



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE UNA PROGESTERONA INYECTABLE
(MAD-4) EN UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN
VAQUILLONAS HOLANDO**

por

Andrés Santiago RUSIÑOL MORENO



TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias

Orientación: Producción Animal
MODALIDAD: Ensayo experimental



FV-29113

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2011**

PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS DE GRADO aprobada por:

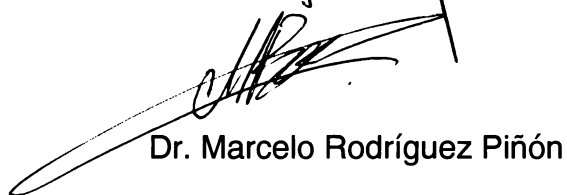
Presidente de Mesa:


Dr. Daniel Elhordoy

Segundo Miembro (Tutor):


Dr. Daniel Cavestany

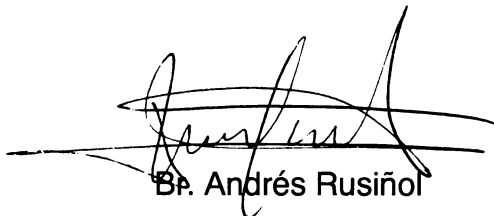
Tercer Miembro:


Dr. Marcelo Rodríguez Piñón

Fecha:

3 de agosto de 2011

Autor:


Bp. Andrés Rusiñol

AGRADECIMIENTOS

A Daniel Cavestany por su apoyo en este trabajo y por conseguir la financiación, espacio y animales para el ensayo.

A Daniel Elhordoy por su constante apoyo en la redacción y armado del trabajo.

Al personal de la unidad de lechería del INIA La Estanzuela muy especialmente al Lobo quien me ayudó en la inseminación.

Al Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina por la donación de hormonas.

A la Facultad de Veterinaria, sus docentes y funcionarios quienes contribuyeron, contribuyen y contribuirán en mi formación personal y profesional.

A mi familia y amigos por estar siempre acompañándome en este camino.

Tabla de contenido

Contenido	Página
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
CICLO ESTRAL Y SUS FASES EN LA VACA	4
ÓRGANOS INVOLUCRADOS EN LA REPRODUCCIÓN	7
HORMONAS REGULADORAS DE LA REPRODUCCIÓN	10
DINÁMICA FOLICULAR	12
REGULACIÓN NEUROENDOCRINA DEL CICLO ESTRAL	14
SISTEMAS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS	15
OVSYNCH	15
TRATAMIENTOS CON PROGESTÁGENOS	17
USO DEL BE Y SU COMBINACIÓN CON LOS PROGESTÁGENOS EN	20
PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS	
SINCRONIZACIÓN E INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN EN	20
VAQUILLONAS	
HIPÓTESIS	22
OBJETIVO	23
MATERIALES Y MÉTODOS	24
ANIMALES Y EMPLAZAMIENTO	24
TRATAMIENTO	24
DETECCIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	25
DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN	26
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	26
RESULTADOS	27
DISCUSIÓN	28
CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

Lista de figuras

Figuras	Página
Figura 1. Evolución de remitentes y de la remisión promedio	3
Figura 2. Relaciones entre Órganos y Hormonas del ciclo estral	10
Figura 3. Ciclos de dos y tres ondas foliculares	13
Figura 4. Esquema simplificado de las interrelaciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero	14
Figura 5. Esquema de los protocolos del grupo control y grupo tratado	25
Figura 6. Porcentaje de preñez global por grupo y según método de IA.	27

RESUMEN

El objetivo fue medir el efecto de la adición de progesterona (P4) inyectable de efecto retardado (MAD-4) en un protocolo de sincronización de celos. Se testeó sobre 101 vaquillonas Holando de 22 meses de edad, las cuales se dividieron en dos grupos tratados con 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE) al día 0, 0,15 mg de prostaglandina F2 α (PG) (Cloprostenol) al día 7, 8 μ g de GnRH (acetato de Buserelina) al día 9, (todos por vía intramuscular), seguido de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) 16 horas más tarde. El grupo tratado (n=51) recibió una inyección subcutánea de 100 mg de MAD-4 junto con el BE mientras que el grupo control (n=50) no recibió P4. Se realizó detección de celos durante 7 días, comenzando en el día 2 del experimento, seguida de inseminación artificial (IA) y los animales que no presentaron celo fueron inseminados a tiempo fijo (IATF) al día 10. La ocurrencia de celos prematuros (durante los días 2 a 9) fue del 22%, no existiendo diferencia significativa entre grupos ($p>0,05$). El porcentaje de preñez global fue de 20% para el grupo control y 26% para el grupo tratado también sin diferencias significativas ($p>0,05$). La inclusión de 100 mg de MAD-4 no evitó los celos prematuros ni mejoró el porcentaje de preñez.

Palabras claves: sincronización de celos, progesterona, vaquillonas Holando, IATF

SUMMARY

The aim of the trial was to test a new treatment with delayed effect parenteral progesterone (MAD-4) in an estrus synchronization protocol. The effect was tested on 101 Holstein heifers of 22 months of age that were divided in two groups treated with 2 mg of estradiol benzoate (EB) on day 0, prostaglandin F2 α (PG) on day 7 and GnRH on day 9, (all intramuscular), followed by fixed-time artificial insemination (FTAI) 16 hours later. The treated group (n=51) received a subcutaneous injection of 100 mg of parenteral progesterone (P4) with the EB while the control group (n=50) didn't receive P4. Heat detection was performed for 7 days starting on day 2 of the experiment, followed by AI and the animals that didn't show estrus were inseminated at fixed time (TAI). Occurrence of premature estrus (days 2 to 9 of the protocol) was 22%, without significant differences between groups. The global pregnancy rate was 20% for the control group and 26% for the treated group also no significant differences ($p>0.05$) so the inclusion of the P4 did not prevented premature estrus and did not improve the pregnancy rate.

Keywords: estrus synchronization, progesterone, Holstein heifers, FTAI.

INTRODUCCIÓN

El rodeo lechero nacional cuenta con 710.000 animales distribuidos en 4.507 establecimientos que ocupan el 4,5% de la superficie total de nuestro país (MGAP, DIEA, 2010). Esta superficie se reduce anualmente por diferentes causas, la principal es que disputa con la agricultura las tierras más fértiles. A medida que el rodeo lechero se reduce, es notoria la disminución anual de remitentes y el aumento de la producción de leche, quedando la misma cantidad de animales en rodeos cada vez más grandes (Figura 1).

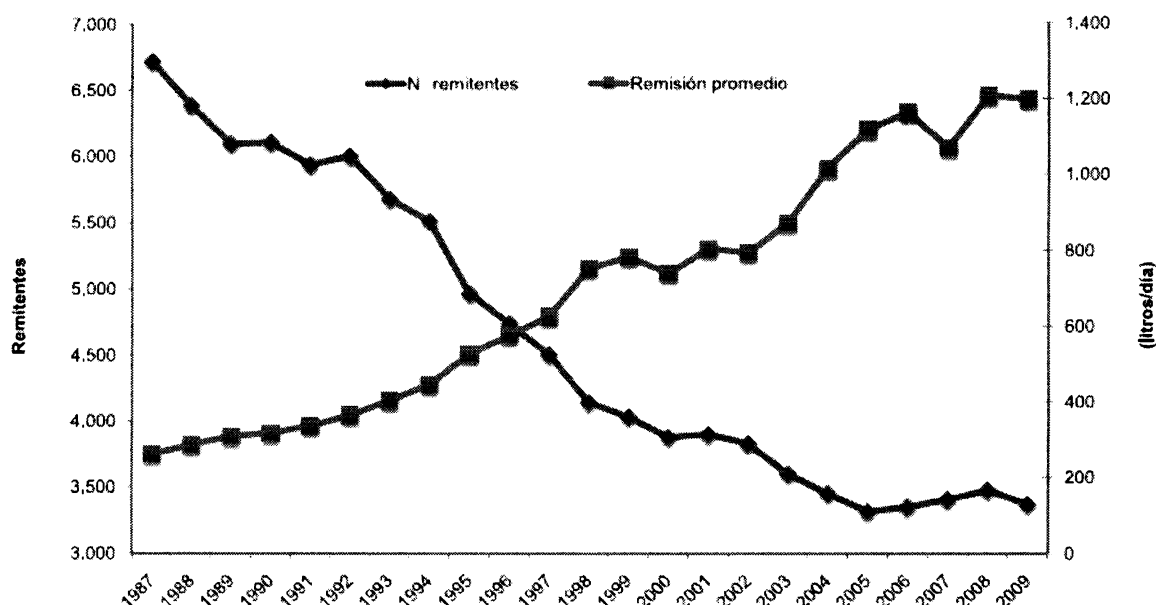


Figura 1. Evolución del número de remitentes y del volumen de leche remitida promedio por remitente (litros/día). Fuente: MGAP-DIEA 2010.

