



INFORME ACADÉMICO FINAL

Proyectos de Investigación 2016-2017

PROYECTO:

Sincronización de la ovulación en ganado de carne y leche, utilizando tratamientos que prolongan el proestro previo a la IATF

DIRECTOR:

Gabriel Amilcar Bó

CO-DIRECTOR:

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN:

Mariana Caccia

Cuervo Rodrigo

Piccardi, Monica

De la Mata, Javier

Re Martin

Menchaca Alejo

ALUMNOS INTEGRANTES:

Cardinalli Jose

Macagno Alejandro

Demichelis Matias



INFORME ACADÉMICO FINAL

Proyectos de Investigación 2016-2017

1. INFORME ACADÉMICO DEL PROGRAMA/PROYECTO

En los últimos años se han realizado progresos significativos en la mejor comprensión de los patrones del crecimiento de los folículos ováricos bovinos y como se puede sincronizar su crecimiento y ovulación (Bó et al., 2013). Se ha reportado recientemente sobre un nuevo tratamiento (protocolo J-Synch) donde la remoción del dispositivo con progesterona fue realizada 6 días después (en lugar de 7) y se prolongó el proestro administrando GnRH a las 72 h (de la Mata y Bó, 2012). Las tasas de preñez a la IATF tendieron a ser mayores a las obtenidas con el protocolo convencional utilizado en Argentina en vaquillonas Holando Argentino (Ré et al., 2014; 2015) y significativamente mayores en vaquillonas de carne (Bó et al., 2016). El Objetivo General de este proyecto de investigación fue continuar con los estudios sobre la utilización del protocolo J-Synch y determinar con mayor profundidad su efecto sobre la dinámica folicular, niveles hormonales, características del folículo ovulatorio y endometrio, y tasas de preñez en ganado bovino de carne y leche. Los Objetivos Específicos fueron: 1. Evaluar el efecto de protocolo J-Synch sobre la dinámica folicular, desarrollo luteal, y el medio ambiente uterino en vaquillonas de carne. 2. Evaluar el efecto del protocolo J-Synch sobre las concentraciones intrafoliculares de estradiol, progesterona e IGF-1 vaquillonas de carne 3. Evaluar el efecto del protocolo J-Synch sobre las tasas de preñez en vacas con cría al pie inseminadas con semen convencional y vaquillonas de carne y leche inseminadas con semen sexado. Los resultados se resumen a continuación.

Objetivo 1. Se utilizaron 48 vaquillonas cruce Hereford y Angus de dos años de edad y ciclando que fueron asignadas al azar a dos grupos de tratamiento. Las vaquillonas del grupo convencional (Control, n = 24) recibieron un dispositivo de progesterona (0,5 g, DIB, Zoetis, Argentina) y 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Gonadiol, Zoetis) el Día 0, asociado a 500 µg de cloprostenol (PGF, Ciclase DL, Zoetis) y 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP, Cipiosyn, Zoetis) en el momento del retiro del DIB al Día 7. Las vaquillonas del grupo J-Synch (n = 24) recibieron el dispositivo DIB 0,5 g y 2 mg de EB en el Día 0, así como 500 µg de cloprostenol en el retiro del DIB que se hizo al Día 6, y recibieron 100 µg de acetato de gonadorelina (GnRH, Gonasyn GDR, Zoetis) 72 horas más tarde (Día 9). Las vaquillonas del grupo convencional ovularon $65,0 \pm 13,7$ horas después del retiro del dispositivo, mientras que las del grupo J-Synch ovularon $93,7 \pm 12,9$ después del retiro del DIB ($P < 0,05$). Además, la tasa de crecimiento del folículo dominante ovulatorio desde el retiro del dispositivo hasta la ovulación fue mayor en el protocolo J-Synch que en el convencional ($1,3 \pm 0,4$ vs. $1,0 \pm 0,4$ mm/día, respectivamente; $P < 0,06$). Las concentraciones séricas de progesterona fueron más altas ($4,7 \pm 0,2$ vs. $3,9 \pm 0,1$ ng/ml; $P < 0,05$) y el cuerpo lúteo (CL) fue mayor ($398,7 \pm 10,0$ vs. $357,3 \pm 10,0$ mm³; $P < 0,05$) en los 7 a 12 después de la ovulación en las vaquillonas del



INFORME ACADÉMICO FINAL

Proyectos de Investigación 2016-2017

grupo J-Synch comparadas con en el grupo convencional. En este mismo estudio, se realizaron biopsias endometriales a los 6 días luego de la ovulación y se evaluó la presencia y la expresión génica de receptores de progesterona, estradiol e IGF1. Los resultados mostraron una menor expresión de transcritos de receptores de progesterona ($P < 0,05$), lo que asociado a una mayor concentración sérica de esta hormona estaría indicando una regulación hacia abajo (downregulation) más acelerada que en el protocolo convencional. En conclusión, el protocolo J-Synch aumenta el intervalo entre el retiro del dispositivo y la ovulación, lo que estuvo asociado a una mayor tasa de crecimiento del folículo ovulatorio, un mayor tamaño del CL con concentraciones séricas de progesterona más elevadas y con un ambiente uterino mejor programado para recibir el embrión.

