

ORIGINAL

EFFECTO DEL FLUJO CERVICAL EN IATF DE HEMBRAS BOVINAS SUPEROVULADAS SOBRE LA CANTIDAD Y CALIDAD DE EMBRIONES

EFFECT OF CERVICAL FLOW IN FTAI OF SUPEROVULATE CATTLE ON THE EMBRYOS QUANTITY AND QUALITY

Torres J¹, Bó G², Garzón J³, Tovío N⁴

Instituto de Reproducción Animal Córdoba IRAC, Córdoba, Argentina. Universidad de Cundinamarca (Sede Fusagasugá) Facultad de Ciencias Agropecuarias Laboratorio de reproducción animal - Grupo de investigación en Fisiología y Biotecnología Reproductiva Animal – GIFBRA.

Recibido: Septiembre de 2013; Aceptado: Octubre de 2013.

RESUMEN

La inseminación artificial en hembras donantes de embriones bovinos superovuladas es un momento crítico en el proceso de obtención de embriones in vivo, de ahí la gran importancia del tema y alrededor del cual se han realizado diversos estudios como por ejemplo: lugar en donde se debe depositar el semen en la inseminación artificial, relación del momento de la ovulación con la inseminación o número de inseminaciones necesarias en vacas superovuladas. Este trabajo analizó el efecto de la presencia de flujo cervical al momento de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en donantes de embriones bovinos superovuladas sobre la cantidad y calidad de embriones obtenidos al momento de la colecta, tomando como referencia los cuerpos lúteos,

¹ Medico Veterinario, Esp. Investigador Coordinador Laboratorio de Reproduccion Animal - Grupo de investigacion en fisiologia y biotecnologia reproductiva animal GIFBRA Universidad de Cundinamarca.

² Medico Veterinario, MSc. PhD. Docente Investigador Instituto de Reproducción Animal Córdoba IRAC, Córdoba.

³ Medico Veterinario, Esp Instituto de Reproducción Animal Córdoba IRAC, Córdoba.

⁴ Zootecnista, MSc. PhD (e). Docente Investigador Universidad de Cundinamarca, Universidad de La Salle, Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogota, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Lider Grupo de investigacion en fisiologia y biotecnologia reproductiva animal GIFBRA.

ovocitos-embriones (estructuras ováricas), ovocitos fertilizados, embriones congelables y embriones transferibles (según: International Embryo Transfer Society IETS) en la colecta, donde luego de analizar los resultados se encontró que la presencia de flujo cervical al momento de la IATF en donantes de embriones cruza *Bos indicus* (*Bos taurus* cruzadas con *Bos indicus*), está relacionada con una buena calidad embrionaria.

Palabras clave: Cruza *Bos indicus*, Hembras donantes de embriones bovinos superovuladas, Flujo Cervical, IATF.

ABSTRACT

*Artificial insemination in females superovulated bovine embryo donors is a critical moment in the process of production of embryos in vivo, hence the great importance of the issue around which there have been several studies such as: place where you must deposit semen for artificial insemination, the ratio of time of ovulation with insemination or number of inseminations required in superovulated cows. This work analyzes the effect of cervical fluid present at the time of fixed-time artificial insemination (TAI) in superovulated bovine embryo donors on the quantity and quality of embryos obtained at the time of collection, reference to the corpus luteum , oocytes, embryos (ovarian structures), fertilized oocytes, frozen embryos and transferable embryos (International Embryo Transfer Society IETS) in the collection, where, after analyzing the results it was found that the presence of cervical fluid at the time of the IATF in donors *Bos indicus* cross embryos (*Bos taurus* cross females for *Bos indicus*), is associated with good embryo quality.*

Key words: *Cross *Bos indicus* females superovulated bovine embryo donors, cervical fluid, IATF.*

