

Efecto del Benzoato de Estradiol en el tamaño del folículo y cuerpo lúteo en vacas Holstein sincronizadas con D-Cloroprostenol

Manuel E. Soria Parra; Johnny Narvárez Terán; Carlos Torres Inga; Silvana Méndez Álvarez y Carlos A. Soria Parra

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Campus Yanuncay, Cuenca, Ecuador
manuel.soria@ucuenca.edu.ec

RESUMEN

Se evaluó el efecto de dos tratamientos, las granjas y la condición corporal en el tamaño del folículo y cuerpo lúteo. En uno de los tratamientos se aplicó D-Cloroprostenol (150 ug) y en el otro, D-Cloroprostenol (150 ug) y Benzoato de Estradiol (1 mg). Se formaron dos grupos de 32 vacas Holstein cada uno, pertenecientes a las granjas Nero e Irquis, en Cuenca, Ecuador. Se tomó en cuenta la condición corporal (2,75-3,50), el número de partos fue de 1-6, las granjas (Irquis y Nero) y edad de los animales (3-10 años). Se usó ecografía a 0; 3 y 7 días, así para en el primer momento medir el cuerpo lúteo, luego el folículo dominante y la última el cuerpo lúteo. Se realizó un análisis de varianza factorial. No se encontraron diferencias significativas para el tamaño del folículo por efecto de ninguno de los factores ni la interacción, no así en el tamaño del cuerpo lúteo, donde se registraron diferencias significativas ($P < 0,05$) para los tratamientos y para la granja. El valor fue superior en 0,33 cm en el tratamiento con Benzoato y de 0,36 cm en la granja Irquis respecto a Nero. La aplicación del tratamiento con Benzoato y el mejor manejo de la granja Irquis tuvieron influencia importante en la formación y desarrollo del cuerpo lúteo.

Palabras clave: *condición corporal, hormonas, ciclo estral, reproducción*

Effect of Estradiol Benzoate on the Size of Follicle and Corpus Luteum of Holstein Cows, Treated with D-Cloprostenol

ABSTRACT

The effect of two treatments, farms, and body shape on the size of the follicle and Corpus Luteum, were evaluated. D-Cloprostenol (150 ug) was used in one of the treatments; in the other, D-Cloprostenol (150 ug) and Estradiol Benzoate (1 mg), were used. Two groups of 32 Holstein cows each, from Nero and Irquis farms in Cuenca, Ecuador, were set up. Body condition (2.75-3.50) was considered. The calving number was 1-6, the farms (Irquis and Nero), and animal age (3-10 years). Ultrasound scanning was used on days 0; 3 and 7, in order to measure the Luteum first, then the dominating follicle, and finally, the Corpus Luteum. Factor variance analysis was performed. No significant differences were found for follicle size due to any factors; nor due to interaction. Concerning luteum, significant differences ($P < 0.05$) were observed for the treatments and for the farm. The values were 0.33 cm higher for the treatment with Benzoate, and 0.36 cm, on Irquis Farm, in comparison to Nero. The treatment with Benzoate, along with better husbandry on Irquis played a critical role in the appearance and evolution of the luteum.

Key words: *body condition, hormones, estrus cycle, reproduction*

INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que las vacas de alta producción pueden mostrar un estado endocrinológico distinto al de las vacas no lactantes, debido a su alto ritmo metabólico. Las vacas que producen más leche desarrollan unos folículos de mayor tamaño, pero con menor concentración de estradiol circulante (Walsh *et al.*, 2011; Satheshkumar *et al.*, 2015; Szelenyi *et al.*, 2015). Además, estas vacas muy productoras tienen mayor volumen de tejido luteal y menor concentración de progesterona circulante. La explicación más acertada indica que se puede dar lugar a la ovulación de un ovocito sobreestimulado y activado prematuramente y, por tanto, a una reducción de la fertilidad

(Pastzinca y Molina, 2007; Walsh *et al.*, 2011; Rodríguez *et al.*, 2012).

El uso de la ultrasonografía transrectal para comprobar indicadores del desarrollo folicular y la presencia y crecimiento del cuerpo lúteo en una fase temprana es una de las aplicaciones más prácticas en la reproducción del vacuno lechero. La identificación precoz de estos problemas mejora la eficiencia reproductiva y el por ciento de gestaciones mediante acciones correctoras.

