

# Efecto de diferentes variables sobre la preñez en búfalas sometidas a sincronización del celo e inseminación artificial a tiempo fijo

Crudeli, G.A.; Pellerano, G.S.; Olazarri, M.J.; Konrad, J.L.; Patiño, E.M.; Cedres, J.F.

Cátedra Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel/fax 03783-425753.  
E-mail: [gcrudeli@vet.unne.edu.ar](mailto:gcrudeli@vet.unne.edu.ar)

## Resumen

**Crudeli, G.A.; Pellerano, G.S.; Olazarri, M.J.; Konrad, J.L.; Patiño, E.M.; Cedres, J.F.:** *Efecto de diferentes variables sobre la preñez en búfalas sometidas a sincronización del celo e inseminación artificial a tiempo fijo.* *Rev. vet. 19: 1, 14–17, 2008.* El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes variables sobre la tasa de preñez de búfalas sometidas a un protocolo de sincronización del celo y ovulación e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). A partir de los 50 días posparto, 235 búfalas fueron sometidas al siguiente esquema de sincronización: 10 µg de GnRH (día 0); 15 mg de PGF2α (día 7); 10 µg de GnRH (día 9); IATF (día 10, dieciséis horas después de la segunda aplicación de GnRH). Las variables consideradas fueron condición corporal, cantidad de partos previos, presencia o ausencia de mucus genital y dificultad a la inseminación. La preñez total lograda fue del 53%. La ausencia o presencia de mucus se tradujo en tasas de preñez de 50 y 89% respectivamente. Según el número de partos (primíparas, 2 y 3 o más partos) los resultados fueron de 40, 50 y 58% respectivamente ( $p < 0,05$ ). Las condiciones corporales (<3, 3 a 4 y >4) obtuvieron 45, 55 y 56% de preñez respectivamente. Cuando se evaluó la preñez de acuerdo a la dificultad en la inseminación (sin dificultad, dificultad media y dificultad severa) los resultados fueron de 63, 50 y 0% respectivamente. Se concluye que al optimizar las variables estudiadas, la inseminación a tiempo fijo se convierte en una herramienta capaz mejorar el desempeño reproductivo en búfalos.

**Palabras claves:** búfalo, sincronización del celo, inseminación artificial, preñez.

## Abstract

**Crudeli, G.A.; Pellerano, G.S.; Olazarri, M.J.; Konrad, J.L.; Patiño, E.M.; Cedres, J.F.:** *Effect of different variables on the pregnancy in buffaloes submitted to heat synchronization and fixed time artificial insemination.* *Rev. vet. 19: 1, 14–17, 2008.* The objective of this study was to assess the general pregnancy of buffaloes submitted to a heat and ovulation protocol, as well as a fixed time artificial insemination (IATF). The protocol utilized was: 10 µg of GnRH (day 0); 15 mg of PGF2α (day 7); 10 µg of GnRH (day 9); IATF (day 10, sixteen hours after second application of GnRH). The evaluated variables were: body condition (BC), number of calving, presence or absence of genital mucus, and difficulty during the insemination. The total pregnancy achieved was 53%, while for absence or presence of genital mucus results were 50 and 89%, respectively. According to the numbers of calving (primiparous, 2, and 3 or more calving), results were 40, 50 and 58%, respectively ( $p < 0.05$ ). The BC, considered as <3, 3 to 4, and >4, correlated with pregnancy rates of 45, 55 and 56%, respectively. When evaluating the pregnancy according to the difficulty during insemination (classified as 0: without difficulty, 1: medium difficulty and 2: severe difficulty), results of 63, 50 and 0% were obtained, respectively. It is concluded that, when considering these variables, artificial insemination to fixed time is an useful tool to obtain a good reproductive performance in buffaloes.

**Key words:** buffalo, heat synchronization, artificial insemination, pregnancy.

## INTRODUCCIÓN

El empleo de la inseminación artificial (IA) en bovinos ha sido ampliamente estudiado y utilizado con éxito en establecimientos agropecuarios de todo el mundo, permitiendo una más rápida y eficiente mejora genética de los rodeos. En cambio, esta biotecnología ha sido menos estudiada en bubalinos y menos empleada por los criadores debido a ciertas dificultades en la identificación de las manifestaciones del estro y en la determinación del momento apropiado para realizar la IA.