Objetivo 2. Se utilizaron 48 vaquillonas Polled Hereford de dos años de edad y ciclando que fueron asignadas al azar a dos grupos de tratamiento (convencional y J-Synch) igual que en el Objetivo 1. En el Día 8, todos los folículos dominantes que se identificaron fueron aspirados con un equipo de recolección de ovocitos (OPU; WTA, Brasil) usando presión máxima para tomar fluido folicular y células de granulosa. Las vaquillonas del grupo J-Synch fueron OPU 50-53 h (Día 8 PM) después de la remoción del DIB, mientras que las del grupo convencional fueron OPU 26-29 h (Día 8 AM) después de la remoción del DIB. Las muestras fueron centrifugadas para separar el licor folicular y las células de la granulosa que fueron almacenadas para su posterior análisis por RIA y por PCR de tiempo real, respectivamente.

Objetivo 3. Para este Objetivo se realizaron 5 experimentos. El Experimento 1 tuvo como Objetivo comparar las tasas de preñez en vacas de carne con cría al pie que fueron sincronizadas con el protocolo convencional vs el protocolo J-Synch. Se utilizaron 973 vacas de carne con cría al pie, con 50 a 90 días posparto y con una condición corporal (CC) media de $2,6 \pm 0,5$ (escala 1 al 5). Todas las vacas recibieron los dos tratamientos como en las vaquillonas, excepto que todas las vacas recibieron 400 UI de eCG (Novormon 5000, Zoetis) en el momento de la remoción del DIB. Las tasas de preñez en las vacas tratadas con el tratamiento convencional (60,3%) fueron mayores ($P < 0,05$) a las obtenidas con el protocolo J-Synch (49,1%). Creemos que la menor tasa de preñez en el protocolo J-Synch en vacas con cría al pie podría atribuirse que la administración exógena de ECP en el grupo convencional haya inducido la ovulación de folículos pequeños y puede haber compensado la falta de estradiol endógeno producido por los folículos preovulatorios. Otra alternativa puede ser que se haya inyectado con GnRH a las vacas del protocolo J-Synch muy temprano. Por lo tanto se deberán hacer más trabajos de investigación para confirmar el horario de ovulación de las vacas y tal vez atrasar los horarios de IATF.

Los otros experimentos realizados tuvieron como objetivo evaluar las tasas de preñez obtenidas con el protocolo J-Synch usando semen sexado. En el Experimento 2 se utilizaron 357 vaquillonas Angus que fueron tratadas con el protocolo J-Synch. En el día de la remoción del dispositivo (Día 6) se pintó en la base de la cola para la detección de celos. Las



INFORME ACADÉMICO FINAL Proyectos de Investigación 2016-2017

vaquillonas que manifestaron celo a las 72 h de la remoción del DIB fueron IATF con semen sexado hembra (SexedULTRA de 4 millones de espermatozoides) o con semen convencional no sexado (convencional). Las vaquillonas que no manifestaron celo a las 72 h recibieron GnRH en ese momento y fueron IATF a las 84 h con semen sexado o convencional. Las tasas de preñez fueron mayores ($P < 0,01$) para semen convencional (62,5%; 110/176) que para semen sexado (45,5%; 82/180). A su vez las vaquillonas que mostraron celo tuvieron una mayor tasa de preñez que las que no mostraron celo (62,1%; 128/206 vs 42,7%; 64/150; $P < 0,01$). En el Experimento 3 se utilizaron 244 vaquillonas Angus y Angus cruza Simmental que fueron tratadas con el protocolo J-Synch como en el Experimento anterior, excepto que todas recibieron 300 IU de eCG en el momento de la remoción del DIB. En este caso se detectó celo a las 60 y 72 h y ambos fueron IATF a las 72 h con semen sexado o convencional y las que no estaban en celo a las 72 h recibieron GnRH y fueron IATF a las 84 h. En este caso no hubo diferencias en la tasas de preñez entre semen sexado (59,3%) y semen convencional (67,7%; $P = 0,14$) ni tampoco una interacción semen por horario de celo e IATF ($P = 0,6$). Los últimos dos experimentos fueron realizados con vaquillonas Holando Argentino. En el Experimento 4 se utilizaron 448 vaquillonas de 14 a 16 meses y 380 kg de peso que fueron tratadas con el protocolo J-Synch con eCG. En este experimento las vaquillonas fueron inseminadas con semen SexedULTRA de 2.1 millones de espermatozoides o convencional. Las vaquillonas que entraron celo a las 60 h fueron IATF a las 72 h y las demás fueron IATF a las 84 h. Las tasas de preñez fueron mayores para las IATF con semen convencional (73,2%; $P < 0,05$) y que las inseminadas con semen sexado (59,8%). En el Experimento 5 se utilizaron 458 vaquillonas 14 a 16 meses y 380 kg de peso. Los tratamientos fueron iguales a los del anterior, excepto que las IATF fueron realizadas como en el Experimento 3 (Celo a las 60 h: IATF a las 72 h; celo a las 72 h IATF a las 72 h y no celo: GnRH a las 72 h e IATF 84 h. Si bien la tasa de preñez fue mayor con semen convencional ($P < 0,05$) que con sexado, nuevamente el porcentaje de preñez con semen sexado fue mayor al 50% (51,1% para sexado y 65,9% para convencional). Además, las vaquillonas inseminadas con semen sexado y que mostraron celo tuvieron una mayor tasa de preñez que las que no mostraron celo (56% vs 37%). Sin embargo no hubo diferencias entre las inseminadas con semen convencional (67% vs 61,2%). En Conclusion Todos los experimentos realizados en este proyecto han demostrado que el protocolo J-Synch es una alternativa viable para la IATF de vacas y vaquillonas. Con respecto a los resultados de los experimentos del Objetivo 3, las tasas de preñez en el Experimento 1 favorecieron al tratamiento convencional, por lo tanto será necesario ajustar el protocolo a vacas con cría observando el momento de ovulación e inseminar en un momento más apropiado para esta categoría. Por otra parte los resultados de los experimentos en vaquillonas demostraron que ajustando los horarios de IATF se pueden llegar a tener óptimas tasas de preñez con semen convencional y con semen sexado. Las tasas de preñez fueron mayores