Los principales factores involucrados en la reproducción son los factores genéticos y nutricionales. La selección del ganado lechero a favor de la alta producción ha sido relacionada con el detrimento de la fertilidad (García Bouissou, 1998; Lucy, 2001). En las últimas dos décadas, se ha seleccionado a favor de los parámetros productivos y no reproductivos, y como consecuencia de ello el problema de la dificultad en preñar las vacas y vaquillonas (García Bouissou, 1998; Sotelo, 2007).

Entre las limitantes para mejorar los porcentajes de concepción y preñez de un rodeo se encuentra la falla en la detección de celos (Barr, 1974; Foote, 1975 y 1978;

De Kruif y Brand, 1978; Habich y col., 1978; , Wiltbank y col., 1996; Kastelic y col., 2001), Las estrategias para mejorar la detección de celos van desde aumentar el tiempo de detección (Foote, 1978; Van Eederburg y col., 1996) hasta el manejo más específico del ciclo estral de la vaca, implementando métodos de sincronización de celos o de ovulación (Cavestany y Foote, 1985; Wolfenson y col., 1994; Thatcher, 1996; Wiltbank y col., 1996; Stevenson y col., 1999; Stevenson, 2000; Moreno y col., 2000; Chesta y col., 2003).

¿Por qué la MAD-4 frente a los DIV? no deja residuos en el ambiente ni contaminantes para otras especies, es más económico y es más fácil de aplicar (Allignani y col., 2008).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El hombre ha pretendido controlar la actividad reproductiva de los animales en su beneficio. Con el descubrimiento de las hormonas de la reproducción y la utilización de la ultrasonografía para estudiar el efecto de distintos tratamientos hormonales sobre la dinámica folicular en el bovino llevó al desarrollo de protocolos que permiten manipular eficientemente el ciclo estral y la ovulación. Existen hoy numerosos protocolos de sincronización de celos y ovulaciones y cada uno de ellos tiene sus ventajas y desventajas por lo que el médico veterinario debe tener un conocimiento profundo de la fisiología reproductiva del bovino para determinar cuál es el método más adecuado para los distintos ambientes y animales con los que debe trabajar.

CICLO ESTRAL Y SUS FASES EN LA VACA

CICLO ESTRAL

Se define como el periodo de tiempo comprendido desde la ocurrencia de un estro hasta el comienzo del siguiente, o bien, el intervalo de tiempo comprendido entre dos ovulaciones, designándose el primer día del ciclo (día 1) aquel que coincide con la manifestación del estro. La vaca es un animal poliéstrico continuo, con una duración del ciclo de 21 días aproximadamente (18 a 24 días) (Arthur, 1991).

El celo, tomado como período de aceptación de la monta, dura entre 6 a 18 horas (Bó y col., 1998). Según McDonald (1991) la duración del celo sería de 14 a 18 horas.

La ovulación se produce espontáneamente 12 horas luego de finalizado el celo (Arthur, 1991; McDonald, 1991). Sin embargo para las vaquillonas esto puede variar ya que Arthur (1991) afirma que la duración del ciclo estral en esta categoría es de 20 días promedio, con una variación de 18 a 22 días. Este mismo autor presenta como rango de duración del celo de 2 a 20 horas siendo el promedio 15 horas.

En los animales domésticos como los bovinos, el celo presenta varios signos que lo hacen notorio, ya que el celo conductual generalmente coincide con el pico preovulatorio del pico de LH (hormona luteinizante), (Arthur, 1991). La hembra acepta al macho para que el apareamiento se realice exclusivamente durante el período del celo (Arthur, 1991).

El origen del comportamiento de receptividad sexual durante el celo está directamente relacionado con las variaciones en la concentración sanguínea de las hormonas esteroideas. En algunas especies un incremento en la concentración de 17β estradiol en la sangre es capaz de desencadenar la receptividad sexual. En otras especies es necesario que el hipotálamo este previamente expuesto a la progesterona (P_4), secretada por el cuerpo lúteo del ciclo anterior (Mc Donald, 1991).

La hembra bovina de raza lechera, en especial la raza Holando, alcanza su pubertad a los 10-12 meses (Hafez, 1989), siendo regular su ciclicidad respecto a duración y cumplimiento de las etapas hacia los 15 meses, edad en que debería alcanzar el 75% del peso vivo adulto y así estar apta para concebir. La edad en alcanzar la pubertad está afectada por la raza, estación al nacimiento y fuertemente por la nutrición (Arthur, 1991) McDonald en 1991 asoció el inicio de la pubertad más al peso corporal que a la edad.

FASES DEL CICLO ESTRAL

Tradicionalmente se ha dividido en cuatro fases que describen las diferentes etapas de la actividad cíclica del ovario (Hafez, 1989; Arthur, 1991; Callejas, 1995; Bó y col., 1998).

Estro: periodo de receptividad sexual al final del cual se produce la ovulación

Metaestro: periodo de desarrollo inicial del cuerpo lúteo, comienza al final del estro

Diestro: periodo de actividad del cuerpo lúteo maduro, comienza 4 días después de la ovulación y finaliza con la luteólisis.

Proestro: periodo de crecimiento folicular que se inicia con la regresión del cuerpo lúteo y culmina con el inicio del estro.

El estro (día 1) dura en promedio 15 horas en vaquillonas. Luego del estro viene la fase de metaestro (del día 2 al 5), seguida por el diestro (día 5 al 19) que deja lugar luego al proestro (día 19 hasta estro). Es una secuencia repetida en forma constante con algunas salvedades (Bó y col., 1998).

Terminado el diestro, inicia el proestro como se mencionó anteriormente, o como en el caso de penuria nutricional o estímulos como el amamantamiento, a través de mecanismos neuroendocrinos el animal comenzar un anestro (ciclo detenido). Una vez que estos estímulos cesan, la hembra retomará nuevamente la ciclicidad. A su vez, existe una tercera posibilidad en este esquema: luego del diestro, si la vaca fue servida en tiempo y forma podría comenzar a gestar, retomando la ciclicidad en tiempos variables luego del parto (Arthur, 1991; Callejas, 1995).

Durante un ciclo estral, en forma simultánea se dan cambios estructurales, hormonales y conductuales, ocurriendo los primeros en el ovario. Estos cambios estructurales responden al crecimiento folicular, ovulación del folículo y formación de un cuerpo lúteo (CL).

En cada etapa, existen cambios tanto a nivel uterino como vaginal, acompañados por diferentes estructuras ováricas (cuerpos lúteos, folículos) y variaciones conductuales manifiestas (McDonald, 1991).

El proestro es la fase donde el folículo crece rápidamente estimulado por la acción gonadotrópica. Los estrógenos liberados por los folículos en desarrollo, progresivamente van aumentando lo que produce las primeras manifestaciones de cambio de conducta. El CL del ciclo que culmina va disminuyendo rápidamente su producción de P4 (McDonald, 1991). El útero se encuentra dilatado, con un endometrio congestivo y edematoso cuyas glándulas secretoras tienen notoriamente aumentada su actividad. Tanto la mucosa vaginal, la porción vaginal del cérvix y los labios vulvares están hiperémicos. Estos últimos progresivamente se edematizan (Arthur, 1991).

El estro se define como el período de receptividad sexual, durante el cual la hembra acepta la monta, (McDonald, 1991) tanto sea de un macho como de hembras. Este comportamiento homosexual es exclusivo de los bovinos, conducta que aprovechamos para detectar el celo.

El cérvix se relaja y sus glándulas secretan mucus. Tanto las paredes vaginales como el endometrio están congestivos (Hafez, 1989).

El metaestro, según Morrow (1986), es el período en que ocurre la ovulación y donde comienza el desarrollo del CL. Se caracteriza por bajos niveles tanto de P4, estrógenos (E2) y LH, cambiando de predominio de E2 al de P4 (McDonald, 1991).

Diestro es la fase donde se logra el desarrollo máximo del cuerpo lúteo, el predominio es progesterónico para todos los órganos reproductivos. (McDonald, 1991).

El conocimiento pormenorizado de cada fase y los sucesos que involucran serán de enorme importancia a la hora de establecer un manejo reproductivo y la programación de un programa de sincronización/inducción de celos u ovulación (Bó y col., 1998; Cutaia, 2007).

