

## **EFFECTO DEL TIPO DE CIDR Y DE LA ADMINISTRACIÓN DE eCG SOBRE EL DESARROLLO FOLICULAR, EL CELO Y LA FERTILIDAD EN NOVILLAS HOLSTEIN SOMETIDAS A UN PROTOCOLO MODIFICADO DE 5 DÍAS BASADO EN GnRH**

Sanz<sup>1,2</sup>, A., Gobikrushanth<sup>1</sup>, M., Colazo<sup>1</sup>, M.G.

<sup>1</sup>Livestock Systems Section, Alberta Agriculture and Forestry, Edmonton, Alberta, Canada;

<sup>2</sup>CITA de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50193 Zaragoza, España. asanz@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

En la actualidad, el protocolo de sincronización ovárica más comúnmente usado en vacas es de 7 días y se basa en el uso de GnRH combinada con prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF). En los últimos años, se han estudiado ajustes al protocolo clásico de 7 días, para tratar de unificar y mejorar los resultados de preñez en novillas; por ejemplo, añadir un CIDR para evitar ovulaciones tempranas (Martínez et al., 2002), o disminuir de 7 a 5 días el tratamiento con CIDR y extender el intervalo desde la retirada del CIDR a la inseminación artificial (Colazo y Ambrose, 2011). Además, ha cobrado importancia el uso de la gonadotropina coriónica equina (eCG o PMSG), en protocolos de sincronización con inseminación a tiempo fijo (IATF). Se ha reportado que la eCG, a través de su acción de FSH y LH, aumenta el tamaño del folículo preovulatorio y mejora los porcentajes de preñez a la IATF (Baruselli et al., 2004). En un estudio reciente, la incorporación de eCG en protocolos cortos de sincronización en novillas de carne aumentó la tasa de estro en un 7%, con una mejora significativa de la tasa de preñez a la IATF en dos explotaciones, pero no en una tercera (Revisado en Sanz et al., 2019).

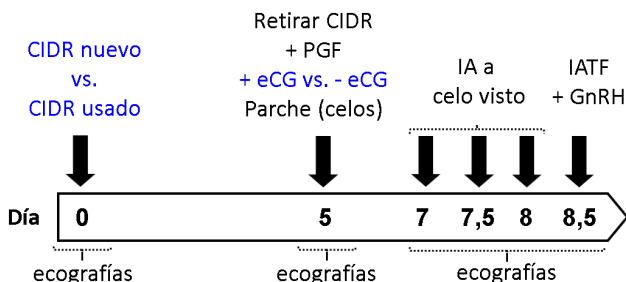
Por otro lado, dispositivos con diferente contenido de progesterona también podrían afectar el crecimiento folicular y la fertilidad, a través del efecto inhibitorio de la progesterona sobre la LH (Colazo et al., 2004). Sin embargo, no hay estudios que se hayan centrado en el uso de la eCG en protocolos cortos de sincronización de celo en novillas, aplicando dispositivos con diferente contenido de progesterona. Por lo tanto, en este ensayo se pretendían comprobar dos hipótesis: (1) el uso de CIDRs nuevos disminuye el crecimiento del folículo preovulatorio, el porcentaje de animales en celo y la tasa de preñez; y (2) la administración de eCG a la retirada del CIDR aumenta el crecimiento del folículo preovulatorio, el porcentaje de animales en celo y la tasa de preñez. El objetivo de este ensayo fue comparar el desarrollo folicular ovárico, la expresión de celo y la tasa de fertilidad en novillas Holstein que recibieron un CIDR nuevo o usado durante 5 días, con o sin 300 UI de eCG a la retirada del CIDR.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para ello, se realizó un ensayo con un diseño experimental de 2x2 con 133 novillas Holstein de 13 a 15 meses de edad en la explotación comercial Breevliet Ltd. (<http://breevliet.com/>) ubicada en Wetaskiwin (Alberta, Canadá). Las novillas recibieron 17 kg MF/día de una ración mixta, a base de heno de hierba (7,44%), ensilado de hierba (17,85%), ensilado de cebada (47,58%), bagazo de cerveza (17,85%), cebada (5,95%), paja de cebada (2,97%), correctores, vitaminas y minerales (0,36); con una composición química de 45% MS, 15,2% PB, ADF 30,4%, NDF 42,7%, EN 1,36 Mcal/kg. En el día 0 del ensayo se colocó un dispositivo de progesterona nuevo o usado (CIDR; Zoetis Animal Health, Canada) (Figura 1). En el día 5 se retiró el CIDR, se administró una dosis de PGF (Estroplan; Vetoquinol NA Inc., Canadá), y se colocaron parches de detección de estro (Estroprotect™; Rockway Inc., Spring Valley, WI, EEUU) entre la cadera y la cola de las novillas; además, la mitad de las novillas recibieron 300 UI de eCG (Pregnenol; Vetoquinol NA Inc., Canada). Se realizó la detección de estro 2 veces al día (mañana y noche) durante 84 horas después de la retirada del CIDR. Las novillas con un parche activado se inseminaron aproximadamente 12 h después de la observación. Todas las novillas que a las 84 horas no habían exhibido celo recibieron una dosis de GnRH (Fertiline; Vetoquinol NA Inc., Canada) y se inseminaron a tiempo fijo. Todas las novillas fueron inseminadas por el mismo técnico con semen congelado y descongelado, sexado o convencional de uno de los cuatro toros disponibles comercialmente (Alta Genetics Canadá, <http://map.altagenetics.com/>). Se realizaron ecografías de los ovarios en 71 novillas en el

