

Comparación de la calidad de ovocitos entre búfalas sometidas a tratamiento hormonal con eCG y búfalas que no recibieron ningún tratamiento previo a la aspiración folicular en una finca ubicada en Montelíbano, Córdoba

Trabajo de grado para optar por el título de Médico Veterinario

Pacheco Uribe Israel Arturo

Asesora:
María Alejandra Flórez Palacio
Médica veterinaria

Unilasallista Corporación Universitaria
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Programa Medicina Veterinaria
Caldas, Antioquia
2022

Tabla de contenido

Tabla de contenido.....	2
Lista de tablas	3
Lista de imágenes	4
Resumen	5
Introducción	6
Objetivos.....	7
Objetivo general	7
Objetivos específicos	7
Justificación	8
Marco teórico.....	9
Gonadotropina coriónica equina (eCG)	9
Dinámica folicular	9
Limitaciones del ganado bufalino	15
Materiales y métodos.....	18
Animales	18
Tratamiento hormonal	18
Ecografía de ovario.....	18
Procedimiento de aspiración folicular	19
Análisis estadístico.....	20
Resultados.....	21
Discusión	22
Conclusión.....	24
Referencias.....	25

Lista de tablas

Tabla 1. Número máximo de células germinales en algunas especies.....	11
Tabla 2. Diámetro folicular entre especies.....	12
Tabla 3. Asociación entre aplicación de eCG y aumento de diámetro folicular.....	21

Lista de imágenes

Imagen 1. Folículo primario de bovino.....	12
Imagen 2. Folículo Antral temprano.....	13
Imagen 3. Ovocito de folículo terciario.....	14

Resumen

La finalidad de esta investigación fue evaluar la eficiencia del tratamiento con gonadotropina coriónica equina (eCG) en la fase lútea antes de la aspiración folicular (OPU) en búfalos (*Bubalus bubalis*). Se utilizaron un total de 30 búfalas como donantes de ovocitos donde se dividieron en dos grupos, el primer grupo está constituido por 19 donantes que recibieron 400 UI de eCG y el segundo grupo consta de 11 búfalas que no recibieron tratamiento hormonal. Todas las búfalas se encontraron en la misma condición de manejo, alimentación, condición corporal entre 3 y 4 (escala 1 a 5, donde 1 es muy delgado y 5 sobre acondicionado), un periodo post parto entre 45 a 120 días y un promedio de 3 a 5 partos. Primero se observó la dinámica de los folículos ováricos y la aparición de ondas foliculares después de la inyección de eCG mediante ecografía transrectal. Después de 72 horas postinyección de eCG la proporción y el número de los folículos se vieron aumentados de tamaño con 7 mm de diámetro. La aspiración folicular se realizó entre las 88 y 96 horas después de la inyección con eCG. Las búfalas donantes que fueron tratadas con eCG no presentaron un aumento folicular significativo ni los complejos célula de la granulosa-ovocito en comparación con el grupo que no fue tratado previamente a la aspiración folicular. Los hallazgos mostraron que obtuvimos folículos 1mm más grandes durante el periodo periovulatorio en comparación con el grupo de control, donde la diferencia no es estadísticamente significativa para ser fertilizados posteriormente in vitro en búfalas superovuladas.

Palabras claves: Búfala, eCG, superovulación, aspiración, folicular

Introducción

El búfalo doméstico es originario del continente asiático. La producción de búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) es de gran impacto económico en el mundo, principalmente en países como India, Pakistán, China, Egipto y Nepal (FAO, 2007). En Suramérica se encuentran distribuidos principalmente en siete países: Brasil, Argentina, Colombia, Cuba, Perú, Trinidad y Tobago y Venezuela (Contreras Carvajal, 2018). El país con mayor población en América Latina es Brasil que cuenta con más de 3,5 millones de cabezas. Colombia para el 2020 solo contaba con aproximadamente 400,000 cabezas, lo que deja en evidencia el trabajo que hay para incrementar la población de búfalos en el país (Carrascal Triana, 2020).