ÓRGANOS INVOLUCRADOS EN LA REPRODUCCIÓN

Hipotálamo:

Se encuentra en la base del cerebro, y sus neuronas producen la hormona liberadora de gonadotropina o GnRH. La GnRH en la eminencia media, difunde a los capilares del sistema porta hipofisario y de aquí a las células de la adenohipófisis en donde su función es estimular la síntesis y secreción de las hormonas hipofisarias, FSH y LH (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

Hipófisis:

Está formada por una parte anterior o adenohipófisis y una posterior o neurohipófisis. La adenohipófisis produce varios tipos de hormonas, de las cuales la FSH y LH cumplen un papel relevante en el control neuroendocrino del ciclo estral (Arthur, 1991; McDonald, 1991). La FSH es la responsable del proceso de esteroideogénesis ovárica, crecimiento folicular y la LH interviene en el proceso de esteroideogénesis ovárica, maduración folicular y ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo. Estas hormonas son secretadas a la circulación en forma de pulsos y son reguladas por dos sistemas, el tónico y el cíclico (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

El sistema tónico produce el nivel basal circulante, siempre presente, de hormonas hipofisarias las cuales promueven el desarrollo de los elementos germinales y endócrinos de las gónadas (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

El sistema cíclico opera más agudamente, siendo evidente por solo 12 a 24 horas en cada uno de los ciclos reproductivos de la hembra. El sistema cíclico tiene por función primaria causar la ovulación (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

La neurohipófisis almacena la oxitocina producida en el hipotálamo. Esta hormona tiene varias funciones como son intervenir en el mecanismo del parto, bajada de la leche, transporte espermático e intervendría en el proceso de luteólisis (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

Ovarios:

Actúa como glándula endócrina (secretando hormonas) (Arthur, 1991; McDonald, 1991). Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar a los estrógenos, la P4 y la inhibina. Los estrógenos, hormonas esteroideas, son producidos por el folículo ovárico y tienen acciones sobre los distintos órganos blancos como son los oviductos, el útero, el cérvix, la vagina, la vulva y el sistema nervioso central, en el cual estimulan la conducta de celo y el hipotálamo donde ejercen una retroalimentación negativa sobre el sistema tónico y positivo sobre el sistema cíclico (Arthur, 1991; McDonald, 1991). La P4, hormona esteroidea, es producida por el cuerpo lúteo por estímulo de la LH. Los efectos de la P4 se observan después que el tejido blanco ha estado expuesto durante cierto tiempo a la estimulación de los estrógenos. Esta preparación por los estrógenos conduce a un efecto sinérgico. Esta hormona prepara el útero para el implante del embrión y para mantener la gestación. A nivel hipotalámico ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre el sistema tónico (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

La inhibina, hormona proteica, es producida por el folículo ovárico (células granulosas) e interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH. Ejerce un feedback negativo a nivel hipofisario, produciendo una menor secreción de FSH (Arthur, 1991; Mc Donald, 1991).

Útero:

Produce la PG, la cual interviene en la regulación neuroendocrina del ciclo estral mediante su efecto luteolítico. Otras funciones son la de intervenir en los mecanismos de ovulación y del parto (Arthur, 1991; Mc Donald, 1991).

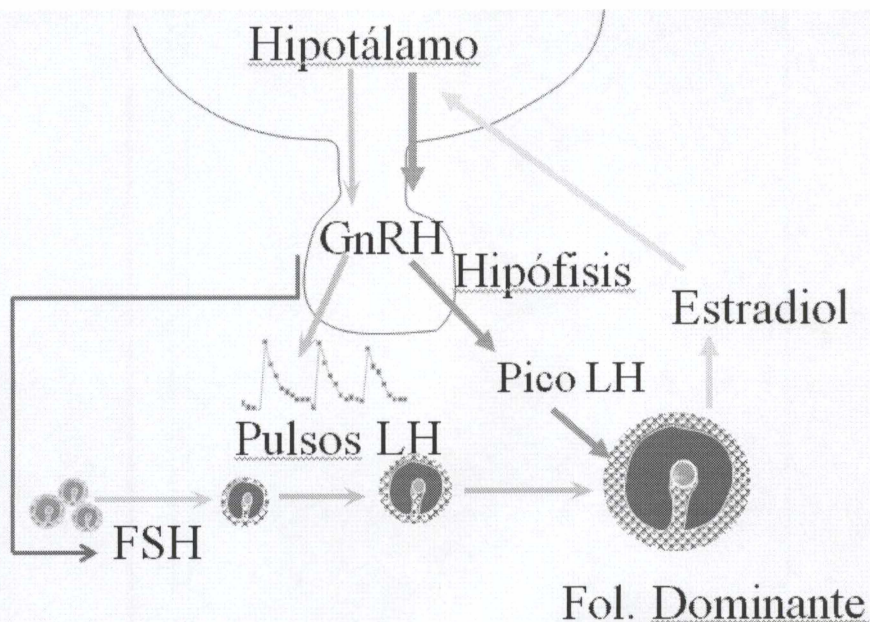


Figura 2. Relaciones entre órganos y hormonas involucrados en el ciclo estral

HORMONAS REGULADORAS DE LA REPRODUCCIÓN

Progesterona

Esta hormona es producida en los ovarios, placenta y glándulas adrenales, siendo su principal fuente, en los animales que están ciclando, el cuerpo lúteo. Existen algunas sustancias naturales o sintéticas, cuya actividad es similar a la de la P4, denominadas progestágenos, que derivan al igual que todos los esteroides, del ciclopentanoperhidrofenantreno del colesterol (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

Funciones

Durante la preñez, inhibe la contractilidad del miometrio y la respuesta de este a la oxitocina, aumentan la viscosidad del moco cervical, previenen la ovulación ya que inhibe la liberación de LH en la hipófisis (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

Estrógenos

Los estrógenos se producen en la teca interna y las células de la granulosa del folículo ovárico bajo el control sinérgico de la FSH y la LH. Las principales funciones fisiológicas de los estrógenos son el desarrollo y mantenimiento de la estructura funcional de los órganos sexuales de la hembra, así como los caracteres sexuales secundarios (Mc. Donald, 1991).

Funciones

Fisiológicamente es producir la dilatación del cérvix durante el parto, efecto que se puede provocar artificialmente si la inyectamos en el día 7 posparto cuando hay retención placentaria (dilata el cérvix o aumenta la sensibilidad uterina a las contracciones inducidas por oxitocina (McDonald, 1991). También en el tratamiento de piometra, retenciones placentarias y metritis debido a su estimulación del tono y la motilidad miometrial, e inducir el aborto hasta el quinto mes de gestación gracias a su efecto luteolítico (Hafez, 1989). Los estrógenos estimulan al hipotálamo para que secrete GnRH, provocando así la secreción de LH y FSH. Éstas finalmente desencadenan la emergencia de una nueva onda folicular, ya que la LH produce la ovulación o regresión del folículo dominante (si lo hubiera) y la FSH estimula el inicio de la etapa de reclutamiento folicular. (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

Son los principales responsables del comportamiento estral. Pequeñas fracciones de P4 o una previa exposición a la misma resulta en la potencialización de su efecto. A su vez, inducen cambios en el tracto tubular requeridos para un apareamiento exitoso y el transporte de los gametos (Morrow, 1986). Generan una vascularización pronunciada, incremento del flujo sanguíneo y el típico edema de útero, vagina y vulva (Mc. Donald, 1991). Estimulan la actividad del miometrio y hacen al útero más sensible a los efectos de la prostaglandinas y oxitocina durante el estro y el parto, además de participar en la maduración del folículo de Graaf y provocan el pico preovulatorio de LH (Morrow, 1986). Pueden utilizarse como inductores de la ovulación mediante la generación de un pico de LH. Muchas veces no se consigue una ovulación ya que no logran estimular la maduración folicular en si misma (Mc. Donald, 1991).

Prostaglandinas

Dentro de este grupo, la más utilizada es la PG ya que es la que se vincula con la reproducción. Su principal efecto es su acción luteolítica, con lo cual los niveles de P4 bajan dentro de un periodo de 24 h. y en segundo lugar, su efecto estimulante de las fibras musculares del miometrio.