El empleo del estradiol exógeno, administrado con progesterona, suprime la formación o disminuye el diámetro del folículo dominante al administrarse antes o durante el surgimiento de la ola, presumiblemente debido a la supresión de la FSH y quizás de la LH. Cuando se ha producido la se-

lección del folículo, este tratamiento da como resultado un descenso del diámetro del folículo dominante (McDougal *et al.*, 2004). También se han usado otras combinaciones de progestágenos y estradiol con resultados variables, además, los posibles efectos adversos del estradiol usado después de la inseminación artificial (IA) sobre la función del cuerpo lúteo requieren más investigaciones (Pastzinca y Molina, 2007; Bertot *et al.*, 2012; Boldt *et al.*, 2015).

En este sentido, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento con Benzoato de Estradiol, la granja y la condición corporal de vacas Holstein sincronizadas con D-Cloroprosteno en el tamaño del folículo y cuerpo Lúteo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en las granjas Nero e Irquis, pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, Provincia de Azuay en la República de Ecuador, ubicadas en 02° 55' 00" y 03° 04' 00" de Latitud Sur y 79° 03' 00" y 79° 05' 32" de Longitud Oeste, respectivamente, a más de 2 500 msnm de altitud cada una, en un clima de trópico alto con temperaturas medias anuales de alrededor de 10°C y 1 500 mm de precipitación media anual, con estaciones lluviosa y poco lluviosa bien diferenciadas (Estación Meteorológica de la Universidad de Cuenca).

En un diseño completamente al azar con arreglo factorial, se realizó un experimento con 64 vacas Holstein; 32 de cada granja, con edades entre 3-10 años que tenían entre 2 y 6 partos, a las que se evaluó su condición corporal (escala de 5 puntos) e indicó valores entre 2,75 y 3,50; este factor y las granjas se tomaron también como fuentes de variación. Las granjas Irquis y Nero tenían 17,2 y 15,6 kg/vaca/día de promedio de producción de leche con lactancias entre 92 y 116 días, respectivamente. Se utilizaron dos tratamientos: D-Cloroprosteno (150 ug) identificado como PGF y D-Cloroprosteno + Benzoato de Estradiol inyectable (1 ml/vaca, 24 horas posteriores al D-Cloroprosteno) identificado como PGF+BE para medir su efecto en el tamaño del folículo y el cuerpo Lúteo en los días 0; 3 y 7 días posteriores con cuatro observaciones por cada tratamiento.

Se revisaron los registros de cada animal por granja para evaluar su situación productiva y fisiológica. Las vacas se sometieron a examen físi-

co-clínico. Las mediciones se realizaron con un equipo de Ultrasonografía Aloka 505 con sonda de 5.5 Mb, mediante el cual se realizó el examen; se guardó la imagen en cada estadio y se hizo la medición ecográfica (cm) del folículo y cuerpo lúteo. Se utilizó el análisis de varianza factorial y prueba de Duncan (1955) para la significación, con el empleo del paquete estadístico SPSS 11.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pastzinca y Molina (2007) indican que las vacas de muy alta producción pueden mostrar un estado endocrinológico distinto al de las vacas no lactantes, debido a su alto ritmo metabólico. Las vacas que producen más leche desarrollan unos folículos de mayor tamaño, pero con menor concentración de estradiol circulante, además estas vacas muy productoras tienen mayor volumen de tejido luteal y menores concentraciones de progesterona circulantes. La explicación más acertada es que se puede dar lugar a la ovulación de un ovocito sobreestimulado y activado prematuramente y a una reducción de la fertilidad (López *et al.*, 2004; Wiltbank *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2012; Szelenyi *et al.*, 2015).

El crecimiento y desarrollo folicular se caracterizan en los rumiantes, por dos o tres olas foliculares consecutivas por ciclo estral. Según se reporta en varias revisiones como las de Pastzinca y Molina (2007) y trabajos experimentales como los de Satheshkumar *et al.* (2015) y Szelenyi *et al.* (2015) el empleo de las técnicas de ultrasonografía ha permitido recopilar mucha información sobre las fases del crecimiento y la selección folicular en diferentes circunstancias de manejo y regiones. Cada ola implica el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos de la reserva ovárica total y permite la selección de un folículo dominante, que crece y madura hasta alcanzar la fase pre-ovulatoria.

