

# BENZOATO DE ESTRADIOL EN VAQUILLAS SINCRONIZADAS CON PROGESTERONA Y PROSTAGLANDINA-F<sub>2α</sub>

## ESTRADIOL BENZOATE IN HEIFERS SYNCHRONIZED WITH PROGESTERONE AND PROSTAGLANDIN-F<sub>2α</sub>

Abad Zavaleta, J.<sup>1</sup>, J.A. Ramírez Godínez<sup>2</sup>, A. Flores Mariñelarena<sup>3</sup>, A. Grado Ahuir<sup>4</sup> y A. García Macías

Universidad Autónoma de Chihuahua. Secretaría de Posgrado e Investigación. Facultad de Zootecnia. Periférico Francisco R. Almada, Km. 1. CP: 31031, Chihuahua. Chihuahua. México. [joead@hotmai.com](mailto:joead@hotmai.com); [2aramirez@uach.mx](mailto:2aramirez@uach.mx); [3aflore@uach.mx](mailto:3aflore@uach.mx); [4grado@uach.mx](mailto:4grado@uach.mx)

### PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Sincronización de celo. CIDR. PG-F<sub>2α</sub>

### ADDITIONAL KEYWORDS

Estrus synchronized. CIDR. PG-F<sub>2α</sub>

### RESUMEN

Se evaluó el efecto de adicionar benzoato de estradiol (BE) 24 h después de retirar el dispositivo intravaginal (CIDR) con progesterona (P<sub>4</sub>) y aplicar prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), sobre la sincronización de celo (SE) y la fertilidad de 54 vaquillas Charolés. A todas se les colocó un CIDR y 2 mg de BE (d=0). El día 7, se retiró el CIDR y se aplicó 25 mg de PGF<sub>2α</sub>. El día 8, se asignaron al azar a tres lotes: lote I (testigo; n=24), se aplicó solución salina; lote II (n=15), se aplicó 0,5 mg de BE y lote III (n=15), se aplicó 1,0 mg de BE; la inseminación artificial (IA) se realizó de 18 a 24 h del inicio del celo. Se tomó una ultrasonografía de ovarios, al momento de aplicar el CIDR, al retirar el CIDR, 24 h de retirar el CIDR y al momento de la IA. No hubo diferencia entre lotes con BE para el intervalo de retirada del CIDR al celo; pero, hubo diferencia (p<0,05) entre lotes con BE contra el testigo, reduciéndose el tiempo al celo hasta 12 h. El 100 p.100 de las vaquillas con BE, presentaron celo vs 81 p.100 del lote I. Para la fertilidad, no hubo diferencia entre lotes. A la IA, la dinámica folicular fue similar. De acuerdo con los resultados, adicionar BE mejoró la sincronía

del celo, redujo el intervalo del retiro del CIDR al celo; sin embargo, no se observaron cambios en la dinámica folicular y no mejoró la fertilidad.

### SUMMARY

The addition of estradiol benzoate (EB) 24 h after removing progesterone (P<sub>4</sub>) intravaginal device (CIDR) and PGF<sub>2α</sub> application, on estrus synchronization and fertility was evaluated in forty four Charolais heifers. All heifers received a CIDR and 2 mg of EB (i. m.). On day 7, the CIDR was removed and 25 mg of PGF<sub>2α</sub> were injected i. m. On day 8, heifers were randomly assigned to 3 groups; control (group I, n=24), received placebo; group II (n=15), received 0.5 mg EB and group III (n=15), received 1.0 mg EB. The heifers were inseminated (AI) 18 to 24 h after estrus initiation. An ovarian sonography was taken at treatment initiation, at CIDR removal, 24 h after CIDR removal and at AI time. There was no difference in the interval from CIDR removal to estrus between groups of heifers with EB;

*Arch. Zootec. 55 (209): 15-20. 2006.*

however, there was a difference ( $p < 0.05$ ) between heifers with EB vs control, by 12 h in heifers with EB. All heifers (100 percent) with EB were detected in estrus vs 81 percent of control. Pregnancy rate was similar among groups. At AI the follicular dynamic was similar in all groups. Results indicate that the addition of EB 24 h after CIDR removal and  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in beef heifers improved estrus synchrony and reduced the interval (h) from the CIDR removal to estrus; however, changes in ovarian follicular dynamics were not observed and fertility was not improved.