Una característica reproductiva que debe ser considerada en los bubalinos es la baja incidencia del comportamiento homosexual durante el estro, o sea el hábito de las hembras de montarse unas sobre las otras durante la fase de aceptación. Al contrario de los bovinos, es raro observar esta sintomatología en los búfalos, pues ocurre apenas en el 3,44%<sup>2</sup> o el 11%<sup>9</sup> de los casos. Este comportamiento dificulta la visualización externa del celo y durante mucho tiempo hizo pensar que los bubalinos presentaban celos silenciosos y que era indispensable utilizar retajos para detección de celo en esta especie. Esta característica, asociada a grandes variaciones en la duración de los celos bubalinos (6 a 48 horas), torna el manejo de detección de celo más trabajoso y dificulta el empleo de la IA<sup>4</sup>.

La sincronización del celo y de la ovulación por métodos hormonales en bovinos ha presentado resultados alentadores para el empleo de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)<sup>17</sup>. Los protocolos de sincronización existentes permiten realizar la IATF (en horario predeterminado), sin la necesidad de observar el estro. En especies bubalinas existe menor información sobre la utilización de la sincronización de la ovulación utilizando IATF. La sincronización de la ovulación por métodos hormonales permite que la IA sea realizada a tiempo fijo y elimina la necesidad de observación del celo, lo que posibilita una gran economía de mano de obra y permite que las inseminaciones sean agrupadas y programadas, optimizando el tiempo de trabajo y reduciendo costos<sup>4,10</sup>.

GnRH es un decapeptido producido y liberado por el hipotálamo. La secreción de GnRH provoca que la adenohipófisis libere LH, la cual actúa directamente sobre el folículo dominante, causando ovulación. El pico de LH ocurre 2 horas después de la aplicación de GnRH; luego de 4 horas, las concentraciones de LH disminuyen. Se observó que las vacas que recibieron una aplicación de GnRH seis días antes de la administración de PGF2 $\alpha$  tuvieron el tiempo y la variabilidad del celo reducidos, en relación a aquellas tratadas solamente con PGF2 $\alpha$ <sup>17</sup>. La aplicación de buserelina (agonista de GnRH), seguida de la aplicación de PGF2 $\alpha$  en el día siete, produjo menor variabilidad en el momento del celo, cuando fue administrada en el día 8 luego de aplicar GnRH.

El tratamiento con GnRH causa la ovulación del folículo dominante presente en el momento del tratamiento. Al no desencadenarse la ovulación, el folículo entra en proceso de atresia, surgiendo una nueva onda de crecimiento folicular entre dos a tres días después de la aplicación de GnRH<sup>13</sup>. La formación del cuerpo lúteo luego de la ovulación inducida por GnRH, inhibe los síntomas de celo entre la aplicación de GnRH y PGF2 $\alpha$ . Entretanto, el 60 a 70% de los animales son detectados en celo 4 días después de la aplicación de PGF2 $\alpha$ <sup>17</sup>.

Varios trabajos han demostrado que la sincronización del celo y de la ovulación, pueden ser considerablemente mejorados con una segunda aplicación de GnRH, 36 a 48 horas después de la inyección de PGF2 $\alpha$ <sup>1</sup>. Esta segunda aplicación de GnRH concentra las ovulaciones dentro de un período de 8 a 12 horas, lo que permite la realización de la IA en tiempo fijo, 16 a 24 horas luego de la segunda administración de GnRH. Estudiando la dinámica folicular durante el protocolo Ovsynch<sup>13</sup>, se observó que todas las hembras tratadas (100%) ovularon entre 24 y 32 horas luego de la segunda aplicación de GnRH, 48 horas después de la PGF2 $\alpha$ .