En Colombia esta especie fue introducida en el año 1967 y actualmente está en constante crecimiento ya que se reconoce su gran potencial productivo, su fácil adaptabilidad, su alta rusticidad y docilidad (Carrascal Triana, 2020). El ganado bufalino se adapta fácilmente a zonas pantanosas muy húmedas y es capaz de consumir pastos que el ganado vacuno no aprovecha (CONtexto ganadero, 2014).

Los búfalos presentan una eficiencia reproductiva inferior a la del ganado vacuno que se explica por diversos factores tales como: cambios en la estacionalidad de lluvias, estrés térmico, cambios en el fotoperiodo que afecten la dinámica hormonal en la especie y por tanto se vea disminuida la productividad de la hembra (Sánchez, Romero, Meneses, 2019). Las biotecnologías reproductivas son herramientas que ayudan a mejorar la productividad y los parámetros reproductivos para garantizar la disponibilidad de alimento para un país.

Objetivos

Objetivo general

Comparar la calidad de los ovocitos de las búfalas que fueron sometidas a tratamiento hormonal con eCG previa a la aspiración folicular con búfalas que no recibieron ningún tratamiento hormonal.

Objetivos específicos

Evaluar los ovocitos obtenidos mediante la aspiración folicular de las búfalas donantes después del tratamiento hormonal.

Explicar las diferencias encontradas en la calidad de los ovocitos de las búfalas que fueron sometidas a tratamiento hormonal con eCG con las búfalas que no recibieron tratamiento hormonal.

Justificación

El bajo desempeño reproductivo del hato colombiano junto con el reto de incrementar la población bufalina para garantizar el sostenimiento en el tiempo de la empresa ganadera hacen necesario dar a conocer nuevas estrategias viables para producir un mayor número de animales de alto valor genético en corto tiempo. La presente investigación se enfoca en el efecto de la hormona eCG cuando es inoculada en especies diferentes al equino, en este caso búfalo de agua (*Bubalus bubalis*). Para esto, debemos emplear biotecnologías como la aspiración folicular y fertilización in vitro, ya que nos permite un mejor aprovechamiento del semen, en especial de aquel de alto costo o sexado porque se puede obtener varios embriones de una sola pajilla.

Reconociendo que las características reproductivas de la búfala son relevantes en el sector pecuario, es necesario más investigaciones que esclarezcan la fisiología reproductiva y cómo mejorar resultados de biotecnologías aplicadas a la especie, por lo anterior, con esta investigación se incentiva el uso de biotecnologías como la aspiración folicular y la transferencia de embriones para la rápida multiplicación de material genético de alto valor, donde se plantea que la administración de eCG antes de OPU mejoraría la producción de embriones y la fertilización in vitro. Por lo tanto, podría implementarse y combinarse con el mejoramiento genético y la mejora de la eficiencia reproductiva, aumentando la producción de carne y leche de los búfalos domésticos.

Marco teórico

Gonadotropina coriónica equina (eCG)

Desde el punto de vista endocrinológico es importante resaltar dos valiosas características de la eCG que distingue de otras hormonas glicoproteicas, la primera es el hecho de poseer actividad FSH (Folículo estimulante) y LH (Luteinizante) cuando es administrada en especies distintas al equino, en donde solo posee actividad LH y la segunda característica es su alto contenido en carbohidratos. Justificándose su uso en todas aquellas situaciones donde se requiera la terapia con gonadotropinas exógenas, particularmente cuando se requiere un efecto FSH, es decir el estímulo de la foliculogénesis en ovarios con actividad reducida o nula. La aplicación de eCG ha demostrado eficiencia en cuanto a superovulación y/o desarrollo de un folículo dominante de mayor diámetro, determinando de esta forma un mayor número de cuerpos lúteos o un CL de mayor tamaño (Carvalho, y otros, 2017)

Dinámica folicular

Las hembras de mamíferos ya tienen cientos de miles de ovocitos en el momento del nacimiento. La corteza ovárica contiene folículos en diferentes etapas de desarrollo; estos pueden clasificarse según el tamaño, tipo y número de células de la granulosa, o si son dependientes o no de hormonas gonadotróficas (Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014). Los folículos se denominan folículos preantrales o antrales, según la ausencia o presencia de una cavidad, respectivamente. Los folículos preantrales generalmente se clasifican en tres etapas: folículos primordiales,

primarios o secundarios. En la etapa antral, la mayoría de los folículos sufren degeneración atrésica. Sin embargo, algunos de ellos alcanzan la etapa preovulatoria bajo estimulación con gonadotropinas. El desarrollo completo del folículo culmina en la ovulación, que es cuando se libera el complejo cúmulo-ovocito maduro y puede ser fertilizado (Baruselli, y otros, 2020).