INTRODUCCIÓN

En su intención de producir bovinos con excelente capacidad productiva y de mayor valor comercial, el hombre ha desarrollado biotecnologías con la finalidad de “obtener el mayor número de descendientes de una vaca elite en el menor tiempo posible” (1), siendo la Superovulación y transferencia de embriones una biotecnología pionera en este sentido. Se han realizado múltiples estudios que han permitido llegar a realizar transferencia de embriones a tiempo fijo (TEAF), por medio de protocolos que usan diferentes hormonas a distintas dosis según el tipo y características de la donante, tratando de obtener el mayor número de embriones viables para ser transferidos; en procura de esta meta, siempre se ha intentado controlar al máximo factores que

pueden incurrir en la calidad de la colecta embrionaria, siendo el propósito de este trabajo analizar el efecto de la presencia de flujo cervical en la inseminación artificial a tiempo fijo de donantes de embriones bovinos sobre la cantidad y calidad de embriones colectados, tomando en consideración número de cuerpo lúteos (CL), estructuras ováricas (Ovocitos - Embriones), embriones fertilizados, embriones congelables y embriones transferibles (2).

MATERIALES Y METODOS

Animales

Se utilizarán 461 donantes de embriones bovinos de razas Aberdeen Angus, Fleckvieh Simmental, Hereford, Brangus, Braford y Limousin, entre 6 y 8 años de edad, de condición corporal entre 3.5 y 4, y sin ninguna patología evidente, ubicadas en el Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC), en Córdoba capital, Argentina. Se analizarán las superovulaciones y colectas realizadas entre el 6 de Enero al 28 de Diciembre de 2010.

Protocolo de sincronización

Las donantes fueron superovuladas siguiendo el protocolo convencional utilizado en el IRAC, que consiste en la aplicación al Día 0 de 2,5 mg de benzoato de estradiol (EB, Syntex SA), 50 mg de progesterona (Progestar, Syntex SA) y la inserción de un dispositivo con progesterona. La administración, a partir del Día 4, de dosis decrecientes cada 12 h. de Folltropin-V® (Bioniche Animal Health Inc., Canadá) durante 4 días, 500 µg de cloprostenol sódico (Syntex S.A.) en la mañana y tarde del Día 6, retiro del dispositivo el Día 7 pm, al Día 8 pm aplicación de GnRH (8,4 µg de Buserelina; Gonaxal, Biogenesis-Bago, Argentina) y se realiza IATF 12 y 24 horas más tarde. Todas las donantes fueron colectadas en el Día 15. Al momento de cada una de las IATF se registró en todas las donantes la presencia o ausencia de flujo cervical en la vagina y vulva. Las vacas se clasificaron en las que no presentaron flujo aparente en alguna de las dos IATF y las que presentaron flujo.

Teniendo en cuenta el número de CL, Ovocitos-Embriones (estructuras ováricas), Embriones Fertilizados, Embriones congelables y Embriones transferibles, se analizaron los datos por ANOVA (InfoStat, UNC).

RESULTADOS

Se encontró una interacción entre el biotipo de la donantes (*Bos taurus* o cruce *Bos indicus*) con el efecto de la presencia o ausencia de flujo, debido a una mayor cantidad de embriones congelables en las vacas *Bos indicus* ($P=0.0178$) que presentaron flujo versus las que no presentaron flujo. Sin embargo la presencia de flujo en la IATF no tuvo influencia sobre la producción de embriones en las donantes *Bos taurus* ($P=0.9664$).

Tabla 1: Cuerpos luteos y estructuras según presencia o no de flujo cervical encontradas en *Bos taurus*

GRUPO <i>Bos. taurus</i>	N°	CL	ESTRUCTURAS	FERTILIZADOS	CONGELABLES
FLUJO NO	208	11.24 ± 0.5 ^a	9.14 ± 0.5 ^a	6.59 ± 0.5 ^a	4.45 ± 0.5 ^a
FLUJO SI	109	10.83 ± 0.5 ^a	8.70 ± 0.5 ^a	6.43 ± 0.5 ^a	4.43 ± 0.5 ^a
Valor p		0.6069	0.6570	0.7523	0.9664

($p > 0,05$)

Tabla 2: Cuerpos luteos y estructuras según presencia o no de flujo cervical encontradas en *Bos indicus*