El presente trabajo tuvo por finalidad estudiar la respuesta de los bubalinos a los protocolos hormonales que utilizan GnRH y prostaglandinas, en un esquema de IA a tiempo fijo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en un establecimiento ubicado en el Departamento Empedrado, Provincia de Corrientes (Argentina). Se dispuso de 235 hembras de raza Mediterránea y cruce Murrah, que inicialmente fueron divididas según el número de partos logrados por cada hembra (vacas de uno, dos y tres o más partos) y según la condición corporal (CC) mediante escala de 1 a 5 (1: flaca, 5: obesa).

En el momento de la IATF las búfalas fueron agrupadas teniendo en cuenta variables como mucus genital (presencia o ausencia) y grado de dificultad en la IA, surgiendo las categorías 0 (sin dificultad), 1 (dificultad media) y 2 (dificultad alta: no superaban el tercer anillo del cuello uterino).

Promediando los 50 días posparto, las búfalas fueron sometidas al siguiente protocolo de sincronización:

1<sup>a</sup> aplicación (día 0): 10  $\mu$ g de GnRH\* (acetato de buserelina);

2<sup>a</sup> aplicación (día 7): 15 mg de PG F2 $\alpha$ \*\* (D[+]cloprostenol);

3<sup>a</sup> aplicación (día 9): 10  $\mu$ g de GnRH\*;

IA (día 10): 16 horas después de la 2<sup>a</sup> aplicación de GnRH\*.

\*Gestar® (Over), \*\*Prostal® (Over).

El semen utilizado, de origen brasilero, perteneció a un toro de la raza Mediterránea (Nápoli) y otro de la raza Murrah (Repique). Previamente a su utilización, fueron controlados mediante la prueba de termo-resistencia (2 h a 37°C), superando ambos el límite mínimo del 20% de espermatozoides vivos aptos (microscopía óptica a 120x).

Quince días después de la IATF se introdujeron cuatro toros que permanecieron con las hembras durante 45 días. Los sementales estaban clínicamente sanos y libres de enfermedades como brucelosis, campilobacteriosis y tritrichomoniasis.

Los datos obtenidos fueron evaluados mediante el test de independencia de  $X^2$ , con el objeto de determinar la existencia de diferencias significativas entre la preñez lograda y las variables CC, número de partos, mucus y dificultad a la IATF.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de 235 hembras inseminadas a tiempo fijo, 125 búfalas resultaron preñadas (53%). Esta tasa de preñez supera levemente a la obtenida en el sur de Brasil en animales de tambo, donde logró un promedio del 50,2% de preñez<sup>4</sup>, al igual que a la reportada en dos tambos de Italia (46,15 y 51,60%)<sup>11,12</sup>. En cambio, la tasa de preñez resultante del presente ensayo fue levemente inferior a la obtenida al aplicar al Ovsynch una dosis previa de PGF2 $\alpha$  a los 7 días (56% de preñez)<sup>5</sup>. También fue levemente inferior a un esquema Ovsynch (56%), pero superior al obtenido tras una doble aplicación de PGF2 $\alpha$  a los 0 y 13 días, más una aplicación de GnRH 48 horas después (día 15) y ambos grupos inseminados a las 16 horas post GnRH<sup>16</sup>. Un reporte de Colombia muestra resultados inferiores (30% de preñez), con la utilización de un protocolo Ovsynch<sup>15</sup>.

Nuestro porcentaje de preñez fue superior al reportado por otros investigadores, quienes para diferentes períodos posparto obtuvieron tasas que fueron desde 46,7 hasta 27,6%, este último con inseminación a celo natural<sup>8,14</sup>. Aplicando el protocolo Ovsynch, en otros trabajos se comparó la utilización de LH versus GnRH, variando los resultados obtenidos desde 56,5 a 64,2%, sin diferencia significativa entre ellos<sup>6,9</sup>. Al sustituir GnRH por gonadotropina coriónica (hCG), los resultados fueron de 46,8 versus 50,8% para GnRH y hCG respectivamente, sin diferencia estadística entre los tratamientos<sup>9</sup>. Es necesario destacar que el presente trabajo se llevó a cabo con animales de carne en rodeo general extensivo y bajo condiciones de estrés, este último generado por el manejo de encierre diario.