La foliculogénesis se refiere a un proceso de desarrollo prolongado por el que atraviesa un folículo, desde el momento en que abandona el grupo de reserva y comienza a crecer por proliferación celular y formación del antro hasta la ovulación o atresia. La foliculogénesis comienza antes del nacimiento en algunas especies de mamíferos (vaca, oveja y búfalo) o poco después del nacimiento en otras (ratón, rata, hámster) (Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014). En este momento, todas las células germinales de los ovarios son ovocitos primarios, que permanecerán en esta etapa hasta la pubertad, cuando en cada ciclo los folículos seleccionados desaparecen sin ovular. Incluso antes del nacimiento, algunos ovocitos mueren por un proceso llamado apoptosis. Es probable que la apoptosis sea un mecanismo para reducir el número de ovocitos y de folículos ováricos (Baruselli, y otros, 2020).

Las células germinales que originan el conjunto de ovocitos primordiales se derivan de la masa celular interna del blastocisto en desarrollo. Una vez establecidas en el ovario en desarrollo, las células germinales primordiales en proliferación comienzan a diferenciarse en ovogonias. La población de ovogonias se expande a través de un número predeterminado de divisiones mitóticas específicas de la especie hasta que las células entran en la meiosis y se convierten en ovocitos. El número máximo de células germinales femeninas se alcanza en el momento de la

transición de la mitosis a la meiosis (Konrad, Scian, Garrido, Taminelli, & Sansinena, 2013).

El número máximo de células germinales en algunas especies se puede ver a continuación.

Table 1 Maximum number of female germ cells reached in fetal ovaries during gestation in different species and the number of germ cells in the ovaries at the time of birth or nearly after

Species	Maximum number of germ cells (Day of gestation)	Number of germ cells close after birth (Day after birth)
Calf [20]	2,700,000 (110)	68,000 (13 days after birth)
Pig [21]	1,100,000 (50)	500,000 (at birth)
Buffalo [22]	23,540 (210)	20,000 (at birth)
Rat [23]	75,000 (18)	27,000 (2 days after birth)
Human [24]	6,800,000 (150)	2,000,000 (at birth)

(Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014).

El número de folículos preantrales por ovario es muy variable entre las especies y se ha estimado en 70.576 en *Bos indicus* y 89.577 en *Bos Taurus*, 19.819 en búfalos (Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014). Todos los días, un gran número de folículos primordiales inician el crecimiento, las células de la granulosa proliferan y los ovocitos comienzan a desarrollarse. El inicio del crecimiento de los folículos primordiales inicia una serie de cambios morfológicos que conducen a las etapas posteriores del desarrollo folicular: los folículos primario y secundario (preantral), terciario y, finalmente, los folículos preovulatorios (antral) (Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014). Estos cambios se pueden observar en el diámetro folicular, de los ovocitos y en el número de células de la granulosa como lo muestra la tabla a continuación (Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014).

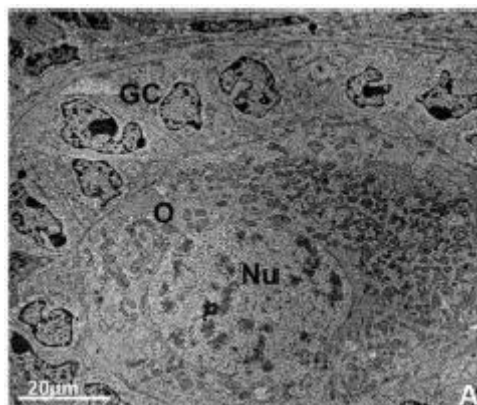
Species	Follicular diameter (μm)			Oocyte diameter (μm)			Mean number of granulosa cells		
	PL	PR	S	PL	PR	S	PL	PR	S
Cattle [44]	36	49	88	28	32	44	7	15	62
Buffalo [45]	35	42	53	25	27	29	4-8	8-20	-
Sheep [46]	41	75	129	35	52	73	16	128	637
Goat [47]	20	24	44	16	17	25	6	11	31
Cat [39]	28	41	75	23	30	41	7	13	46
Dog [41]	28	43	102	22	28	48	6	15	62
Human [48]	35	42	77	32	32	48	13	52	360
Pig [49]	34	40	85	26	27	39	5	8	50

PL: primordial follicle, PR: primary follicle, S: secondary follicle.

(Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014).

Los cambios clásicos que caracterizan este proceso del crecimiento y la transición del folículo primordial al primario, son la diferenciación y proliferación de las células de la granulosa y el agrandamiento del ovocito. En el folículo primario, las células de la granulosa aumentan en número y adquieren forma cúbica. Las células de la granulosa en esta etapa están situadas cerca unas de otras y las uniones adherentes son comunes entre las células de la granulosa y el ovocito. Sus núcleos son irregulares, mitocondrias redondas y vesículas en su citoplasma. El ovocito experimenta una expansión de volumen, las proteínas de la zona pelúcida comienzan a secretarse y se observa una zona pelúcida evidente en la etapa del folículo primario (Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014).

Imagen 1. Folículo primario de bovino.

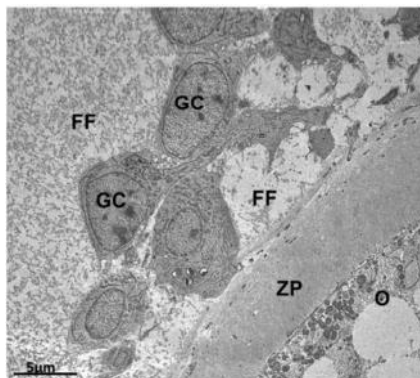


Muestra el ovocito con orgánulos distribuidos homogéneamente por todo el citoplasma rodeado de células de la granulosa cuboidea. Se pueden observar mitocondrias redondas y alargadas. O: ovocito, Nu: núcleo, GC: células de la granulosa, L: gota de lípidos (Paulini, 2014).

Una vez que el folículo primario comienza a desarrollarse, este proceso no puede interrumpirse, Los ovocitos de los folículos secundarios son predominantemente esféricos y presentan un citoplasma con vesículas y mitocondrias redondas y alargadas en vacas y búfalas.

Los gránulos corticales se ven por primera vez en los folículos secundarios. Son pequeños orgánulos como vesículas que contienen enzimas que experimentan exocitosis tras la fertilización. En este momento, los gránulos corticales se alinean cerca de la membrana plasmática del ovocito y la liberación de su contenido tiene como objetivo endurecer la zona pelúcida para prevenir la poliespermia. En esta etapa, también se observan espacios entre las células de la granulosa adyacentes llenas de líquido folicular. La acumulación progresiva de líquido provoca la distensión de estas cavidades y la formación inicial del antro, lo que lleva a los folículos a la etapa antral.

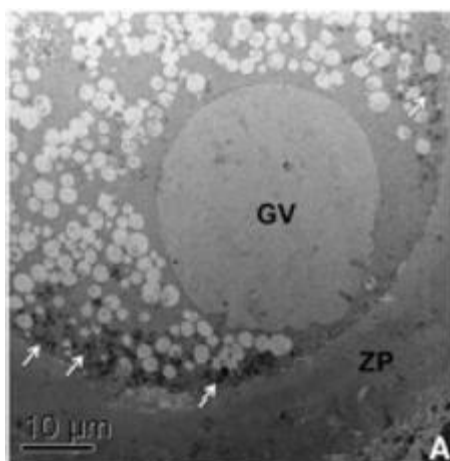
Imagen 2. Folículo antral temprano.



Muestra espacios entre las células de la granulosa adyacentes llenas de líquido folicular. O: ovocito, ZP: zona pelúcida, GC: células de la granulosa, FF: líquido folicular (Paulini, 2014).

