

Desarrollo de un protocolo de toma de muestras ováricas para el estudio de la interacción entre el estado metabólico y reproductivo en el posparto de bovinos lecheros.

Durante, L.I.¹; Angeli, E.¹; Leiva, C.J.M.¹; Etchevers, L.¹; Ortega H.H.¹; Rodríguez, F.M.¹; Marelli, B.E.¹

¹Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina.

leodurante28@gmail.com

En los sistemas de producción lechera, la performance reproductiva individual afecta la eficiencia de producción del rodeo por su influencia en el intervalo parto-parto, parto-primer servicio, duración de la lactancia y porcentaje de reposición³. Para lograr tasas de concepción adecuadas, las vacas deben reanudar su ciclicidad ovárica lo más temprano posible, tener una involución uterina normal, ser detectadas en celo e inseminadas rápidamente luego del parto. Luego de un período variable de anestro, el crecimiento folicular se reanuda en la mayoría de las vacas a los 7-10 días posparto (DPP), asociado a un aumento transitorio de la hormona folículoestimulante 3-5 días después del parto. Las vacas lecheras que reciben una correcta alimentación y que no están sometidas a estrés o a un balance energético negativo muy marcado, ovulan su primer folículo dominante alrededor de los 15-25 días posparto².

En el período de transición (PT), el cual transcurre desde tres semanas antes del parto hasta tres semanas posteriores al mismo, suceden una serie de modificaciones endocrinas que preparan al animal para el parto y la lactancia. El PT es crítico debido a las complicaciones relacionadas con los cambios metabólicos, fisiológicos y anatómicos que condicionan la reanudación de la actividad ovárica posparto⁴. En este período, existe una compleja interacción entre el estado nutricional y reproductivo de los animales donde las hormonas metabólicas pueden afectar distintos puntos del eje reproductivo¹. Es por ello que alteraciones a nivel metabólico podrían ejercer efectos perjudiciales sobre la performance reproductiva, afectando el establecimiento de la dominancia folicular y la consiguiente ovulación.

Según lo expuesto anteriormente, nos planteamos como objetivo del presente trabajo optimizar un protocolo de toma de muestras de ovarios de bovinos lecheros que nos permitiera evaluar posteriormente la interacción entre el estado metabólico y reproductivo en un período crítico del ciclo productivo de estos animales como es el posparto.

El trabajo fue realizado con vacas multíparas de la raza Holando Argentino pertenecientes a un establecimiento de la zona de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinaria (UNL), ubicado en la localidad de Hipatia a 60 km de nuestra Institución. Dicho establecimiento cuenta con aproximadamente 300 vacas en ordeño. Los animales seleccionados (n=50) fueron aquellos que presentaron un estado sanitario y reproductivo óptimo. Todos los animales recibieron una dieta de base pastoril con la composición que se indica en la Tabla 1.

El monitoreo del ciclo estral se inició a partir de los 7 ± 1 DPP utilizando un equipo de ultrasonografía Mindray Z6 Vet equipado con una sonda transductora transrectal de doble frecuencia de onda (5.0-7.5 Mhz.). Este monitoreo se continuó cada 3 ± 1 días a fin de evaluar el comienzo de la emergencia y dominancia folicular. Cuando un único folículo alcanzó un tamaño promedio de 12 mm se consideró que se había establecido la dominancia folicular y se procedió a su aspiración. Para ello, se utilizó un sistema de ultrasonido digital Chison 8300 Vet equipado con un transductor microconvexo de 5,0 MHz montado en una sonda transvaginal para aspiración folicular (Watanabe Tecnología Aplicada Ltda., Brasil). Posteriormente, estos mismos animales fueron examinados a los 45 ± 2 DPP, previa realización de un protocolo de sincronización de celos (Ovsynch conprogesterona) el cual comenzó a

los 35 ± 2 días para así lograr obtener 10 días más tarde un folículo preovulatorio que fue aspirado siguiendo el protocolo detallado anteriormente.

Tabla 1. Composición de la dieta de vacas en lactancia para 20l de leche promedio

Dieta	kg de Materia Seca (MS)
Alfalfa	7,70
Silo de Maíz	4,46
Silo de Trigo	1,80
Maíz Molido	3,50
Trigo Molido	1,32
Expeller de Soja	1,15
Sales Minerales	0,19
Consumo de MS	20,12 kg

El líquido folicular enriquecido en células de la granulosa (LF + CG) recolectado se centrifugó a 2000g durante 10 minutos. Las CG fueron conservadas a -80°C hasta su procesamiento para la extracción de ARN y proteínas, mientras que el LF fue almacenado en las mismas condiciones para posteriores determinaciones hormonales. Además, se obtuvieron muestras de sangre por venopunción coccígea las cuales fueron procesadas para la obtención de suero o plasma para posteriores determinaciones hormonales y de biomoléculas como indicadores del estado metabólico y reproductivo de los animales. Conjuntamente, se determinó la condición corporal de los bovinos por inspección visual.

Los resultados obtenidos demuestran que en el periodo de posparto la dominancia folicular se alcanzó en promedio a los 12 días con un tamaño folicular de alrededor de 12 mm. Además, la totalidad de los animales presentaron un cuerpo lúteo a los 35 ± 2 días, indicativo de una ovulación previa y al menos un folículo mayor a 10 mm, condición óptima para el inicio del protocolo de sincronización de celos.

La disponibilidad de muestras ováricas y de sangre en posparto nos permitirá evaluar indicadores generales del estado metabólico de los animales y su incidencia en la performance reproductiva de los mismos.

1- Kawashima, C.; Matisui, M.; Shimizu, T.; Kida, K.; Miyamoto, A. (2012). Nutritional factors that regulate ovulation of the dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, 58(1), 10-6.

2- Montiel, F.; Ahuja, C. (2005). Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*, 85, 1-26.

3- Royal, M.D.; Darwash, A.O.; Flint, A.P.F.; Webb, R. (2000). Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Animal Science*, 70, 487-501.

4- Sordillo, L.M.; Aitken, S.L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128, 104-109.