GRUPO <i>Bos indicus</i>	N°	CL	ESTRUCTURAS	FERTILIZADOS	CONGELABLES
FLUJO NO	64	17.03 ± 0.5 ^a	13.72 ± 0.5 ^a	7,15 ± 0.5 ^a	4.81 ± 0.5 ^a
FLUJO SI	80	15.61 ± 0.5 ^a	12.44 ± 0.5 ^a	8.03 ± 0.5 ^a	6.14 ± 0.5 ^b
Valor p		0.2699	0.4321	0.0983	0.0178

($p > 0,05$)

DISCUSION

La mayor producción de embriones congelables en las hembras *Bos indicus* ($P=0.0178$) que presentaron flujo cervical, frente a las que no presentaron flujo cervical en la IA, en contraste con la presencia de flujo en la IATF de las donantes *Bos taurus* ($P=0.9664$). tendría explicación en el hecho de que el ganado *Bos indicus* presenta un mayor grado de sensibilidad a gonadotrofinas exógenas (2, 3), en relación al ganado *Bos taurus*, al mismo tiempo que las hembras *Bos indicus* reclutan mayor número de folículos por cada onda de crecimiento folicular en relación a las *Bos taurus* (2), y se ve reflejado en la colecta de embriones, ya que la respuesta embrionaria está relacionada con la cantidad intrínseca de folículos que una vaca recluta por onda (4), por esta razón las mejores respuestas superovulatorias encontradas en donantes cruce *Bos indicus* en relación a las *Bos taurus*; este mayor reclutamiento folicular en vacas *Bos indicus* es ocasionado por los elevados niveles de IGF-1 plasmáticos y bajos niveles de FSH que presentan (5) lo que permite que sea más intenso el efecto ejercido por la FSH exógena administrada en el tratamiento de superovulación, ya que el IGF-1 aumenta la sensibilidad a la FSH en los folículos antrales (6). Se puede afirmar entonces que resulta alto el nivel de estrógenos que presentan estas vacas cruce *Bos indicus* sometidas a tratamiento superovulatorio, aumentando por ende los efectos estrogénicos, siendo uno de estos la presencia de flujo cervical al momento de la IATF.

Aunque si bien estos reportes son en vacas *Bos indicus*, se espera que vacas cruza *Bos indicus* se comporten en forma intermedia (7).

Existen también reportes de IATF en vacas *Bos indicus*, donde la presencia de flujo cervical es uno de los signos de celos de mayor presentación (84 %) luego de la monta homosexual (88 %) (8). Igualmente en otro estudio en el que se utilizaron vacas cruza *Bos indicus*, se observó como aquellas que presentaron flujo transparente, abundante, cristalino y fluido en el celo, tuvieron un mayor porcentaje de preñez en comparación a las que no presentaron flujo (9).

Al observar las donantes cruza *Bos indicus* que presentaron flujo cervical, se ve como las que lo presentaron en la segunda inseminación (AM), fueron las que tendieron a producir más embriones, lo cual coincide con el estudio realizado por Bó et al (10), donde el promedio de ovulación en donantes Brangus está en $77.6 + 1.3$ horas, luego de la segunda dosis de prostaglandina F₂α, tiempo en el cual resulta de mayor fertilidad la segunda inseminación (60 horas luego de la segunda dosis de PF₂α), por lo cual la importancia de realizar en forma precisa esta inseminación.

Se puede relacionar entonces la presencia de flujo cervical al momento de la IATF en donantes de embriones cruza *Bos indicus* con una buena respuesta al tratamiento superovulatorio y a una alta probabilidad de obtener buena calidad embrionaria en la colecta, pero siempre teniendo en cuenta la variabilidad de la respuesta a la superovulación propia de la donante (11,12)

CONCLUSIONES

Los datos sugieren que la presencia de flujo cervical al momento de la IATF en donantes de embriones cruza *Bos indicus*, está relacionada con una buena calidad embrionaria.

Se evidenció cómo es mayor el número de animales con presencia de flujo cervical en hembras cruza *Bos indicus* en relación con las *Bos taurus*, en las cuales es mayor el número de vacas sin presencia de flujo cervical al momento de la IATF.