En este sentido, Los resultados del efecto de los tratamientos con PGF y PGF+BE no indicaron diferencias significativas por el tamaño del folículo (Tabla 1), lo cual tiene que ver con esta situación anteriormente planteada, donde en las condiciones de desencadenamiento de elevados niveles de estradiol se afectaron los tamaños foliculares, así en los estudios de Wiltbank *et al.* (2006) y Boldt *et al.* (2015) con vacas lecheras de niveles altos de producción de leche, se detectaron además unas concentraciones menores de estradiol circulante,

lo que conlleva una menor duración e intensidad del celo.

De igual modo, el efecto de las granjas para el tamaño folicular no fue significativo (Tabla 2), lo que supone que los niveles de estradiol aplicados en ambos casos a los animales tratados se vieron compensados en su efecto con el mayor tamaño del folículo no madurado aún en animales no tratados, lo que se reporta en varios trabajos con vacas altas productoras (Wiltbank *et al.*, 2006; Walsh *et al.*, 2011; Parr *et al.*, 2015).

Una reducción en la concentración de estradiol da como resultado un descenso en la duración y la intensidad del celo (Boltd *et al.*, 2015) así la reducción en la concentración de estradiol también podría provocar incremento en el tamaño folicular debido a la prolongación del intervalo anterior al celo inducido por el estradiol, el pico de GnRH-LH y la ovulación de las vacas de alta producción, lo cual explica la no diferencia entre los tratamientos para este indicador de la morfometría folicular en las granjas, cada una con animales de alto potencial lechero.

Las diferencias por condición corporal tampoco fueron significativas para el desarrollo y morfología folicular (Tabla 3). Es conocido que los cambios en el estatus de condición corporal que significan reducciones o incrementos entre 30-35 kg de peso vivo para cambiar una unidad de condición, implican también efectos en la nutrición a nivel del ovario en términos del suministro de glucosa, lípidos, aminoácidos, minerales y otros nutrientes para su formación y desarrollo (Rodríguez *et al.*, 2012; Parr *et al.*, 2015).

La fertilidad en vacas lecheras a nivel global declinó en las últimas cinco décadas como consecuencia del incremento del potencial y la producción real de leche que se obtiene, así Walsh *et al.* (2011) planteó varias hipótesis que explican por la vía genética, fisiológica y nutricional e incluso por el manejo y el estado físico del animal las variaciones del desarrollo folicular y en muchas ocasiones no pudieron definir el porqué de las variaciones por condición corporal, efecto que tampoco marcó conducta diferencial en el desarrollo folicular ni luteal, lo que se corroboró en otros estudios con vacas de alto potencial en desbalance energético, condiciones corporales muy semejantes y con deficiencias nutricionales sostenidas (Thatcher *et al.*, 2002; García López, 2003; Rodríguez *et al.*, 2012; Parr *et al.*, 2015).

En igual modo Satheshkumar *et al.* (2015) reportaron una significativa reducción en la actividad lútea en los meses más calientes del año y lo asoció a una prolongada fase de crecimiento folicular que alteró la actividad endocrina de la LH y provocó menor fertilidad de esos rebaños con vacas Jersey y cruzadas con Cebú, con diferentes condiciones corporales y estados nutricionales.

Un comportamiento diferente se determinó en la morfometría del cuerpo lúteo cuando se compararon los tratamientos aplicados (Tabla 4) donde fue significativamente superior ($P < 0,05$) el tratamiento con Benzoato de Estradiol, que alcanzó un valor medio de 1,981 cm en comparación con 1,763 cm de la PGF sola.

En estudios recientes se han propuesto sistemas en los cuales la inyección de estradiol fue sustituida por la administración de GnRH al principio del tratamiento (Walsh *et al.*, 2011; Moussa *et al.*, 2015; Parr *et al.*, 2015). Este cambio está claramente asociado con la prohibición en Europa del uso de ésteres de estradiol en animales productores de alimentos. Una de las modificaciones recientes de sistemas con sincronización basados en los progestágenos consiste en administración de una dosis baja (0,5-1,0 mg) de benzoato de estradiol, 24 h después de la retirada del progestágeno.

Esta estrategia de aplicación del tratamiento incrementó la precisión del inicio del estro y potenció los síntomas de celo, lo que facilita en último término su detección. Se puede esperar también de este estradiol exógeno, que controle más ajustadamente la precisión del momento del pico de LH, desarrollo lútea y de la ovulación. En esta modificación se recomienda de 1,0 mg para las vacas para lograr el pico de LH y la ovulación, lo que coincide con otros trabajos donde se aplicó esta variante como los de Walsh *et al.* (2011) en vacas de alta producción lechera estable y el de Szelenyi *et al.* (2015).