En la Tabla 1 se consignan las tasas de concepción según el número de partos de la hembra, con diferencias que resultaron estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Al ser comparadas con las búfalas de dos y tres o más partos, las primíparas registraron una menor eficiencia. Estos resultados son similares a los reportados por autores que obtuvieron valores de 37,9% para las primíparas y de 47 a 55% de preñez en animales de dos y tres o más partos, significativamente superiores a las primíparas<sup>3</sup>. Se destaca el muy buen resultado (58%) logrado por las búfalas de 3 o más partos.

En referencia a la presencia de mucus (Tabla 2), se observó que solo el 16,6% de las búfalas sincronizadas presentó mucus en el momento de la IA. El hecho importante es que del total de hembras que poseían mu-

cus se preñó el 89%, en tanto que sólo un 50% de las que no lo tenían logró concebir. Se puede inferir que en búfalas con presencia de mucus, tanto la sincronía como la ovulación fueron superiores a las que no lo presentaban. No obstante, el resultado del 50% es bueno y estaría reflejando que las hormonas aquí utilizadas produjeron el efecto esperado (desarrollo del folículo y ovulación), aún en ausencia de mucus visible.

En la Tabla 3 se exponen las tasas de concepción según el grado de dificultad a la IA. Pese al bajo número de hembras que presentaron problemas al momento de realizar la IA, se advierte que sus posibilidades de preñez son menores, especialmente las que registraron grado 2 (impedimento para depositar el semen en el cuerpo y última porción del cervix).

La Tabla 4 muestra el porcentaje de concepción obtenido según la CC de las hembras. Cabe destacar que el número de animales de cada estrato de CC fue muy dispar, pues el rodeo mostraba en general condiciones aceptables (grados 3 y 4 en la escala de 1 a 5), siendo muy pocos lo que se destacaban por condiciones excelentes o muy pobres. No obstante ello, los resultados muestran menores tasas de preñez para las hembras con  $CC < 3$  y mayores para las dos condiciones restantes, muy semejantes entre sí. En otros trabajos también quedó demostrada la influencia de la CC en la tasa de

**Tabla 1.** Tasa de preñez según el número de partos.

| partos     | n   | preñez (% y n)         |
|------------|-----|------------------------|
| 1 parto    | 15  | 40,0 <sup>a</sup> (6)  |
| 2 partos   | 98  | 50,0 <sup>b</sup> (53) |
| ≥ 3 partos | 122 | 58,0 <sup>b</sup> (66) |
| total      | 235 | 53,0 (125)             |

n: número de animales. Letras distintas <sup>a-b</sup> indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Tasa de preñez según presencia de mucus.

| mucus    | n   | preñez (% y n) |
|----------|-----|----------------|
| presente | 33  | 89 (28)        |
| ausente  | 202 | 50 (101)       |
| total    | 235 | -              |

n: número de animales.

**Tabla 3.** Tasa de preñez según dificultad a la IA.

| dificultad a la IA | n   | preñez (% y n) |
|--------------------|-----|----------------|
| grado 0            | 220 | 62,7 (138)     |
| grado 1            | 13  | 30,7 (4)       |
| grado 2            | 2   | 0 (2)          |
| total              | 235 | -              |

n: número de animales.

**Tabla 4.** Tasa de preñez según condición corporal.

| CC    | n   | preñez (% y n) |
|-------|-----|----------------|
| < 3   | 18  | 44,4 (8)       |
| 3 - 4 | 202 | 53,9 (109)     |
| > 4   | 15  | 53,3 (8)       |
| total | 235 | -              |

n: número de animales.

concepción, tanto para la IA tradicional como para la IA con sincronización de la ovulación e IATF<sup>2,7</sup>.

Se concluye que la tasa de preñez en búfalos sometidas a sincronización del celo e inseminación artificial a tiempo fijo aumenta en forma directamente proporcional al número de partos previos registrado por la hembra, a la presencia de mucus genital, a la alta condición corporal y a la ausencia de dificultades a la inseminación artificial. Asimismo, se demuestra la viabilidad de la aplicación de IATF en rodeos bubalinos para producción de carne bajo sistema de manejo extensivo en zona subtropical.