INFORME ACADÉMICO FINAL Proyectos de Investigación 2016-2017

para semen convencional que para semen sexado en el Experimento 2, 4 y 5 pero no hubo diferencias en el Experimento 3. Las causas de estas diferencias deberán ser investigadas con más detalle y reconfirmada con un número mayor de animales.

2. VINCULACIÓN CIENTÍFICA

2.1. Describir vínculos generados desde el Programa/Proyecto con referencia a demandas del Sector Productivo.

Durante este proyecto se han realizado vinculaciones con el grupo del Dr. Alejo Menchaca del Instituto de Reproducción Animal del Uruguay y la Dra Ana Meikle de la Universidad de la República Oriental del Uruguay, para la realización de los análisis hormonales, el PCR de tiempo real e inmuno-histoquímica. Por otro lado otro lado se realizó una vinculación con el Laboratorio Zoetis que aporó parte de las hormonas utilizadas en los proyectos de Inseminación Artificial con semen sexado y con la Empresa Sexing Technologies que aporó el semen convencional y sexado que se utilizó en los ensayos. Por último se realizó una vinculación con productores locales que aportaron los animales utilizados en el ensayo y con veterinarios de la actividad privada como el Dr Emilio Huguenine de San Luis y el Dr Guillermo Veneranda de la Empresa la Sibila S.A. donde se realizaron los experimentos con vaquillonas Holando Argentina. Los integrantes del grupo de investigación también han dado charlas de difusión en distintos eventos como Sociedad Rural Argentina y Colegio de Médicos Veterinarios de la Provincia de Córdoba. También se han realizado presentaciones en eventos científicos como se indica en el informe de publicaciones anexo.

2.2. Describir vínculos que respondan a demandas internas de distintas áreas de la UNVM.

Desde el punto de vista institucional este proyecto continúa con la formación de recursos humanos en Biotecnologías Reproductivas dentro del marco de la Carrera de Medicina Veterinaria del Instituto A.P. de Ciencias Básicas y Aplicadas de la UNVM a través de la participación de los alumnos y los integrantes del grupo de trabajo. El Objetivo de este proyecto dentro de lo institucional es contribuir a la consolidación de la Institución como centro de referencia para productores de la región. Además las vinculaciones con los Dres. Alejo Menchaca, Emilio Huguenine y Guillermo Veneranda nos ha permitido tener acceso a un número importante de animales, necesarios para la realización de este proyecto. Por último destacamos la vinculación con la Dra Ana Meikle de la Universidad de la República Oriental del Uruguay, para la realización de los análisis hormonales, el PCR de tiempo real e inmuno-



INFORME ACADÉMICO FINAL

Proyectos de Investigación 2016-2017

histoquímica y de esta manera aprender nuevas tecnologías que todavía no se habían realizado en nuestro grupo de trabajo.

3. PUBLICACIÓN EN REPOSITORIO DIGITAL DE LA UNVM

AUTORIZO LA PUBLICACIÓN DE ESTE INFORME ACADÉMICO FINAL EN EL REPOSITORIO DIGITAL DE LA UNVM: SI