Las diferencias significativas encontradas entre granjas para tamaño del cuerpo lúteo (Tabla 5) están relacionadas con el mejor estatus de manejo y nutricional de la granja Irquis respecto a la granja Nero en esa etapa, donde aquella refleja en sus registros productivos un nivel mayor de leche por vaca en lactancia por día, lo que supone mejor estatus corporal y nutricional de los animales explotados en Irquis, cuestión que repercute en los índices de reproducción y en la disposición del animal para expresar todos los signos favorables

en el ciclo estral y como animales listos para volver a ser gestados, continuar el ciclo importante para el sistema lechero que indican Ugarte (1995) y García López (2003) de parir, lactar, gestarse y parir nuevamente.

Los resultados del experimento coinciden con los estudios de Parr *et al.* (2015), quien encontró problemas del desarrollo folicular y formación lútea en períodos de balance energéticos negativos experimentados por vacas en posparto, lo que contribuyó a indeseables cambios en el metabolismo de esos animales, que los hace incompetentes para un adecuado proceso formativo del folículo e incluso llegar a preñarse. Esta problemática está ligada también a la pérdida en la condición corporal en animales que tuvieron más restricciones alimentarias, como pudo ser en el caso de las vacas en la granja Nero en aquella etapa y que se conoce tuvieron comportamiento productivo inferior a los animales en la granja Irquis (Narváez, 2015, comunicación personal).

El uso de estradiol al principio de un tratamiento de sincronización con progesterona, incluso cuando su duración se prolonga hasta 12 días, no siempre garantiza que la regresión del cuerpo lúteo sea completa en todos los animales en el momento de la retirada de la progesterona o 24 h después. Como consecuencia, es muy recomendable que la PGF_{2α} sea administrada en el momento de la retirada de la progesterona o unas horas antes, para asegurar la regresión del cuerpo lúteo en aquellos animales que no responden al estradiol.

El protocolo con Benzoato implica la sustitución de la segunda inyección de GnRH por ésteres de estradiol, así Stevenson *et al.* (2004), Bertot *et al.* (2012); Pastzinca y Molina (2007) y Walsh *et al.* (2011) indican que el estradiol sincroniza la ovulación del folículo dominante en una franja de tiempo más estrecha, e incrementa la expresión del comportamiento del celo en las vacas tratadas para acortar la vida del cuerpo lúteo e inducir la aparición de un nuevo folículo; sin embargo, no puede bloquear por completo la secreción de LH, y se mantiene una pequeña secreción pulsátil, lo que permite la persistencia de un folículo dominante, si hay uno presente en el ovario al inicio del tratamiento.

CONCLUSIONES

Se evidenciaron efectos importantes sobre el tamaño del cuerpo lúteo que se vincularon a los factores del tratamiento con Estradiol que au-

mentó la acción del compuesto estrogénico y quedaron establecidas diferencias al nivel de granja por la condición productiva de los animales.