La transición del folículo preantral al antral temprano es una etapa crítica del desarrollo folicular en términos del destino del folículo (crecimiento versus atresia). Durante este período, la interacción entre los ovocitos y las células somáticas (granulosa y teca) es especialmente importante y están implicados muchos factores de crecimiento. Las células del cúmulo de la granulosa de los folículos antrales son similares en organización ultraestructural con respecto al preantral. Sin embargo, el antral tiene un retículo endoplásmico más liso y gotas de lípidos, lo que sugiere que presentan diferentes funciones metabólicas que desarrollan mecanismos para la producción de esteroides. En general, en los folículos terciarios, todos los ovocitos están completamente rodeados por la zona pelúcida, los orgánulos han logrado una distribución más uniforme en todo el ooplasma, las mitocondrias son alargadas, las gotas de lípidos y las vesículas aumentan en número.

Imagen 3. Ovocito de folículo



Muestra vesícula germinal (GV) intacta, mostrando mitocondrias (flechas) en posición periférica. Nótese la gran cantidad de vesículas en todo el ooplasma (Paulini, 2014).

Al final del período de maduración, cuando estos ovocitos alcanzan la metafase II, los gránulos corticales se alinean con la superficie interna de la membrana plasmática del ovocito listos para liberar su contenido tan pronto como el ovocito es fertilizado para prevenir poliespermia (Paulini, Silva, Rôlo, & Lucci, 2014).

Limitaciones del ganado bufalino

En los primeros años, la producción de embriones para transferencia era principalmente embriones fertilizados in vivo en buvillas o búfalas adultas superovuladas. Esta técnica tiene limitaciones, principalmente relacionadas con la baja tasa de recuperación embrionaria en búfalas por medio de lavados. La tasa de recuperación embrionaria o cuerpos lúteos contados en el momento de la recuperación de embriones en búfalos superovulados es menor que en bovinos (63-80%) (Baruselli, y otros, 2020). La baja calidad de los ovocitos en los búfalos puede estar asociada con una conexión frágil entre el ovocito y las células de la granulosa, en contraste con lo que ocurre en el ganado. Las búfalas superovuladas producen un promedio de 1 a 3 embriones viables en el lavado. Esto es sustancialmente menor que el número de embriones recuperados registrados para vacas bovinas (10 en total y 6 embriones transferibles) (Baruselli, y otros, 2020). Se planteó la hipótesis de que estas diferencias en las tasas de recuperación de embriones estaban relacionadas con una falla en el transporte de ovocitos en el oviducto en búfalas.

Según Hunter, los mecanismos implicados en el transporte de ovocitos (fimbrias que no logra capturar una gran proporción de ovocitos y ondas de contracción del oosalpinx) están controlados por esteroides ováricos (Baruselli, y otros, 2020). El bajo número de embriones obtenidos después del lavado embrionario en búfalos puede atribuirse a niveles altos de estrógeno (E2) durante el tratamiento de superestimulación, como postulan Misra et al. También, se realizaron ensayos para investigar las interrelaciones anatómicas y fisiológicas entre el sistema genital de búfalos y la hembra bovina. Se estudiaron las características morfométricas de las hembras de búfalo, donde se encontró que las búfalas tenían conexiones más rígidas entre el ovario y el mesovario y una capa de músculo del infundíbulo más gruesa que el ganado. Estas diferencias podrían explicar, al menos parcialmente, las bajas tasas de recuperación de embriones por lavado en búfalas superovuladas (Crudeli, 2011).

Debido a los resultados variables de la recuperación de embriones in vivo en búfalas superovuladas, se han buscado otras alternativas. Actualmente, para lograr el objetivo de la industria ganadera (mejorar y acelerar la difusión de los rasgos de producción de su animales) se optó por la producción in vitro de embriones, que al comparar el número de embriones producidos por una donante en 1 año, se producen más del doble de embriones in vitro que in vivo. Se ha informado que la estacionalidad es un factor importante que afecta la capacidad de desarrollo de los ovocitos y la producción de embriones in vitro en el búfalo. Se investigó la influencia de la temporada (invierno: época reproductiva; verano: época no reproductiva) sobre el número de ovocitos viables. Se encontró que en climas tropicales, la estación no parece afectar negativamente la calidad de los ovocitos y la fertilidad de los búfalos

(Baruselli, y otros, 2020). Sin embargo, se requieren más estudios sobre la competencia de los ovocitos durante diferentes estaciones para confirmar estos hallazgos.