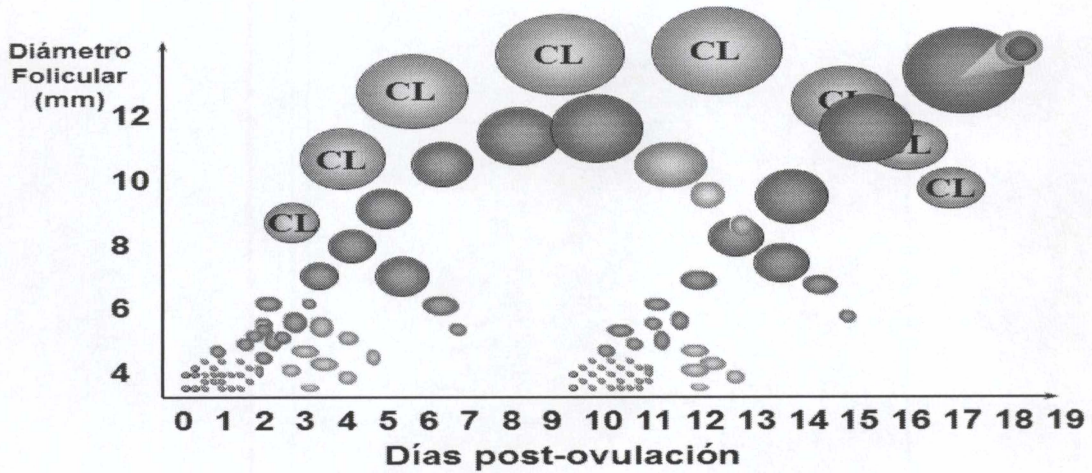
Funciones

Su principal acción es para la sincronización de celos en hembras que presenten su cuerpo lúteo. También para el tratamiento de corrimientos genitales, piometras, expulsión de fetos momificados y macerados, eliminación de cuerpos lúteos patológicos e inducción del parto hasta unos 15 días antes de la fecha estimada del mismo (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

DINÁMICA FOLICULAR:

Se conoce como dinámica folicular al proceso de reclutamiento, selección, crecimiento y regresión de folículos ováricos. Éstos pueden derivar en folículos antrales que conducen al desarrollo de un folículo preovulatorio. Mediante ultrasonografía ovárica, las investigaciones han detectado que el crecimiento de los folículos en los ovarios ocurre en "ondas." Son ciclos que no finalizado uno, comienza el otro. En un ciclo estral normal de 18 a 23 días, pueden ocurrir 2 o 3 ondas de crecimiento folicular sucesivas. Incluso en algunos Bos Indicus se han descrito animales de 4 ondas (Knopf y col., 1989; Arthur, 1991; McDonald, 1991; Bó y col., 1993, 1998; Rhodes y col., 1995; Zeitoun y col., 1996; Figueredo y col., 1997) (Figura 4).

Ondas Foliculares (ciclo de dos ondas)



Ondas Foliculares (ciclo de tres ondas)

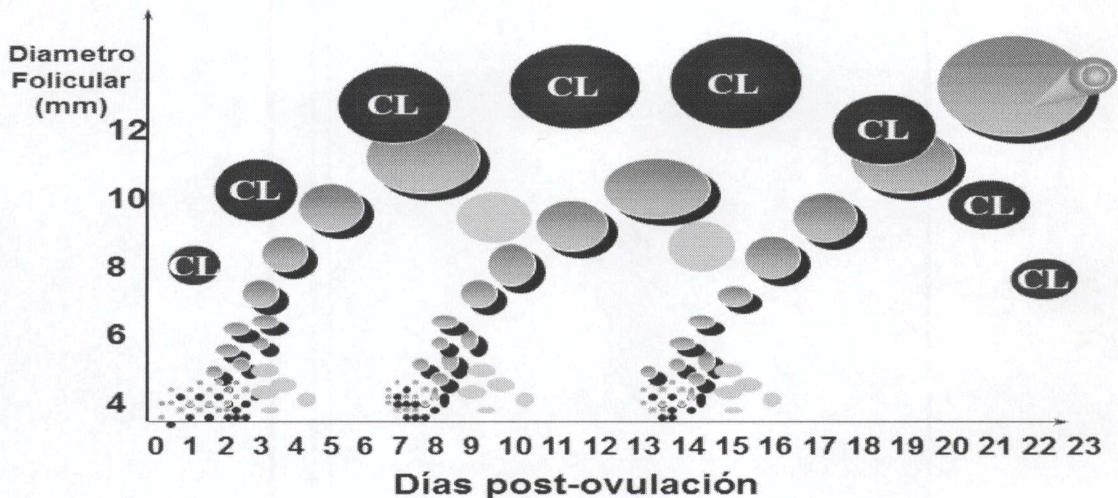


Figura 3. Ciclos de dos y tres ondas foliculares (Adaptado de Cutaia, 2007)

El inicio de cada onda se caracteriza por un pequeño incremento de FSH, seguido por el rápido crecimiento de varios folículos. A esta etapa se le llama de reclutamiento. De esta onda folicular, un folículo es seleccionado para crecer más que los otros y evitar así la atresia (etapa de selección).

El folículo seleccionado domina ejerciendo un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva generación de folículos. Esta es la etapa de dominancia y al folículo que la caracteriza se le llama dominante. Los folículos dominantes solo duran de 3 a 6 días, que es cuando entran en regresión (atresia), u ovulan. En

consecuencia, la desaparición del folículo dominante coincide con la formación de la siguiente onda, de la que obtendremos otro folículo dominante. Este folículo alcanza un tamaño marcadamente superior a los demás, es responsable de la mayor secreción de estradiol y adquiere la capacidad de continuar su desarrollo en un medio hormonal adverso para el resto de los folículos (Arthur, 1991; McDonald, 1991).

La causa por la cual regresa el folículo dominante de las primera onda (en los ciclos de 2, o la primer y segunda onda en los ciclos de 3) sería la presencia de una baja frecuencia de pulsos de LH debido a los altos niveles de P4, que provocarían una menor síntesis de andrógenos y en consecuencia una menor síntesis de estradiol, que provocarían la atresia folicular.

Solamente el folículo dominante presente al momento de la regresión del CL, cuando los niveles de P4 son bajos, puede producir suficientes estrógenos para llevar al animal a entrar en celo y continuar hasta la ovulación (Knopf y col., 1989; Callejas, 1995; Bó, 1998, 2002).

REGULACIÓN NEUROENDOCRINA DEL CICLO ESTRAL

Como se mencionó, cuatro órganos están involucrados en la regulación del ciclo estral: Hipotálamo, Hipófisis, Ovarios y Útero. Los tres primeros conforman el llamado eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. Todos ellos se comunican a través de hormonas y neurotransmisores. Las principales hormonas involucradas en el ciclo estral son: GnRH, LH, FSH (Hormona Folículo-estimulante), PG, E2, Oxitocina y P4 Según McDonald (1991), Y sus interrelaciones se esquematizan en la Figura 2.

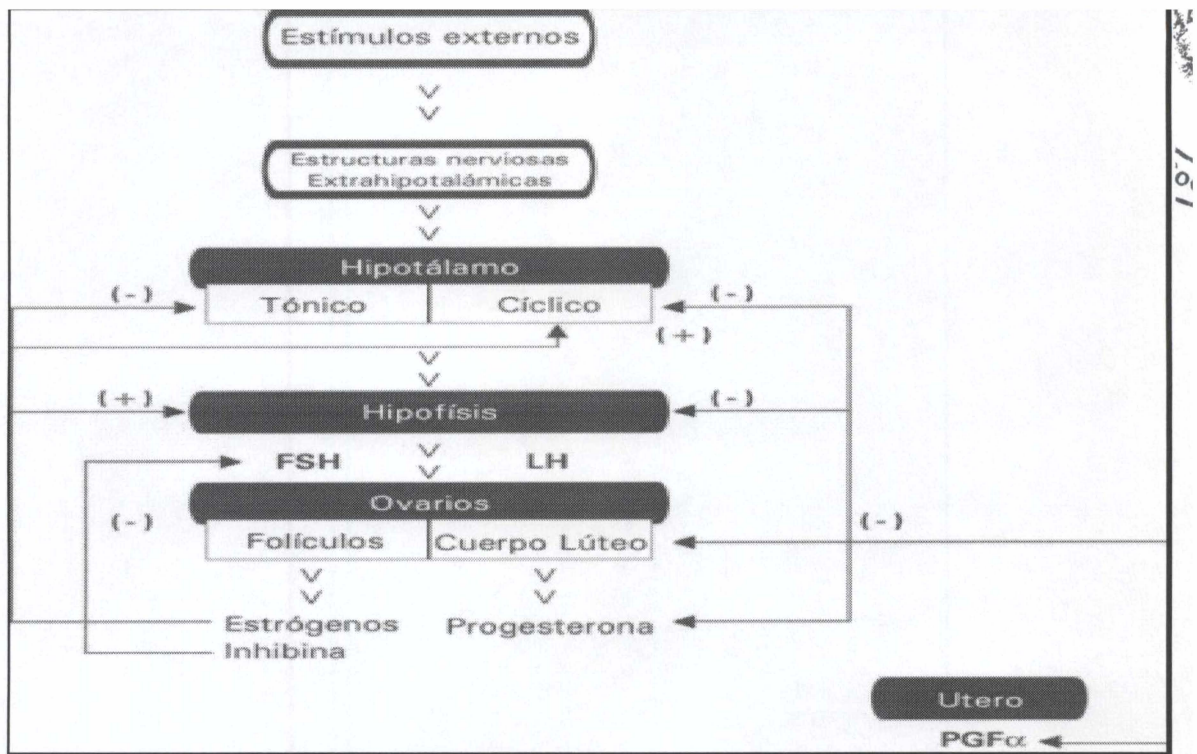


Figura 4. Esquema simplificado de las interrelaciones hormonales del eje hipotálamo-hipofisis-ovario-útero (Callejas, 1995)

SISTEMAS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS

Diversos protocolos se han utilizado en las vaquillonas a fin de poder concentrar el tiempo de los servicios eliminando la detección de celos.