REFERENCIAS

- BERTOT, J. A.; AVILÉS, R.; LOYOLA, C y UÑA, F. (2012). *Conferencia sobre reproducción Bovina*, Curso de posgrado de la Maestría en Producción Animal Sostenible, Universidad de Camagüey, Cuba.
- BOLDT, A.; BECKER, F.; MARTIN, G y NUNBERG, G. (2015). A Phenotypical Approach to the Effects of Production Traits, Parturition, Puerperium and Body Condition on Commencement of Luteal Activity on High Yielding Dairy Cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 157, 39-43.
- GARCÍA, R. (2003). *Conferencia sobre manejo y alimentación de ganado lechero en el Trópico*, Curso de Posgrado, Tabasco, México.
- LÓPEZ, H.; SATTER, L. D. y WILTBANK, M. C. (2004). Relationship between Level of Milk Production and Oestrus Behaviour of Lactating Dairy Cows. *Anim Reprod Sci.*, 81, 209-23.
- MCDUGAL, S.; COMPTON, C. R.; ANNIS, F. M. (2004). Effect of Exogenous Progesterone and Oestradiol on Plasma Progesterone Concentrations and Follicle Wave Dynamics in Anovulatory Anoestrus Post Partum Cattle. *Anim Reprod Sci.*, 84, 303-14.
- MOUSSA, M.; SHU, J.; ZHANG, X. y ZENG, F. (2015). Maternal Control of Oocyte Quality in Cattle, a Review. *Anim. Reprod. Sci.*, 155, 11-27.
- PASTZINCA, MONIKA y MOLINA, J. (2007). *Compendio de Reproducción Animal*, (9ª edición). Paraguay-Uruguay: Intervet.
- NARVÁEZ, J. (2015). Comunicación personal.
- PARR, M.; CROWE, M.; LONERAGAN, A.; EVANS, A. y FAIR, M. (2015). The Concurrent and Carry Over Effects of Long Term Change in Energy Intake Before Insemination on Pregnancy in Heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 157, 87-94.
- RODRÍGUEZ, L.; ABUELO, A. y BEJAR, C. (2012). *El uso de la ecografía Doppler color en la reproducción*. Extraído el 12 de julio de 2014, desde www.portalveterinario.com.html.
- SATHESHKUMAR, S.; BRINDHA, K. y ROY, A. (2015). Natural Influence of Season on Follicular, Luteal, and Endocrinological Turnover in Indian Crossbred Cows. *Theriogenology*, 84, (1), 19-23.
- STEVENSON, J. S.; TIFFANY, S. M.; LUCY, M. C. (2004). Use of Estradiol Cypionate as a Substitute for GnRH in Protocols for Synchronising Ovulation in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 87 (3), 298-305.
- SZELENYI, Z.; REPASI, A.; MELO DE SOUSA, N. (2015). Accuracy of Diagnosing Double Corpora Lutea and Twin Pregnancy by Measuring Serum Progesterone and Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein 1

in the First Trimester of Gestation in Dairy Cows, *Theriogenology*, 84, (1), 76-81.

THATCHER, W.; MOREIRA, F.; PANCARCI, S. M.; BARTOLOME, J. A. y SANTOS, J. P. (2002) Strategies to Optimize Reproductive Efficiency by Regulation of Ovarian Function. *Dom Animal Endocrinol.*, 23, 243-254.

UGARTE, J. (1995). *Factores no nutricionales de manejo de vacas lecheras*. Evento XXX Aniversario del Instituto de Ciencia Animal, Cuba.

WALSH, S. W.; WILLIAMS, E. y EVANS, A. (2011). A Review of the Causes of Poor Fertility in High Milk Producing Dairy Cows. *Animal Reproduction Science*, 123, (3-4), 127-138.

Wiltbank M., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S., Gumen A. (2006). Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*; 65:17-29.

Recibido: 10-7-2015

Aceptado: 20-7-2015

Tabla 1. Efecto de los tratamientos con PGF y PGF+BE en el tamaño del Folículo (cm) en las vacas de ambas granjas

Tratamientos	Media	Error típico	Significación (P < 0,05)	Límite inferior	Límite superior
PGF	1,889	0,0591	NS	1,771	2,007
PGF+BE	1,965	0,0561	NS	1,851	2,078

Tabla 2. Efecto de la granja en el tamaño del Folículo (cm) en las vacas tratadas

Granja	Media	Error Típico	Significación (P<0,05)	Límite inferior	Límite superior
Irquis	1,929	0,0571	NS	1,813	2,044
Nero	1,925	0,0562	NS	1,809	2,041

Tabla 3. Efecto de la condición corporal estimada en el tamaño del Folículo (cm) en las vacas de ambas granjas

Condición corporal	Media	Error típico	Significación (P<0,05)	Límite inferior	Límite superior
2,75	1,967	0,0802	NS	1,807	2,127
3,00	1,997	0,0805	NS	1,837	2,158
3,25	1,876	0,0801	NS	1,716	2,036
3,50	1,867	0,0862	NS	1,694	2,040

Tabla 4. Efecto de los tratamientos con PGF y PGF + BE en el tamaño del cuerpo lúteo (cm) en las vacas de ambas granjas

Tratamientos	Media	Error Típico	Significación (P < 0,05)	Límite inferior	Límite superior
PGF	1,763	0,0271	*	1,602	1,882
PGF+BE	1,981	0,0146	*	1,808	2,115

Tabla 5. Efecto de la granja en el tamaño del cuerpo lúteo (cm) en las vacas tratadas

Granja	Media	Error Típico	Significación (P<0,05)	Límite inferior	Límite superior
Irquis	1,978	0,0104	*	1,561	2,194
Nero	1,612	0,0112	*	1,309	1,901