### INTRODUCCIÓN

Los programas de inseminación artificial (IA) son una de las técnicas reproductivas que han mejorado la eficiencia reproductiva y productiva del hato. Su rentabilidad está condicionada, por diversos factores, entre ellos; la calidad del semen, la técnica de IA y, sobre todo, que la hembra se encuentre en su punto exacto de receptividad, para que pueda quedar gestante (Wanttiaux, 1999). El dispositivo intravaginal (CIDR) proporciona una administración controlada de progesterona ( $P_4$ ) natural para la sincronización de celo, que permite obtener niveles séricos adecuados de  $P_4$  a las 6 h de colocado el CIDR, que permanecen constantes hasta su retiro (Macmillan y Peterson, 1993). El CIDR aplicado por 7 d incrementa la proporción de vacas en celo y la formación de un cuerpo lúteo (CL) funcional, mientras que el benzoato de estradiol (BE) incrementa la manifestación del celo (Fike *et al.*, 1997). El objetivo fue evaluar el efecto de adicionar BE 24 h después de retirado el CIDR con  $P_4$  y  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sobre la sincronización de celo y fertilidad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 54 vaquillas de raza Charolesa de registro con un peso mayor a 325 kg y una edad mínima de 15 meses para los lotes al momento de la IA. Tuvieron un manejo en pradera artificial de ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) y trigo forrajero (*Triticum aestivum* L.) y 3 kg/d de un pienso con 14 p.100 de proteína bruta. Se sincronizaron en el mes de mayo y además se realizó una ultrasonografía de ovarios, vía rectal, utilizando un transductor Aloka 500, con la finalidad de detectar aquellas que presentaran actividad ovárica al momento de iniciar el experimento.

Todas las vaquillas se sujetaron al siguiente protocolo:

En el día cero ( $d=0$ ), se aplicó el dispositivo intravaginal CIDR (EAZI-BREED®CIDR®, InterAg, Hamilton, Nueva Zelanda) con progesterona en las vaquillas seleccionadas así como 2 mg de BE (CIDIROL®InterAg) por vía i.m.

El dispositivo CIDR se retiró el día siete a todas las vaquillas y se les aplicó 25 mg de Dinoprost Trometamina (Lutalyse®, Pharmacia & Upjohn) i.m. como  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

En el día ocho, los animales fueron asignados al azar a tres lotes; al lote I ( $n=24$ ), se le aplicó una solución salina como placebo; al lote II ( $n=15$ ), se les aplicó 0,5 mg de BE y al lote III ( $n=15$ ), se le aplicó 1,0 mg de BE.

Para los días 9, 10 y 11, se detectaron celos por observación visual, considerándose la manifestación del celo cuando la vaquilla permitió por primera vez la monta por parte de otros miembros del lote por más de tres segundos.

Se tomó el tiempo transcurrido entre el retiro del CIDR y la manifestación de celo y las vaquillas se inseminaron de 18 a 24 h posteriores al inicio del celo.

Se tomó una muestra de sangre para los niveles séricos de P<sub>4</sub> (Schneider y Hallford, 1996) al momento de colocar el CIDR, al retirarlo y 24 h después; y se tomó una ultrasonografía de los ovarios al colocar, retirar, 24 h después y al momento de la IA.

Para el retiro del CIDR al celo se realizó un análisis de varianza, el modelo consideró los efectos fijos de tratamiento y período, así como su interacción; utilizando PROC GLM. Se realizaron contrastes ortogonales para la comparación de las medias de tratamiento para el intervalo (h) del retiro del CIDR al celo. Para porcentaje de fertilidad y porcentajes de vaquillas con folículos preovulatorios se ajustó un modelo para datos categóricos considerando el efecto fijo de tratamiento, utilizando PROC CATMOD (SAS, 1997).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### INTERVALO (H) DEL RETIRO DEL DISPOSITIVO CIDR AL INICIO DEL CELO