Materiales y métodos

Animales

Este estudio se realizó en La Hacienda Cuba, una finca ubicada en el municipio Montelíbano, Córdoba. La temperatura varía de 23°C a 35°C en el transcurso del año y las precipitaciones promedio anual de los últimos cinco años según el IDEAM, estación ubicada dentro de la finca, es de 2500mm, concentrándose el período de lluvias entre mayo a septiembre. La humedad relativa es del 78% en tiempo de sequía y de 81% en períodos de lluvia. Los animales son mestizos, son un cruce entre las razas de búfalos Murrah y Mediterráneo, su condición corporal 3.5 (escala 1 a 5, donde 1 muy delgado y 5 sobre acondicionado), con un peso medio de 579 kg, un periodo post parto entre 45 y 120 días y un promedio de 3 a 5 partos. Todos los animales eran cíclicos y se escogieron las que presentaban un cuerpo lúteo (CL) para confirmar ciclicidad de las búfalas donantes. Los búfalos se mantuvieron en el pastizal de *Brachiaria decumbens* con libre acceso al agua y sal mineralizada; el estudio se realizó de julio a noviembre del 2021.

Tratamiento hormonal

Se utilizaron un total de 30 búfalas como donantes de ovocitos que se dividieron en dos grupos, el primer grupo consta de 19 donantes que recibieron 400 UI de eCG y el segundo grupo consta de 11 búfalas que no recibieron tratamiento hormonal. Los animales de cada grupo fueron sometidos al procedimiento de OPU 4 días después del tratamiento hormonal para los 2 grupos.

Ecografía de ovario

Ambos grupos de búfalas fueron examinadas en día cero para confirmar la

ciclicidad (presencia de cuerpo lúteo) utilizando un transductor transrectal de matriz lineal de 7,5 MHz (Mindray DP-10Vet). Posterior a esto, se le suministró el tratamiento hormonal con eCG, dando una imagen ecográfica a las 72 horas (posterior al tratamiento) de los folículos con un diámetro de 8 mm.

Procedimiento de aspiración folicular

Los animales se sometieron a un procedimiento de OPU realizado por el mismo operador. Para la recolección de ovocitos, las novillas fueron contenidas en un brete y se les administró anestesia epidural (5 mL de clorhidrato de lidocaína al 2%) para facilitar el manejo de los ovarios a través del recto. El área perineal se limpió con alcohol antes de la sesión de OPU. Todos los folículos visibles se contaron y aspiraron mediante ecografía intravaginal utilizando un monitor Mindray DP-10Vet con un transductor de matriz convexa de 5 MHz alojado en una sonda vaginal de plástico con una guía de aguja de acero inoxidable conectada a un equipo de aspiración y un sistema de vacío. El aspirado folicular se recuperó a través de un circuito de 1,1 mm de diámetro interno por 120 cm de longitud (Watanabe Tecnología Aplicada), conectado directamente a una aguja desechable de 48 mm y un tubo cónico de 50 ml que contiene 15 ml de NaCl al 0,9%, más Vigro (suplemento que contiene 50 ng/ml de penicilina, 50 ng/ml de estreptomicina, 100 ng/mL de neomicina y 5000 UI/mL de heparina sódica). El tubo cónico que contenía el aspirado folicular se transportó a un laboratorio de campo y los complejos de cúmulos de ovocitos (AOC) se lavaron utilizando un filtro de 75 mm (Watanabe Tecnología Aplicada) y la misma solución calentada utilizada durante la OPU. Los complejos cúmulo-ovocito se evaluaron morfológicamente con un estereomicroscopio y se clasificaron como

viabiles o inviabiles según las características del citoplasma del ovocito y el número de capas de células cúmulo (criterio utilizado de Leibfried y First). Se utilizaron los mismos criterios para evaluar los ovocitos de las búfalas. Los ovocitos que se consideraron viabiles para IVEP fueron: Los complejos de cúmulo de ovocitos (AOC) compactos con más de tres capas de células del cúmulo, ovocitos con citoplasma homogéneo, y ovocitos con citoplasma ligeramente heterogéneo, y los AOC parcialmente desnudos. Los ovocitos que se excluyeron del estudio fueron los desnudos o degenerados y los AOC con células de cúmulo expandidos.