OVSYNCH

El avance en el conocimiento de la fisiología del ciclo estral ha permitido en los últimos años abordar la sincronización de celos atendiendo no sólo la funcionalidad del CL, sino también la dinámica folicular. La utilización de un tratamiento con GnRH induce la ovulación del folículo dominante y el posterior desarrollo de una nueva onda folicular (Knopf y col., 1989; Macmillan y Thatcher, 1991). Al inyectar PG 7 días más tarde se induce la regresión del CL. Esto se demostró monitoreando la dinámica folicular ovárica por ultrasonido y determinando los cambios hormonales (Wolfenson y col., 1994; Badinga y col., 1994). Este sistema indujo un estro más sincrónico que los animales tratados con PG sola (Macmillan y Thatcher, 1991).

En varios trabajos se demostró que el folículo dominante en crecimiento podía ser ovulado de manera más precisa utilizando una segunda inyección de GnRH, 36 a 48

horas después de la PG (Pursley y col., 1995). Esta información se utilizó para desarrollar programas de manejo reproductivo para vacas en lactancia y el protocolo para sincronizar la ovulación se hizo conocido como "Ovsynch". Este protocolo requiere tres inyecciones. Después de la segunda inyección de GnRH, las vacas son inseminadas sin necesidad de detección de celos.

Pursley y col., en 1995, demostraron que este protocolo induce la ovulación en el 97% de las vacas ciclando en lactancia. Sin embargo, e indagando más puntualmente en lo referido a vaquillonas, encontramos en este mismo ensayo que el programa sincronizó la ovulación sólo del 50% de las vaquillonas tratadas. En otro estudio, (Pursley y col., 1997) utilizaron 310 vacas y 155 vaquillonas para comparar el programa Ovsynch con el tratamiento con PG. El grupo Ovsynch recibió 100 µg de GnRH, 25 mg de un análogo sintético de la PG (Dinoprost) 7 días más tarde y una segunda dosis de GnRH 30 a 36 h después de la PG y fueron IATF 16 a 20 h después de la segunda GnRH. El grupo control recibió 25 mg PG en el Día 0 y fueron observadas para detectar celo e IA 12 horas más tarde, de acuerdo a la rutina AM/PM (lo detectado AM se insemina PM y viceversa). Las vacas que no fueron detectadas en celo fueron nuevamente tratadas con PG 14 días después y las que no entraron en celo recibieron una tercera dosis de PG 14 días más tarde y si no se observó celo fueron IATF 72 a 80 h después del tratamiento. En este estudio, el porcentaje de preñez de las vacas del grupo Ovsynch no fue significativamente diferente del grupo control, pero si fue significativamente menor en el grupo Ovsynch de las vaquillonas. En el momento de la primera dosis de GnRH (en el grupo Ovsynch), 61,2% de las vacas y 63,5% de las vaquillonas tuvieron concentraciones de P4 >1 ng/mL. En el momento de la aplicación de PG, el porcentaje se había incrementado en las vacas pero no en las vaquillonas (86,2 vs 59,5%). De esta forma la primera dosis de GnRH fue más efectiva para formar tejido luteal en las vacas que en las vaquillonas. Este método no asegura la sincronización de la ovulación en todos los animales, ya que aproximadamente un 10% de las vacas y un porcentaje mayor de las vaquillonas, tienden a mostrar celos más tempranos con respecto al momento de la IATF (Stevenson y col., 1999). Por esta razón es que se han desarrollado protocolos con distintas combinaciones (GnRH, BE, PG, progestágenos) con una mínima detección de celos e IATF (Rusiñol, 2008) a fin de obtener los mejores resultados de preñez o realizar el trabajo en la menor cantidad de tiempo.

Normalmente, si se inicia un protocolo de Ovsynch coincidiendo con el comienzo del ciclo estral, los niveles producidos de P4 antes del tratamiento con PG son bajos y por tanto hay una alta concentración de E2 al momento del celo. El intervalo de tiempo desde que se administra la PG hasta el celo es reducido y se está inseminando animales con ovulaciones muy prematuras (Stevenson y col., 1999). Por otra parte, el dar comienzo al protocolo Ovsynch en coincidencia con etapas tardías del ciclo estral produce una regresión del cuerpo lúteo (CL) antes de la administración de PG y, como consecuencia, la asincronía entre la ovulación y el tiempo de IA (Moreira y col., 2000). Existiendo niveles de P4 altos se previene la ovulación de los folículos maduros (Sirois y Fortune, 1988); entonces manteniendo altas concentraciones de P4 entre la primera GnRH y la administración de la PG, se puede prevenir la ovulación prematura. Es esta la base del uso de P4 o progestágenos en los protocolos de IATF. En síntesis, si se inicia un protocolo Ovsynch en un ambiente alto en P4 aumentaría la fertilidad del tratamiento (Cutaia y col., 2000, 2001; Murugavel y col., 2003).

TRATAMIENTOS CON PROGESTÁGENOS

La P4 (administrada principalmente por vía intravaginal) o progestinas sintéticas, en la comida o en implantes, se ha usado y usa en protocolos de sincronización en vacas y vaquillonas de carne (Bó, 1998; Thompson y col., 1999; Penny y col., 2000; Salverson y col., 2001; Cutaia y col., 2001, 2003; Cavestany y col., 2006; Cutaia, 2007) y vacas lecheras (Xu y col., 1997; Xu y Burton 1999, 2000; Cutaia y Bó; Feresín y col., 2003; Peeler y col., 2004; Rivera y col., 2005). Recientemente han surgido los primeros datos respecto al uso parenteral de un progestágeno ("Rusiñol, C., Fiol, C., Cavestany, D. (2005). Adición parenteral de un análogo de progesterona MAD-4 en un protocolo de Ovsynch en vacas ciclando (Rusiñol y col., 2005), así como resultados de los niveles plasmáticos de P4 en sangre tras su administración parenteral en vehículo de liberación lenta (MAD-4) (Cavestany y col., 2005, 2008). La MAD 4 es una formulación sintética de P4 natural (molecularmente idéntica), en un vehículo oleoso que intenta asegurar una lenta liberación tras la inyección subcutánea.

Con la utilización de P4 inyectable, además de ahorrar en manejo es significativo el ahorro en hormonas ya que la dosis de P4 inyectable es más barata que los dispositivos intravaginales (DIV) de P4 de liberación lenta. Si se compara la P4 parenteral con los dispositivos intravaginales más comúnmente utilizados, se obtiene la ventaja de administrar la dosis deseada exacta a todos los animales, con menor trabajo para el profesional y se evita la pérdida de dispositivos que según Xu y col. (1997) llega al casi 3% y las vaginitis por contaminación que podrían surgir cuando son mal aplicados. ¿Y ahora, por qué la MAD-4 frente a los DIV? no deja residuos en el ambiente ni contaminantes para otras especies, es más económico y es más fácil de aplicar (Allignani y col., 2008).

La administración de P4 resulta en un incremento transitorio de las concentraciones de esta hormona en plasma durante 4 a 5 días (Cavestany y col., 2008) lo que ayudaría en el control de ovulaciones prematuras. Ya que en el trabajo realizado en 2005 por Rusiñol y col., se concluyó que para obtener una duración de por lo menos 5 días de P4 en plasma debería utilizarse un método parenteral de administración que lo garantice, con una administración en forma subcutánea se garantiza una lenta liberación con el consecuente tiempo y nivel adecuado en plasma (Cavestany y col., 2008).

Smith y col. (1984) sincronizaban los celos de las vaquillonas Holando con PG y dispositivos intravaginales de P4 con excelentes resultados en cuanto a la sincronización donde lograban sincronizar el 99% de los celos, pero con resultados de preñez no satisfactorios ya que se sincronizaban los celos pero no se lograban sincronizar las ovulaciones a pesar de que la IA era a celo visto y no IATF.

Los tratamientos de IATF resultan en la eliminación de la detección de celos (Habich y Joandet, 1978; Thatcher y col., 1996; Wiltbanck y col., 1996; Pursley y col., 1995, 1997, 1998, 2001).