En el intervalo de retirar el dispositivo CIDR al inicio del celo, no hubo diferencia entre los lotes II y III (0,5 vs 1,0 mg de BE) en las vaquillas; sin embargo, si hubo diferencia ( $p < 0,05$ ) de ambos lotes con respecto al lote I, los resultados fueron de 57, 44, 45 h para los lotes I, II y III, respectivamente. Los lotes II y III tuvieron intervalos de 12 h, menos que el lote I. Esto concuerda con lo ya registrado por

Hanlon *et al.* (1997), donde se menciona que la administración de BE 24 h después de retirar el CIDR tiende a reducir el tiempo entre la retirada del CIDR y el pico de la hormona luteinizante (LH) y por lo tanto la ovulación y manifestación de celo. Por otro lado, los resultados obtenidos son superiores a los reportados por Lemaster *et al.* (1999), para quienes la aplicación de 0,5 mg de BE a las 24 h de retirado el dispositivo CIDR disminuyó el tiempo de celo en vaquillas cruzadas con Brahman a 74,5 vs 93,5 h en vaquillas no tratadas con BE y 78,9 h en vaquillas inyectadas a las 48 h de retirado el CIDR. El intervalo al inicio del celo después de retirado el dispositivo CIDR, para las vaquillas sin BE (lote I), fue más prolongado, posiblemente, se debió a que la P<sub>4</sub> del dispositivo CIDR produjo una inhibición más prolongada en el crecimiento folicular de las vaquillas, aunado a esto la ausencia del BE (E<sub>2</sub>) en el lote I disminuyó el rápido crecimiento folicular.

### PORCENTAJE DE CELOS

El cien por cien de las vaquillas de los lotes con BE, manifestaron comportamiento de celo mientras que el 80 p.100 por ciento de las vaquillas sin BE tuvieron celo. Los resultados, indican que se obtuvo una mejor sincronía de celo en las vaquillas que se les aplicó 0,5 ó 1,0 mg de BE 24 h de retirado el CIDR, ya que el total de las animales de estos lotes (II y III) manifestaron comportamiento de celo. Lo cual indica que la sincronización del celo fue igual de efectiva para los lotes tratados con BE. Estos resultados coinciden con los reportados por Hanlon *et al.*

(1995) quienes observaron un 94 p.100 de las vaquillas con celo. De la misma forma algunos reportes indican que tuvieron un 90 p.100 de respuesta al celo utilizando CIDR-B en vacas con buen estatus nutricional (Macmillan y Peterson, 1993). Así mismo, el dispositivo CIDR, retirado a los 5 y 7 d con la aplicación de PGF<sub>2α</sub> y 1 mg de BE induce el grado más alto de sincronización y ovulación para la IA 30 h después (Bridges *et al.*, 1999). En apoyo a los resultados obtenidos, se reporta que la administración de 0,5 mg de BE 24 h después de retirado el dispositivo CIDR incrementa el número de vaquillas que manifiestan comportamiento de celo (Hanlon *et al.*, 1995).

En los resultados obtenidos se encontró una tendencia de mayor respuesta para las vaquillas tratadas con BE, la cual se debe a que los E<sub>2</sub> inducen a la hembra a manifestar comportamiento de celo (Fike *et al.*, 1997; Macmillan y Peterson, 1993).

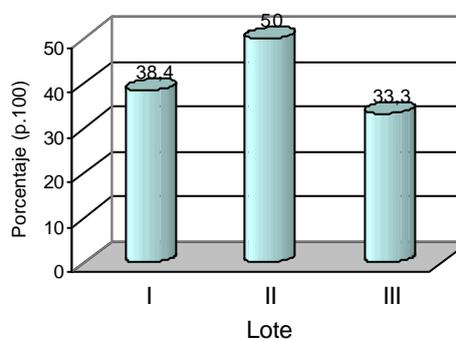
#### PORCENTAJE DE GESTACIÓN

Para el porcentaje de gestación, no hubo diferencia entre los lotes en estudio, los resultados obtenidos (**figura 1**) fueron del 38,5; 50 y 33 p.100 para los lotes I, II y III, respectivamente, distinto a lo reportado por Valencia (1997), el cual utilizó un CIDR más una cápsula de BE y sus resultados fueron de 55,5; 21,4 y 21,4 p.100 de preñez en tres diferentes ranchos.