momento de la inserción y retirada del CIDR, en el momento de la IA y cada 12 horas tras la IA, para determinar la dinámica ovárica (número, ubicación y tamaño de los folículos y cuerpos lúteos presentes en el ovario) y examinar los efectos de los protocolos de sincronización aplicados sobre el crecimiento folicular, la ovulación, el desarrollo y función del cuerpo lúteo. Se realizó un diagnóstico de gestación por ecografía 28 días después de la IA.

Se realizó un análisis estadístico de los resultados del ensayo con el programa JMP (versión 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.). El diámetro del folículo preovulatorio a la retirada del CIDR y en el momento de la IA, el crecimiento del folículo preovulatorio y el intervalo desde la retirada del CIDR a la detección de celo se analizaron con el procedimiento MIXED, considerando como efectos fijos el tipo de CIDR (nuevo vs. usado), la inclusión de eCG (con vs. sin) y sus interacciones. Las tasas de celo, ovulación y preñez se analizaron con el procedimiento GLIMMIX, con los mismos efectos fijos que en el análisis anterior. En el caso de la tasa de preñez, también se incluyó el efecto del tipo de semen (convencional vs. sexado). Los valores están expresados como las medias de mínimos cuadrados.



**Figura 1.** Protocolos de sincronización aplicados a las novillas en el ensayo realizado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del ensayo se resumen en la Tabla 1. Ninguna de las interacciones analizadas fue significativa. Con relación al estudio de la dinámica folicular ovárica en las novillas Holstein, el diámetro del folículo preovulatorio a la retirada del CIDR no se vio afectado por el tipo de CIDR usado o por la administración de eCG. Sin embargo, las vacas que recibieron un CIDR usado tendieron a tener un mayor diámetro del folículo preovulatorio en el momento de la IA ( $P = 0,08$ ). La inclusión de eCG no afectó al tamaño del folículo preovulatorio en el momento de la IA. La velocidad de crecimiento del folículo preovulatorio de las novillas no se vio afectada por el tipo de CIDR usado o por la inclusión de eCG en el protocolo de sincronización. La tasa de expresión de celo de las novillas fue similar en los cuatro lotes del ensayo (85,3%), independientemente de los tratamientos del ensayo, en línea con lo descrito en otros trabajos (Colazo et al., 2018). El intervalo de tiempo que transcurrió desde la retirada del CIDR hasta la detección de celo en las novillas tampoco se vio influido por el tipo de CIDR usado o por la administración de eCG en el protocolo de sincronización. La tasa de ovulación obtenida en el ensayo fue del 95,5% (127/133), similar en todos los tratamientos.

La tasa de preñez global del ensayo fue de 53,4% (71/133). El tipo de CIDR tuvo un efecto significativo sobre la tasa de preñez, que fue un 26% mayor en las novillas que recibieron un CIDR nuevo, en contra de la hipótesis de partida del ensayo. En este ensayo fue 2,88 veces más probable que se quedaran preñadas las novillas que recibieron un CIDR nuevo frente a las tratadas con un CIDR usado, que pudo deberse al hecho de que en un ambiente de progesterona baja un folículo en crecimiento puede tender a convertirse en un folículo persistente. Además, si la progesterona es baja, aumentará la pulsatilidad de LH, pudiendo desencadenar una premaduración del oocito e incapacidad para desarrollarse.

La inclusión de eCG no mejoró la tasa de preñez, en línea con lo descrito por Small et al. (2010) en novillas de carne. Estos autores justificaron la ausencia de efecto de la eCG sobre la fertilidad debido a que la mayoría de animales presentaban folículos preovulatorios con un diámetro  $\geq 10$  mm en el momento de la IA, por lo que no tendrían comprometida la fertilidad. Estos resultados confirman que la eCG sería efectiva únicamente en animales que están

comprometidos metabólicamente. El tipo de semen tampoco mostró efecto sobre la tasa de preñez obtenida ( $53,2 \pm 0,1$  vs.  $57,1 \pm 0,1$  %, para semen convencional y sexado).