**Agradecimientos.** Al Dr. Daniel Pochon por la realización de los análisis estadísticos. Al señor Hernán Félix Gómez Danuzzo y personal del establecimiento Rincón del Madregon, por facilitar los animales e instalaciones para este trabajo.

## REFERENCIAS

1. **Bartolomeu CC, Del Rei AJ, Madureira EH, Souza AJ, Silva AJ, Baruselli PS.** 2001. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos utilizando-se CIDR-B Crestar e Ovsynch. *Rev Bras Reprod Anim* 25: 334-336.
2. **Baruselli PS, Barnabe VH, Barnabe RC.** 1995. Efeito da condição corporal sob a taxa de gestación en búfalos. *Anais Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões* (Atibada, Brasil), p. 229.
3. **Baruselli PS.** 1997. Estudo da dinâmica folicular para o emprego de biotecnologías da reprodução em bubalinos. *Anais Congresso Nordeste de Produção Animal* (Fortaleza, Brasil), p. 79-96.
4. **Baruselli PS, Oliveira JF, Mattos JC.** 1998. Eficiência reproductiva de búfalos criados no Vale do Ribeira-SP. *Anais Congresso Brasileiro de Reprodução Animal* (Belo Horizonte, Brasil), p. 285.
5. **Baruselli PS, Carvalho NA, Enriquez CH, Nichi M.** 2000. Pre-synchronization with GnRH 7 days before Ovsynch protocol for timed insemination in buffalo. *Anais I Simpósio de Búfalos de las Américas* (Belem, Brasil), p. 414-417.
6. **Berber RC, Madureira EH, Baruselli PS.** 2002. Comparison of two protocols (GnRH vs. LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 57: 1421-1430.
7. **Bhalaru SS, Tiwana MS, Singh N.** 1987. Effect of body condition at calving on subsequent reproductive performance in buffaloes. *Indian J Anim Sci* 57: 33-36.
8. **Camelo AS, Ribeiro HF, Silva AO, Souza JS, Vale WG.** 2000. Pregnancy rates in suckled female buffaloes submitted to oestrus and ovulation synchronization with artificial insemination in fixed time. *Anais I Simpósio de Búfalos de las Américas* (Belem, Brasil), p. 482-485.
9. **Carvalho NA, Reichert RH, Nichi M, Henriquez CE, Oliveira CA, Baruselli PS.** 2004. Use of hCG to timed artificial insemination in buffalo. *Proceedings of XV International Congress of Animal Reproduction* (Porto Seguro, Brasil), p. 543.
10. **Crudeli GA, Maldonado Vargas P, Flores Barbaran SM.** 1997. Reproduction in buffaloes in the Northeast of Argentina. *Proceedings of 5th World Buffalo Congress* (Caserta, Italia), p. 779-782.
11. **Di Palo R, Gasparrini B, Zicarrelli L, Neglia G.** 2007. Administration of a luteolytic dose of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  at the time of AI. *Ital J Anim Sci* 6: 705-708.
12. **Neglia G, Gasparrini B, Di Palo R, De Rosa C, Zicarrelli L, Campanille G.** 2003. Comparison of pregnancy rates with two oestrus synchronization protocols in Italian Mediterranean Buffalo cows. *Theriogenology* 60: 125-133.
13. **Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC.** 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub> and GnRH. *Theriogenology* 44: 915-923.
14. **Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA.** 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at synchronization of ovulation. *J Dairy Sci* 80: 301-306.
15. **Ramirez AJ, Rojas JD, Marulanda JB, Medina S.** 2006. Evaluación del protocolo Ovsynch de inseminación artificial a tiempo fijo y diagnóstico temprano de gestación en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) durante la estación reproductiva 2005. *Anales III Simposio de Búfalos de las Américas y II Europeo-Americano*, Medellín (Colombia), p. 193.
16. **Ronci G, De Rensis F.** 2005. Comparison between Ovsynch protocol o prostaglandin plus GnRH for fixed time artificial insemination in buffalo cows. *Proceedings 3° Congresso Nazionale Allevatore Bufalos* (Carpaccio, Italia), p. 248.
17. **Thatcher WW, Drost M, Savio JD.** 1993. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim Reprod Sci* 33: 27-49.