Por otra parte Lane *et al.* (2001), mencionan que la tasa de preñez no fue afectada en vaquillas tratadas con BE después de retirado el dispositivo intravaginal en la dominancia de la onda folicular. Sin embargo, la tasa de

preñez decreció en la emergencia de la onda folicular 81 p.100 y 57 p.100, respectivamente, resultado similar a lo reportado por Hanlon *et al.* (1995), los cuales encontraron tasas de preñez del 57 p.100 en vaquillas lecheras aplicando 0,5 mg de BE 24 h después de retirado el dispositivo CIDR comparado con 55 p.100 de un lote de animales control sin BE.

Aun cuando la respuesta al celo fue favorable para las vaquillas tratadas con BE, se encontró una baja tasa de preñez, estas diferencias en los porcentajes de preñez se atribuyen, posiblemente, a pérdidas embrionarias tempranas y ocasionadas por la falta de P<sub>4</sub> por una inadecuada función lútea antes del tratamiento (Siagama y Rajamahendran, 1992). Aunado a ésto, la aplicación de BE, que posiblemente,



Lote I (Testigo), sin BE; Lote II, se le aplicó 0,5 mg de BE; Lote III, se le aplicó 1,0 mg de BE. No hubo diferencia estadística.

**Figura 1.** Porcentaje de vaquillas gestantes, sincronizadas con progesterona (CIDR), benzoato de estradiol (BE) y prostaglandina-F<sub>2α</sub>. (Percent of gestating heifers, synchronized with progesterone, estradiol benzoate and prostaglandin-F<sub>2α</sub>).

afectó indirectamente la fertilidad, ya que al incrementar el estradiol 17β en el ciclo estral (CE) por periodos prolongados da como resultado ovocitos anormales en el desarrollo embrionario disminuyendo así el porcentaje de preñez (Kinder *et al.*, 1996). Además los E<sub>2</sub>, pueden aumentar la ocurrencia o manifestación de celos, sin embargo, estos no siempre van acompañados de una ovulación (Hanlon *et al.*, 1995).

#### DINÁMICA FOLICULAR

En el presente estudio al momento de la IA, el 60 p.100 de las vaquillas inoculadas con BE tenía al menos un folículo mayor de 7 mm (preovulatorio) contra el 55,5 p.100 en las vaquillas sin BE, demostrando que no existe diferencia significativa entre los lotes en estudio. Sin embargo, el 40, 20 y 22 p.100, para los lotes II, III y I, respectivamente, ya habían ovulado posiblemente, revelado en las imágenes de ultrasonido, obtenidas al momento de la IA. El alto porcentaje de vaquillas que ovularon en el lote II, se debió, posiblemente, al BE que se le aplicó. Los E<sub>2</sub> ejercen una acción tanto directa como indirecta sobre los folículos en desarrollo; directamente evitando la atresia y estimulando el crecimiento folicular; indirectamente, ejercen un control de retroalimentación tanto positiva como negativa en la liberación de la LH y la FSH a través del hipotálamo, a su vez la FSH va a estimular el rápido crecimiento folicular y la LH va a dar el pico preovulatorio (Hafez y Hafez, 2000). Además, existe una correlación positiva entre los E<sub>2</sub> y las frecuencias de los pulsos de la LH mismos que están asociados con el

incremento de tamaño, capacidad estrogénica y número de receptores para la LH en los folículos en desarrollo (Kojima *et al.*, 1992).

Esto indica que la inseminación tiene que realizarse en un periodo más corto después del inicio de la manifestación de celo, tratando de inseminar a las vaquillas antes de que se de la ovulación y con ello tener una probabilidad mayor de poder preñar a la hembra y tener por lo tanto mayor éxito en los protocolos de SE e IA.