La IATF como herramienta integrante de un programa reproductivo programado e integrado, también es de gran valor sobre todo en situaciones donde el manejo reproductivo es deficiente. Asimismo, no podemos obtener la tasa máxima de concepción ya que en los programas para vaquillonas ingresarán animales que inseminaremos siendo prepúberes en algunos casos e incluso también aquellos que

no responden a la inyección de PG siempre y cuando no hagamos una revisión ginecológica previa a cada inicio de programa reproductivo (Cutaia y col., 2003; Rivera y col., 2004).

Dado que existe poca información en cuanto a protocolos establecidos de sincronización administrando P4 parenteral para vaquillonas, y pese a que la utilización de esta hormona (especialmente con DIV) en protocolos Ovsynch modificados, han probado ser beneficiosos para crear el ambiente alto de P4 necesario en los programas iniciados al comienzo o final del ciclo estral (Stevenson y col., 1999; Burton y Navanukraw, 2000, Moreno y col., 2000; Cutaia y col., 2000, 2001, 2003; Pursley y col., 2001; Murugavel y col., 2003; Chesta y col., 2003; Navanukraw y col., 2004), el tratamiento parenteral con MAD-4 puede tener alguna ventaja sobre los dispositivos vaginales, como evitar el trabajo de colocar y remover la fuente de P4 y la posible contaminación por el uso de los dispositivos (Rusiñol, C., 2009) comunicación personal, así como la reducción del costo de la hormona y la factibilidad de ser administrada por personal menos entrenado y el no dejar residuos contaminantes (Allignani y col., 2008).

Xu y Burton en 1997 probaron lo que todos suponían, los protocolos donde se implementa IATF obtienen un porcentaje de concepción y preñez inferiores a los servicios a celo visto (celo natural) en un período de 24 días. Estos dos autores concluyeron que si bien los resultados del programa de sincronización + IATF fueron menores a los que obtuvieron por inducción del celo (sin sincronización) + IATF, serían aceptables dado que eliminan la tarea de detección de celos y la problemática que ello acarrea más el tiempo que insume.

Finalmente a pesar de que la tasa de concepción se redujo después de la sincronización, el comportamiento reproductivo general se mejoró ligeramente debido a que la sincronización permite más posibilidades de reproducción en un plazo acotado de tiempo.

USO DEL BE Y SU COMBINACIÓN CON LOS PROAGENTÁGENOS EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS

Algunos investigadores recurrieron a la utilización de BE como agente inductor de una nueva onda folicular. Esta elección, se explica por la necesidad de sincronizar ovulaciones y no tanto el estro, actuando el BE con mayor exactitud frente a la PG que con su acción luteolítica solamente asegura el reinicio del ciclo, pero no asegura el tiempo de inicio de la onda folicular (Stevenson y col., 1984; Cutaia y col., 2000, 2001, 2003, 2007; Feresín y col., 2003), en tanto el BE al estimular la secreción de GnRH, desencadena la liberación de LH y FSH. La LH provoca la ovulación o crecimiento del folículo ya seleccionado, entre tanto la FSH genera un nuevo reclutamiento de folículos en el ovario.

De La Sota 2005, (citado por Cutaia y Bó, 2005), concluyó que los protocolos de sincronización de celo y ovulación en vaquillonas lecheras no parecen ser diferente a aquellos utilizados en rodeos carniceros. En tal sentido recomienda para esta categoría la implementación de protocolos de 7 u 8 días que incluyan la colocación de un DIV junto a la aplicación del BE en el día 0, retirar los DIV el día 7 y aplicar una dosis de Ciclase, un análogo sintético de PG (150 µg de Cloprostenol) y el mismo día o al día 8 aplicar 1 mL (1 mg) de BE, realizando la IATF a las 36 o 48 h respectivamente.

SINCRONIZACIÓN E INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN EN VAQUILLONAS

Silcox y col., en el año 1995, ya habían encontrado diferencias sustanciales entre vacas y vaquillonas en el tiempo desde la administración de la última GnRH del protocolo Ovsynch y el momento de la ovulación. Las vaquillonas ovulaban en casi la mitad de tiempo promedio que las vacas. A su vez en el mismo estudio, concluyen que la administración de la segunda GnRH en vaquillonas no aumenta la fertilidad por sincronización de la ovulación para la IATF, mientras que en las vacas es notoriamente beneficioso.

Comparando los resultados de diversos trabajos se visualiza que un protocolo Ovsynch clásico es más útil para vacas que vaquillonas, habiéndose testado

diferentes combinaciones para mejorar los resultados según el rodeo en el que se instaure el protocolo (Pursley y col., 1994, 1995, 1998; Thatcher y col., 1996; Xu y col., 1997; Bó y col., 1998; Xu y Burton, 1999, 2000; Cavestany y col., 2006; Rusiñol, 2008). Recientemente, se ha comenzado a trabajar en alternativas a los programas de sincronización más usados a fin de adaptarlos a las vaquillonas que evidentemente responden de manera distinta a las categorías mayores. En uno de esos estudios, se encontró que utilizando una fuente exógena de P4 del tipo DIV (CIDR-B) por 7 días (del día 0 al 7) en un esquema de Ovsynch clásico, la tasa de preñez aumentaba al doble (Martínez y col., 2000).

Rivera y col., en el 2004, trataron vaquillonas Holando sincronizándolas con GnRH y PG comparando con GnRH + PG + GnRH. Pudieron observar que existían celos antes del día fijado para la IATF mediante el uso de pinturas en la base de la cola. Estos animales se eliminaron del protocolo ya que el objetivo era determinar cantidad de animales en celo vs. no en celo al momento de la IATF. Dados los altos niveles de P4 al momento de la ovulación e IATF ($>1\text{ng/mL}$ en suero) en el 8,2% de las vaquillonas IATF, ninguna de ellas quedó preñada (diagnóstico ultrasonográfico a los 30 días post IATF). Se menciona en este trabajo que es difícil encontrar el momento óptimo para la IATF, dada la deficiente sincronización de las ovulaciones en las vaquillonas. Conceptualizaron a las vaquillonas como de ovulaciones impredecibles. Las vaquillonas con bajos niveles de P4 al momento de la IATF, estaban en ausencia de un CL funcional, y por tanto se inseminaron en un momento del ciclo más adecuado que aquellas que lo tenían y sus niveles de P4 eran mayores a 1ng/ml . Los resultados de la tasa de no retorno al estro (TNR) y diagnósticos de preñez por ultrasonografía confirman esto (sigue Rivera y col 2004?). Las vaquillonas con bajos niveles de P4 al día 8 del protocolo, carecían de un CL funcional al momento de la inyección de la segunda GnRH (97,2%). Por otra parte si habían vaquillonas que tenían altos niveles de P4 el mismo día 8 eran solo el 2,7% (4/144 animales) del total, y luego de la segunda GnRH ovularon, quedando preñada solo una de ellas. Eso significa que es el nivel de P4 en sangre es un limitado indicador de predicción para lo que se refiere a función reproductiva en vaquillonas (Rivera y col., 2004).

En otro trabajo de Rivera y col. (2005) se afirma que hay un 20% de vaquillonas que hacen una regresión luteal incompleta tras la administración el día 6 de PG. Sostienen que las vaquillonas responden a la PG cuando están en una fase anterior comparados con las vacas en lactación. Concluyeron que debería acercarse más la administración de PG a la primer GnRH a fin de lograr una mejor sincronización. De las vaquillonas que al día 8 tenían bajos niveles de P4 (140/144), la tasa de ovulación fue del 91,4% luego de la segunda GnRH obteniéndose en ellas una tasa de concepción del 38,6%.

Rivera y col. en el mismo ensayo del año 2005, encontraron una diferencia significativa en la variable inseminador con porcentaje de preñez del 25%, 30% y 58% para los 3 inseminadores que colaboraron en el estudio. Finalmente concluyeron que la detección de celos durante el protocolo fue fundamental para obtener tasas de preñez aceptables, dado que un porcentaje considerable de las hembras manifestaron celo durante el protocolo reduciéndose la cantidad que recibieron la IATF. Apuntaron a que es necesario reducir la necesidad de detección de celos hecho que puede lograrse mediante presincronización hormonal para tener referencia del estadio del ciclo al momento de dar comienzo al protocolo de IATF, o sino agregar una fuente de P4 al comienzo del protocolo para suprimir la expresión del estro.

Con el fin de encontrar una herramienta para lograr el máximo porcentaje de concepción y preñez en el menor tiempo posible vistas las limitantes que han surgido en una de las categorías más vulnerables desde el punto de vista reproductivo, con el menor costo y manejo posible, sería de importancia evaluar un tratamiento parenteral de P4 en vaquillonas Holando, en un protocolo de sincronización de celos sin importar la fase del ciclo en la que se encuentren.

HIPÓTESIS

La administración de MAD-4 por vía subcutánea (S/C) al comienzo de un protocolo de sincronización de celos resulta en la disminución de la aparición de celos prematuros e incrementa la tasa de preñez en vaquillonas Holando.