Análisis estadístico

La prueba estadística usada en este trabajo para analizar la tabla de contingencia (tabla 3), que asocia dos variables cualitativas, fue la prueba Exacta de Fisher. Para este análisis se utilizó la herramienta de internet www.openepi.com. Con esta herramienta se realizó la prueba antes nombrada y se estableció el valor p, la razón de riesgo y el intervalo de confianza con un 95% de confianza.

Resultados

El primer grupo de donadoras (Búfalas que recibieron 400 UI de eCG previo a la OPU) presentaron un diámetro folicular de 1 mm mayor a las que no recibieron tratamiento hormonal con eCG. La tasa de recuperación total para el primer grupo fue de 266 ovocitos totales, dando un promedio de 14 ovocitos por búfala aspirada y un total de ovocitos viables de 127, arrojando un promedio de 47,7% de viabilidad de ovocitos para el primer grupo conformado por 19 búfalas donantes.

Los resultados que arrojó el segundo grupo fueron los siguientes, la tasa de recuperación total fue de 143 ovocitos totales, dando un promedio de 13 ovocitos por búfala aspirada y un total de ovocitos viables de 60, arrojando un promedio de 41,9% de viabilidad de ovocitos para el segundo grupo conformado por 11 búfalas donantes.

Tabla 3. Asociación entre aplicación de eCG y aumento de diámetro folicular

Variable	Aumento diámetro		No aumento diámetro		RR	IC 95%	Valor p
eCG							
Si	8	26,7%	11	36,7%			
No	2	6,6%	9	30,0%	2,32	0,59-9,02	0,35

De las 30 búfalas aspiradas en la hacienda cuba, el 63,3% de las búfalas fueron tratadas con eCG y el 36,7% no se le aplicó tratamiento hormonal. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la aplicación de eCG y el aumento de diámetro folicular (valor p 0,35).

Discusión

Durante los últimos 20 años, se ha informado de un fuerte aumento en la producción de embriones bovinos in vitro (IVEP) a partir de ovocitos recuperados por aspiración folicular (OPU) (Baruselli, y otros, 2020). La producción de embriones in vitro junto con otros avances importantes ha permitido una mejora considerable en el ganado vacuno durante este período. En búfalos, la OPU asociada con IVEP es particularmente importante como tecnología de producción de embriones, porque los programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones muestran muy baja eficiencia y pocas aplicaciones comerciales (Baruselli, y otros, 2020).

Se sabe que muchos factores influyen en los resultados de OPU-IVEP, incluido el tamaño folicular, el diámetro de los ovocitos, la fase de la onda folicular, el grupo genético, y la categoría de animales.

El presente estudio probó la hipótesis de que el tratamiento con eCG durante el período periovulatorio aumentaría levemente el número de ovocitos recuperados en búfalas superovuladas por medio de la aspiración folicular.

El efecto beneficioso del tratamiento con eCG observado en el presente estudio fue relativamente bueno. Sin embargo, hay que resaltar las diferencias significativas que tienen la especie bufalina con el ganado vacuno y otros animales. Estos buenos resultados en bovinos se podrían explicar porque los bovinos tienen un mayor número de folículos reclutados por onda folicular y un diámetro mayor del folículo dominante en la ovulación en comparación con las búfalas (Soares de Carvalho, y otros, 2020).

Por estos detalles, indudablemente el ganado vacuno presenta una superioridad reproductiva in vitro con respecto al bufalino, obteniendo mejores resultados en OPU y en IVEP, donde se evidencia un mayor número de ovocitos recuperados por OPU en el ganado vacuno. Además, se han informado tasas más bajas de blastocistos (19,9% frente a 29,7%) después de los programas de IVEP en el ganado *B. bubalis* en comparación con el ganado *B. taurus* (Mirmahmoudi, Sourì, & Prakash, 2014).

Por otra parte, el ganado bufalino ha presentado bajos porcentajes de recolección de embriones fertilizados in vivo por medio de lavado embrionario, esto debido a los factores endocrinos y paracrinòs que inducen cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos en el infundíbulo, ámpula e istmo para proporcionar un microambiente ideal que facilite el transporte y maduración de los ovocitos, la capacitación y el transporte de los espermatozoides, la fertilización y el desarrollo embrionario temprano. La contracción del músculo liso, el flujo de secreciones tubáricas y el movimiento ciliar del epitelio del oviducto son colectivamente responsables del transporte de gametos y embriones en el momento del lavado (Mirmahmoudi, Sourì, & Prakash, 2014).