A la vista de estos resultados, no se han podido confirmar las dos hipótesis de trabajo. Al contrario, (1) el uso de CIDRs nuevos mejoró un 26% la tasa de preñez de las novillas frente a los CIDRs usados; y (2) la administración de eCG a la retirada del CIDR no tuvo ningún efecto sobre el crecimiento del folículo preovulatorio, la expresión de celo o la tasa de preñez, en novillas sometidas a un protocolo de 5 días acompañado de un CIDR.

**Tabla 1.** Parámetros reproductivos (media  $\pm$  e.e.) en novillas sometidas a un protocolo de sincronización de 5 días modificado, en función del tipo de CIDR y de la inclusión de eCG.

	CIDR		eCG		P <sup>1</sup>	
	nuevo	usado	con	sin	CIDR	eCG
Diámetro FP <sup>2</sup> a la retirada CIDR (mm)	11,5 $\pm$ 0,5	12,5 $\pm$ 0,5	11,5 $\pm$ 0,5	12,5 $\pm$ 0,5	NS	NS
Diámetro FP a la IA (mm)	14,8 $\pm$ 0,3	15,5 $\pm$ 0,3	15,3 $\pm$ 0,3	15,0 $\pm$ 0,3	= 0,08	NS
Velocidad crecimiento FP (mm/día)	1,17 $\pm$ 0,12	1,14 $\pm$ 0,11	1,13 $\pm$ 0,11	1,06 $\pm$ 0,12	NS	NS
Intervalo retirada CIDR - celo (horas)	62,6 $\pm$ 2,3	65,0 $\pm$ 2,0	64,2 $\pm$ 2,2	63,4 $\pm$ 2,1	NS	NS
Tasa de celo (%)	86,4 $\pm$ 0,1	84,3 $\pm$ 0,0	82,6 $\pm$ 0,1	87,8 $\pm$ 0,0	NS	NS
Tasa de preñez (%)	67,2 $\pm$ 0,1	41,6 $\pm$ 0,1	51,2 $\pm$ 0,1	58,1 $\pm$ 0,1	= 0,005	NS

<sup>1</sup> Los valores P indican una diferencia significativa ( $< 0,05$ ), una tendencia a la diferencia ( $0,05 < P < 0,10$ ) o ninguna diferencia (NS). <sup>2</sup> FP: folículo preovulatorio.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Baruselli, P.S. et al., 2004. Anim. Reprod. Sci. 82-83: 479-486. • Colazo, M.G. et al., 2004. Anim. Reprod. Sci. 81: 25-34. • Colazo M.G. y Ambrose D.J., 2011. Theriogenology 76: 578-588. • Colazo, M.G. et al., 2018. Theriogenology 118: 90-95 • Martínez, M.F. et al., 2002. Theriogenology 57: 1049-1059. • Sanz, A. et al., En prensa. Revista ITEA-Inf. Tec. Econ. Agrar. 115. • Small, J.A. et al., 2010. Canadian J. Anim. Sci. 90: 23-34.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen el apoyo de Alberta Agriculture and Forestry (Canadá), Vetoquinol N.-A Inc. (Canadá) por la eCG y a Breevliet Ltd. (Canadá). A. Sanz (Grupo de investigación del Gobierno de Aragón A14\_17R) recibió una Subvención para Estancias de movilidad del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (PRX18/00097).

#### EFFECT OF TYPE OF CIDR AND eCG ADMINISTRATION ON FOLLICLE DEVELOPMENT, ESTRUS ACTIVITY AND FERTILITY IN HOLSTEIN HEIFERS SUBJECTED TO A MODIFIED 5-D GnRH-BASED PROTOCOL

**ABSTRACT:** It was compared follicle development, estrus expression and fertility in 133 Holstein heifers (13-15 months) given new or used CIDR (d0) for 5 days, with or without 300 IU eCG at CIDR removal (d5; 2x2 factorial design). On d5, heifers also received 500ug cloprostenol, and an estrus detection patch (Estrotect™). Heifers with activated patch were inseminated 12h after. All heifers failing to exhibit estrus by 84h after CIDR removal received 100ug GnRH and were TAI. Ovarian ultrasonography was performed at CIDR insertion and removal, at AI, every 12h after AI and 28d after AI. Preovulatory follicle diameter at AI tended to be greater for heifers given a used CIDR (15.5 vs. 14.8 mm,  $P=0.08$ ). Incidence of estrus, ovulation and interval from CIDR removal to estrus were not affected by CIDR type nor eCG administration. Overall, estrus and pregnancy rates were 85.3 and 53.4%. Pregnancy rate was not affected by neither semen type nor eCG administration, but it was greater in heifers with new CIDR (67.2 vs. 41.6%,  $P=0.005$ ). In conclusion, heifers given new CIDR tended to have smaller preovulatory follicles and 2.88 greater odds of becoming pregnant than those given used CIDR but none of the parameters measured were affected by eCG administration.

**Keywords:** Dairy, ovarian synchronization program, timed artificial insemination.