OBJETIVO

Evaluar la adición de MAD-4 S/C en un protocolo de sincronización de celos con IATF en vaquillonas Holando.

MATERIALES Y MÉTODOS

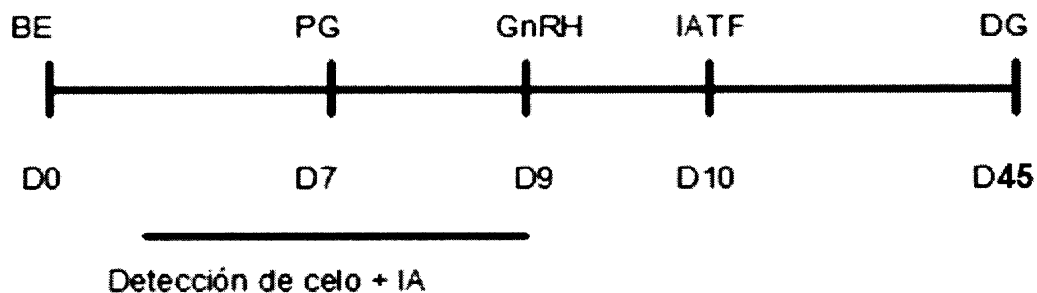
ANIMALES Y EMPLAZAMIENTO:

En la unidad de lechería del INIA La Estanzuela, Departamento de Colonia, República Oriental del Uruguay, durante el mes de mayo de 2008, se implementó un sistema de sincronización de celos en 101 vaquillonas Holando de 380 (± 52) kg de peso y de 3,0 ($\pm 0,4$) de estado corporal (escala de 1-5) de promedio con 22 ($\pm 4,7$) meses de edad, las cuales se dividieron en dos grupos por selección al azar. Grupo 1 (grupo control) n=50, Grupo 2 n=51 (grupo tratamiento).

TRATAMIENTO:

El protocolo establecido, aplicado a ambos grupos de igual forma y en días sucesivos, consistió en una combinación de 2 mg (2mL, I/M) de BE (Estradiol 10, Laboratorio Rio de Janeiro, Santa Fe, Argentina) en el Día 0 del experimento, al Día 7 la administración de 0,15 mg (2 mL, I/M) de un análogo sintético de PG (Cloprostenol, Prostaglandina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y en el Día 9 del experimento se administraron 8 μ g (2 mL, I/M) de análogo sintético de la GnRH (Acetato de Buserelina, , Laboratorio Rio de Janeiro, Santa Fe, Argentina). El Grupo 2, que actuó como grupo tratamiento, recibió además 100 mg (2,5 mL, S/C) de P4 MAD-4 (MAD-4, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) junto con la administración del BE del día 0. Todos los inyectables fueron administrados con jeringas descartables pequeñas a fin de minimizar el error en la dosis (se evitaron inyectores multidosis). Los tratamientos se esquematizan en la Figura 5.

GRUPO 1 (Control): Sincronización de celos (n=50).



GRUPO 2 (Tratado): Sincronización de celos + 100 mg de P4 (n=51).

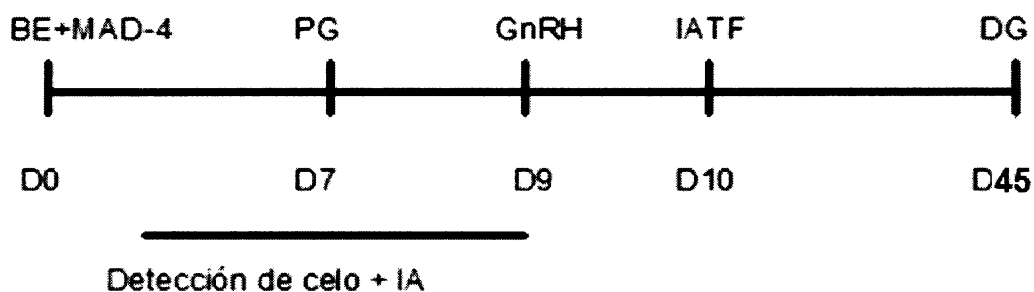


Figura 5. Esquema de los protocolos del grupo control y grupo tratado.

DETECCIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL:

Con el fin de evaluar la ocurrencia de celos prematuros, la detección de celos (DC) se realizó dos veces por día (AM / PM) por observación durante 7 días desde el día 2 del protocolo y la IA fue realizada por la misma persona, con semen congelado 12 horas después que las vaquillonas fueron vistas en celo por primera vez. Las vaquillonas que no fueron detectadas en celo al Día 9 del experimento, recibieron una IATF 16 horas más tarde. A todos los animales se les colocó en el momento de la IA un parche (EstroTECT®) para facilitar la detección del retorno al celo. Todos los datos fueron protocolizados y registrados en planillas.



DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN:

A los 35 días de la última IATF, se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Los resultados de ocurrencia de celos prematuros, concepción y preñez fueron analizados por el modelo Chi Cuadrado y Test exacto de Fischer (SAS 9.0).

RESULTADOS

La ocurrencia de celos prematuros (e inseminados entre los días 2 a 9) fue de 11 animales en celo (22%) para el grupo control y 11 vaquillonas también (21,6%) del grupo tratamiento, no existiendo diferencia significativa entre grupos ($p < 0,05$).

No hubo diferencias significativas en el porcentaje de preñez al primer servicio entre grupos. Asimismo, tampoco hubo diferencias en el porcentaje de preñez entre grupos dentro de cada método de IA ($p > 0,05$). No hubo diferencias significativas en el porcentaje de preñez entre grupos pero si comparando el método de IA ($p > 0,05$). Sin embargo, la IA luego de un celo natural resultó en un mayor porcentaje de concepción que la IATF. En la figura 6, se muestran los porcentajes de concepción o preñez según el tipo de IA y el total.

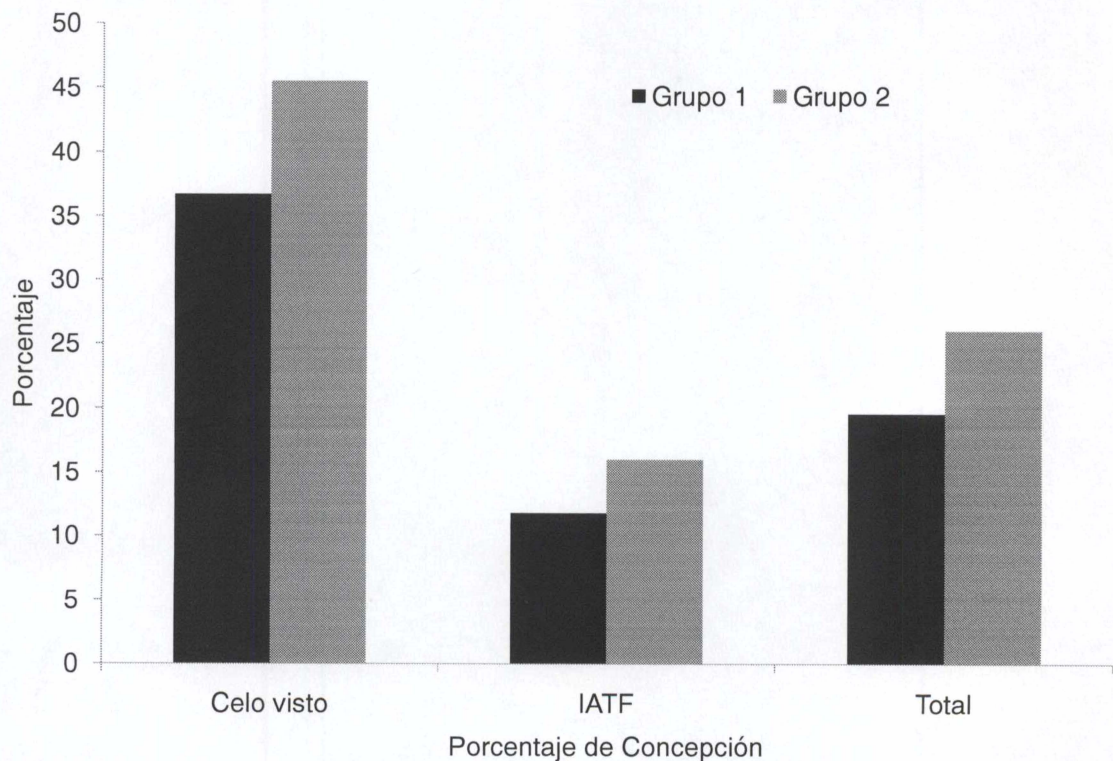


Figura 6. Porcentaje de preñez global por grupo y según método de IA

DISCUSIÓN

El porcentaje de no respuesta a la sincronización fue de 22% para ambos grupos, siendo ampliamente mayor al 10% mencionado por Xu y Burton (1999) como esperado, pese a que otros autores mencionan hasta un 50%. Esto puede deberse a que los animales con balance energético negativo responden en menor medida que los bien alimentados por no estar suficientemente activa la metabolización hepática (Cavestany y col., 2008). Esto también aplica a este caso, donde el ensayo se desarrolló en un contexto de sequía con baja disponibilidad de materia seca para esta categoría, ya que se priorizaron las vacas en ordeño. De todas maneras, ambos grupos estuvieron sometidos a las mismas condiciones.