#### CONCLUSIONES

El uso de BE en vaquillas tratadas con CIDR y PGF<sub>2α</sub>, redujo el intervalo (h) del retiro del CIDR al celo en promedio 12 h, con respecto a vaquillas sin BE, siendo la dosis más adecuada la de 0,5 mg, 24 h después de retirado el CIDR. Para el porcentaje de vaquillas que manifestaron celo; se encontró una mayor sincronía en las vaquillas con BE, debido a los E<sub>2</sub> que potencializaron el desarrollo de los folículos en crecimiento. Ya que en el caso de las vaquillas con 0,5 mg de BE, el 40 p.100 ya había ovulado al momento de la IA. Tanto la dinámica folicular como la fertilidad, no se beneficiaron con la aplicación de BE 24 h después de retirar el dispositivo CIDR. Por efecto de reducción de costos, en un hato de hembras a sincronizar, se recomienda aplicar 0,5 mg, ya que esta dosis, parece ser la adecuada para que las vaquillas manifiesten celo y con ello reducir los costos de SE, e incrementar el retorno económico al productor.

BIBLIOGRAFÍA

- Bridges, P.J., P.E. Lewis, W.R. Wagner and E.K. Inskeep. 1999. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. *Theriogenology*, 52: 573-583.
- Fike, K.E., M.L. Day, E.K. Inskeep, J.E. Kinder, P.E. Lewis, R.E. Short and H.D. Hafs. 1997. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anoestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J. Anim. Sci.*, 75: 2009-2018.
- Hafez, E.S. y B. Hafez. 2000. Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima edición. Editorial Interamericana McGraw – Hill. México.
- Hanlon, D.W., N.B. Williamson, J.J. Wichtel, I.J. Steffert, A.L. Craigie and D.U. Pfeiffer. 1995. The effect of estradiol benzoate administration on oestrous response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. *Theriogenology*, 45: 775-785.
- Hanlon, D.W., N.B. Williamson, J.J. Wichtel, I.J. Steffert, A.L. Craigie and D.U. Pfeiffer. 1997. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology*, 47: 963-975.
- Kinder, J.E., F.N. Kojima, E.G. Bergfeld, M.E. Wehrman and K.E. Fike. 1996. Progesterone and celogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *J. Anim. Sci.*, 74: 1424-1440.
- Kojima, N., T.T. Stumpf, A.S. Cupp, L.A. Werth, M.S. Roberson, M.W. Wolfe, R.J. Kittok and J.E. Kinder. 1992. Exogenous progesterone and progesting as used in celous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum in regulation of luteinizing hormone and 17 b estradiol in circulation of cow. *Biol. Reprod.*, 47: 1009-1017.
- Lane, E.A., E.J. Austin, J.F. Roche and M.A. Crowe. 2001. The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone-releasing intravaginal device. *Theriogenology*, 55: 1807-1818.
- Lemaster, J.W., J.V. Yelich, J.R. Kempfer and F.N. Schrick. 1999. Ovulation and estrus characteristics in crossbred Brahman heifers treated with and intravaginal progesterone, releasing insert in combination with prostaglandin F2-alfa and estradiol benzoate. *J. Anim. Sci.*, 77: 1860-1868.
- Macmillan, K.L. and A.J. Peterson. 1993. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrous. *J. Anim. Reprod. Sci.*, 33: 1-12.
- SAS. 1997. Users guide stactical analysis system. Institute, Inc. Cory, W. C.
- Siagama, P.C. and R. Rajamahendran. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology*, 38: 85-93.
- Schneider, F.A. and D.M. Hallford. 1996. Use of a rapid progesterone radioimmunoassay to predict pregnancy and fetal numbers in ewes. *Sheep & Goat J.*, 12: 33-38.
- Valencia, M.L. 1997. Comparación del syncromate b vs un dispositivo intravaginal (CIDR-B) en la sincronización de celos y fertilidad en vacas productoras de carne. Tesis de maestría. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. México.
- Wanttiaux, M.A. 1999. Essences milkmaids. The Babcock Institute. University of Wisconsin-Madison. USA. Available at (noviembre, 2002): <http://babcock.cals.wisc.edu>.

Recibido: 4-11-04. Aceptado: 23-5-05.

Archivos de zootecnia vol. 55, núm. 209, p. 20.