Conclusión

Los hallazgos del presente estudio sugieren que el tratamiento con gonadotropinacoriónica equina (eCG) puede ayudar a mitigar algunos de los efectos negativos de la superestimación en búfalos. En conclusión, el tratamiento de búfalos superestimados con eCG durante el período periovulatorio aumentó el número de ovocitos viables recuperados por OPU.

Sin embargo, el tratamiento con eCG aumentó el diámetro folicular de 6 mm a 7 mm y se evidenció que en algunos ovocitos mejoró la unión célula de la granulosa-Ovocito. Si bien estos aumentos fueron limitados, tampoco fueron significativos dada la baja recuperación de ovocitos en búfalos superestimados.

Referencias

Baruselli, P., Carvalho, J., Elliff, F., Silva, J., Chello, D., & Carvalho, N. (20 de julio de 2020). Embryo transfer in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*(150), 221-228. doi:10.1016/j.theriogenology.2020.01.037

Carrascal Triana, E. (22 de septiembre de 2020). *Conoce un poco más sobre el búfalo de agua (Bubalus bubalis)*. Obtenido de Agrosavia: www.agrosavia.co/noticias/conoce-un-poco-m%C3%A1s-sobre-el-b%C3%BAfalo-de-agua-bubalus-bubalis

Carvalho, N., Soares, J., Souza, D., Maio, J., Sales, J., Martins Júnior, B., . . . Baruselli, P. (enero de 2017). Ovulation synchronization with estradiol benzoate or GnRH in a timed artificial insemination protocol in buffalo cows and heifers during the nonbreeding season. *Theriogenology*(87), 333-338. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.09.006

CONtexto ganadero. (7 de enero de 2014). *Búfalos, una ventaja productiva para Colombia*. Obtenido de CONtexto ganadero: www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/bufalos-una-ventaja-productiva-para-colombia

Contreras Carvajal, D. M. (2018). *Revisión sistemática de literatura sobre características del comportamiento reproductivo en la especie bufalina*. Arauca.

Crudeli, G. (2011). Fisiología reproductiva. *Revista Tecnología en Marcha*, 74. Obtenido de revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/166

FAO. (2007). *Producción y productos lácteos: Búfalos*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: www.fao.org/dairy-production-products/production/dairy-animals/buffaloes/es/

Konrad, J., Scian, R., Garrido, M., Taminelli, G., & Sansinena, M. (22 de octubre de 2013). Producción de embriones de búfalo por fertilización in vitro luego de la maduración de los ovocitos durante el transporte prolongado. *Revista Veterinaria*(2), 97-101. Recuperado el 2021, de revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/621

Mirmahmoudi, R., Soury, M., & Prakash, B. (15 de octubre de 2014). Comparison of endocrine changes, timing of ovulations ovarian follicular growth, and efficacy associated with Estradoublesynch and Heatsynch protocols in Murrah buffalo cows (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*(82), 1012-1020. doi:10.1016/j.theriogenology.2014.07.026

Paulini, F., Silva, R., Rôlo, J., & Lucci, C. (30 de octubre de 2014). Ultrastructural changes in oocytes during folliculogenesis in domestic mammals. *J Ovarian Res*, 7-102. doi:10.1186/s13048-014-0102-6

Paulini. (2014). Folículos primarios
[Fotografía].
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4334757>

Sánchez, J. A., Romero, M. H., & Meneses, A. F. (2019). Dinámica folicular durante el ciclo estral natural en búfalos (*Bubalus bubalis*). *Revistas de Investigaciones Veterinarias del Perú*(30), 299- 308. doi:10.15381/rivep.v.30i1.14610

Soares de Carvalho, J., Tonizza de Carvalho, N., Souza, D., Martins Júnior, B., Macedo, G., Vieira, L., Baruselli, P. (15 de marzo de 2020). Administration of PGF2a during the preovulatory period increased fertilization rate in superovulated buffaloes. *Theriogenology*(145), 138-143. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.11.010