	4.600
Por búfala (\$)	18.400	18.400
Por preñez (\$)	27.600	41.400
Costo de la PGF_{2a}		
Costo cm Prolise	6.500	6.500
Por búfala (\$)	26.000	13.000
Por preñez (\$)	39.000	29.250
Costo Semen		
Costo pajilla	100.000	100.000
Por búfala (\$)	100.000	100.000
Por preñez (\$)	150.000	225.000
Costo total del tratamiento		
Por búfala (\$)	144.400	131.400
Por preñez (\$)	216.600	295.650

En cuanto a los servicios de inseminación artificial se encontró que 1.5 servicios por hembra fueron efectivos para el protocolo Ovsynch modificado,

mientras que para el protocolo tradicional fueron necesarios 2.3 servicios por preñez (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de servicios por concepción.

	Grupo I (Estudio)	Grupo II (Control)
Pajillas usadas	18	18
Búfalas preñadas	12	8
Índice de servicios	1.5	2.25

Los resultados del estudio permiten concluir que los tratamientos hormonales utilizando PGF_{2a}/GnRH/PGF_{2a}/GnRH y GnRH/PGF_{2a}/GnRH producen respuestas satisfactorias en la sincronización de la ovulación en búfalas pluríparas, encontrándose una mejor respuesta al tratamiento PGF_{2a}/GnRH/PGF_{2a}/GnRH. Las búfalas que mejor respondieron a los tratamientos fueron las que presentaron menor número de partos, menos días intervalos entre partos, menor edad y un mayor número de días postparto.

El protocolo Ovsynch modificado es una alternativa que permite disminuir los costos en los programas de (IATF) en búfalas debido al incremento en las tasas de preñez. No obstante, es indispensable evaluar la estacionalidad reproductiva de las búfalas de cada finca para establecer las épocas en que deben realizarse los programas de IA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Baruselli P S. Reproducción en búfalos. Disponible en [Http://www.fmz.usp.br/menú/bufaloesnhol.html](http://www.fmz.usp.br/menú/bufaloesnhol.html)-INTRODUÇÃO. 2003; P.34-114.
2. Baruselli P S, Oliveira J F S, Mendes M L M, Jorge A M, Fujii T, Palazzo J P C. Diagnóstico da bubalinocultura do Vale do Ribeira. Campinas. Documento Técnico CATI, 1993; v.94, 16p.
3. Baruselli P S, Madureira E H, Visintin J A, Barnabe V H, Barnabe R C, Amaral R. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. Rev. Bras Repr Anim. 1999; v. 23, p. 360 - 362.
4. Baruselli P S, Mucciolo R G, Visintin J A, Viana W G, Arruda R P, Madureira E H et al. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). Theriogenology, 1997; v. 47 (8), p. 1531 - 1547.
5. Baruselli P S, Madureira E H, Visintin J A, Porto-Filho R, Carvalho N A T, Campanile G, Zicarelli Z. Failure of oocyte entry into oviduct in superovulated buffalo. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 25. Maastrich, 2000. Theriogenology, 2000; v. 53, p. 491 abstr.
6. Carrero J. Características reproductivas y genéticas del búfalo de agua. En: Primer cursillo de búfalo. M Piedrahita y Hahn (Eds); Facultades de Ciencias Veterinarias y Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 1994.
7. González T M. Inducción y sincronización de la ovulación del Ganado bovino. Revista M.V.Z Universidad de Córdoba, 2004; 1-25.

8. Jainudeen M R. Reproduction in the Wather buffalo. En: Curren therapy in Theoriogenology; D. A. Morrow, (Ed); W. B. Saunders Co, Philadelphia, USA, 1986; p 443 - 449.
9. Ramírez F, Guarín J. Evaluación de un protocolo (Ovsynch) de inseminación artificial a tiempo fijo en búfalas de agua (*Bubalus bubalis*) en Colombia durante la estación reproductiva 2002-2003; p.62 - 75.
10. Vale W G. Bupalinos: fisiología e patologia da reprodução. Campinas, Fundação Cargil, 1988; 86p.
11. Vélez G, Vejarro A, Villa N A. Estudio de la dinámica ovárica durante un ciclo estral en novillas Brahmán y su relación con los niveles de progesterona. IV Seminario Internacional, «Reproducción de Grandes Animales» Medellín 2003.
12. Zicarelli L, De Filippo C, Francillo M, Pacelli C, Villa E. Influence of insemination technique and ovulation time on fertility percentage in synchronized buffaloes. In: World Buffalo Congress, 5. Caserta. Proceedings, 1997; p.732 - 7

Recibido: Mayo 20 de 2004; Aceptado: Noviembre 25 de 2004