Se reafirma la sensibilidad ovárica a gonadotrofinas exógenas (FSH) por parte de donantes de embriones bovinos tipo *Bos indicus* reportada anteriormente por Bó G., et al. 2003 [4], comprobada en este trabajo por el mayor número de hembras con flujo en relación con las *Bos taurus*, y en las cuales fue mejor la respuesta embrionaria que aquellas que no presentaron flujo cervical al momento de la IATF.

BIBLIOGRAFIA

1. BÓ G. A. CARBALLO G. D. MAPLETOFT R. J. (2007a) Nuevas alternativas para la superovulación de donantes de embriones. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC) 7 Simposio Internacional De Reproducción Animal Córdoba, Argentina, 2° Westem College Of Veterinary Medicine, University Of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canadá.
2. BARUSELLI P. S., BARROS C. M., BÓ G. A., MARTINS C. M., NASSER L. F., NOGUEIRA M. F., SÁFILHO M. F. (2006). Superovulations and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 65. Pág. 77-88.
3. RANDEL R. D. (1984). Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). *Theriogenology* 21. Pág. 170-185.
4. SILBERBERG A. (1989). Mucus glycoproteins, its biophysical and gel-forming properties In: Chantler E, NA Ratcliffe (eds), *Mucus and Related Topics*. Society for Experimental Biology. Cambridge. Pág. 43–63. Citado en PALMA G. A. (2008) *Biotecnología de la reproducción*. Segunda edición. Impreso en los talleres de Pugliese y Siena – Producción gráfica integral. Mar del Plata, Argentina.
5. BÓ G. A., BARUSELLI, P. S. MARTINEZ, M. F. (2003). Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal reproduction science* 78. Pág. 307-326.
6. MIHM M., BAKER P. J., M FLEMING L. M., MONTEIRO A. M. SHAUGHNESSY P. J. (2008). Differentiation of the bovine dominant follicle from the cohort upregulates mRNA expression for new tissue development genes. *Reproduction* 135. Pág. 253-265.
7. CHESTA P. M. (2010). Sincronización de la ovulación, índices de fertilización y calidad embrionaria en donantes de embriones bovinos. Tesis para obtener el grado académico de magister en ciencias agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, facultad de ciencias agropecuarias escuela para graduados, Córdoba, Argentina, Pág. 43.
8. Associated Factors with the First Postpartum Estrus in Crossbred Dual Purpose Cows. Universidad de Los Andes-Trujillo., Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Zulia. Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. 17, N° 4*. Pág. 386 - 394,
9. RAMÍREZ IGLESIA L. N., DE RAMÍREZ A., MARTÍNEZ J. A., ROMÁN BRAVO R., SOTO-BELLOSO E., VIERA ROSALES F. B. (2007). Fertility and Open Days and Their Relation with Associated Factors with the First Postpartum Estrus in

- Crossbred Dual Purpose Cows. Universidad de Los Andes-Trujillo., Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Zulia. Maracaibo, Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. 17, N° 4. Pág. 386 – 394.
10. BÓ G.A., BARUSELLI P.S., CHESTA P. (2006b). Dinámica folicular. Momento de la ovulación e inseminación artificial a tiempo fijo en donantes de embriones. Instituto de reproducción animal de Córdoba (IRAC), Córdoba Argentina, departamento de reprodução animal, FMVZ-USP, São Paulo, Brasil. Jornadas de actualización en biotecnologías de la reproducción en bovinos IRAC.
 11. HAHN J. (1992). Attempts to explain and reduce variability of superovulation. Theriogenology 38. Pág. 269-275.
 12. RAMIREZ IGLESIA, L. N, DIAZ DE RAMIREZ A., TORRES L, VIDAL M. (2010). Signos y síntomas de La conducta sexual de un rebaño de ganadería Gyr. Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología. Universidad de los Andes, Trujillo, Venezuela. Revista Mundo Pecuário. Volumen 7, N° 1, Pág. 22-25.