El bajo porcentaje de preñez de los animales inseminados a tiempo fijo podría ser explicado porque en vaquillonas es alto el porcentaje de ovulaciones no sincronizadas y por tanto no se aprovechan en la IATF (Cutaia y col., 2001; Feresín y col., 2003; Rusiñol y col., 2005). En este planteo experimental, esto se ha repetido, ya que el 22% del total de los animales manifestaron celo en los días previos a la IATF pese a haber tomado los recaudos de utilizar BE y no GnRH como lo indicaran Cutaia y Bó (2005), y de la Sota (citado por Cutaia y Bó, 2005) a fin de obtener resultados más exactos en la emergencia de una nueva onda folicular en las vaquillonas y así poder predecir de mejor manera el momento óptimo para la IATF (Cutaia y col., 2003).

Según indican algunos autores, se generan diferencias en el %P a favor de la IA a celo visto frente a la IATF (García Bouissou, 1998; Rusiñol, 2008) en donde se hace importante el tiempo y trato dedicado a cada animal, en este ensayo hubo diferencia en el %P entre métodos de IA (celo visto vs. IATF), duplicando en ambos grupos la IATF vs. IA a celo visto y siendo estadísticamente significativa la diferencia ($p > 0,05$). Según menciona García Bouissou (1998) muchos de los factores que pueden ser responsables de la variabilidad en la tasa de preñez pueden haber incidido. El efecto inseminador queda descartado ya que todas las vaquillonas detectadas en celo fueron inseminadas por el mismo inseminador, y el 90% de las IATF y el total de las

IA a celo visto fueron efectuadas por la misma persona. A su vez comparados estos resultados con los porcentajes que normalmente obtiene el mismo técnico inseminador son bajos.

El factor semen, pudo haber sido responsable de la baja tasa de preñez (García Bouissou, 1998) pero nunca explicar la diferencia de los resultados entre métodos ya que el mismo semen fue utilizado en ambos grupos indistintamente, un semen comercial “probado” según su distribuidor. A su vez la técnica de descongelación fue la misma en todos los casos, indicada y supervisada por el propio tesista.

Tal como mencionó Moreira y col. en el año 2000, existen diferencias en los resultados de preñez respecto del momento del ciclo en el que es iniciado un programa de sincronización y más aún en vaquillonas. Pese a suponer que este factor pudo haber incidido, no se puede asegurar ya que no se contempló la fase del ciclo en la que se encontraban las vaquillonas al momento del inicio del programa de sincronización.

Finalmente, llegamos al último factor que puede ser controlado por el médico veterinario: el programa de sincronización propiamente dicho. En el caso de este ensayo, no hubo respuesta favorable a la dosis administrada de P4. No se previnieron los celos prematuros ni tampoco se mejoró el % de preñez por pre exposición a la P4 y la potenciación de los estrógenos.

Atendiendo el trabajo de Feresín y col. (2003) así como el de Rusiñol y col. (2005), se nota que es de gran impacto en los resultados de preñez, realizar una presincronización cuando se implementa un programa de sincronización en vaquillonas. Seguramente pudo haberse mejorado el resultado de preñez global mediante una presincronización de las vaquillonas, pudiendo comenzar el programa de sincronización en un momento conocido, con P4 alta llegando al momento de su caída, siendo más favorable tal como lo concluyó Moreira y col. (2000) y a su vez siendo más exacta la IATF con el momento óptimo para la misma (Cutaia y col., 2003).

Finalmente, las diferencias entre el método de IA pueden ser atribuibles a varios factores: no respuesta al protocolo de sincronización (García Bouissou, 1998; Rusiñol, 2008), irregularidad en la ciclicidad de las hembras más jóvenes (Feresín y col., 2003; Rusiñol y col., 2005), regresiones luteales incompletas (Rivera y col., 2005), pero por sobre toda suposición no podemos ser ajenos a la tormenta ocurrida en la tarde anterior al día de la IATF, donde se registraron vientos de 120 km/h, lluvias de gran intensidad y granizadas con piedras de hasta 7cm de diámetro. Sin dudas el stress producido por inclemencia tal pudo haber provocado la baja tasa de preñez en las IATF vs. Las IA a celo visto.

CONCLUSIONES

No hubo diferencias significativas en el porcentaje de preñez entre grupos ni en la ocurrencia de celos prematuros entre los mismos. La dosis utilizada de P4 no inhibe la aparición de celos prematuros en vaquillonas Holando, ni mejora el porcentaje de preñez en las tratadas, por tanto se rechaza la hipótesis. A la luz de los resultados, se debería seguir investigando hasta encontrar si es viable el uso de P4 parenteral en vez de los DIV. Los resultados coinciden con todos los trabajos de uso de P4 en protocolos de sincronización de celos y IATF en vaquillonas citados como bibliografía que afirman que un alto porcentaje de animales no se sincronizan, adelantando su celo al día esperado en el programa, incluso, en este ensayo el porcentaje de asincronías fue mayor a los que menciona la bibliografía como “esperados”, pudiéndose haber evitado tal vez con una presincronización que nos permitiera conocer la etapa del ciclo del rodeo y así comenzar el programa en el momento óptimo.

Al momento esta formulación MAD-4 no logra los resultados que menciona la bibliografía para los tratamientos con los ya consagrados DIV en vaquillonas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta, Y., Durán, H., Mieres, M., La Manna, A., Cavestany, D., Delucci, I. (2000). Medidas de manejo y alimentación en la Unidad de Lechería. Serie Actividades de Difusión N° 218. INIA La Estanzuela. 33 p.
2. Allignani, R., Gallino, D., Huber, C., Allignani, M. (2008). Estudio comparativo del comportamiento de la progesterona MAD 4® con distintos protocolos de I.A.T.F. en vaquillas de la “Estancia La Pelada”, Santa Fé. 11 p. Disponible en http://www.allignanihnos.com.ar/novedades/trabajo_%20MAD-4_%20la_%20pelada.pdf Fecha de consulta: 19/3/2011.
3. Arthur, G., Noakes, D., Pearson, H. (1991). Reproducción y Obstetricia Veterinaria. 6° ed. London. Ed. Interamericana MC Graw-Hill. 626 p.
4. Badinga, L., Thatcher, W., Wilcox, C., Morris, G., Entwistle, K., Wolfenson, D. (1994). Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17b, progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 42:1263-1274.
5. Barr, H. (1974). Influence of estrus detection on days open in dairy herds. *J. Dairy Sci.* 58:246-248.
6. Bentancur, A., Grasso, G. (2006) Sincronización de celos e inseminación a tiempo fijo en vaquillonas Holando. Comparación entre Ovsynch más Terapress® por 7 días y Ovsynch más Terapress® por 9 días, con resincronización de los retornos. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República, Uruguay. 36 p.
7. Bó, G., Adams, G., Nasser, L., Pierson, R., Mapletoft, R. (1993). Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology* 40:225–239.
8. Bó, G., Adams, G., Caccia, M., Martinez, M., Colazo, M., Mapletof, R. (1998). IV Jornadas de Actualización del control del ciclo estral bovino. Buenos Aires, Argentina. p.13-24.
9. Bó, G. (2002). Reporte Interno Syntex S.A. Buenos Aires, Facultad de Cs. Veterinarias, UNCPBA. CD ROM.
10. Callejas, S. (1995). Fisiología del ciclo estral bovino. Jornadas de Biotecnología de la Reproducción en hembras de interés zootécnico, UNLZ y Syntex S.A., Lomas de Zamora 15 y 16 de Junio. Disponible en <http://www.produccion->

animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/71-

fisiologia_reproductiva_del_bovino.pdf Fecha de consulta: 12/11/2010.

11. Cavestany, D. (2009). Inducción de celos e inseminación artificial en vacas de leche en anestro. Una nueva aproximación a un viejo problema. Taurus, Buenos Aires., 12:24-34.
12. Cavestany, D., Crespi, D. (2005). Revisión: Sincronización e inducción de celos en bovinos de leche. Programa de Producción de Leche. INIA La Estanzuela. Rev. INIA Uruguay 4:2-5.
13. Cavestany, D., Fernández, D., Salazar, E., Sánchez, A., Leyton, L., Crespi, D. (2008). Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona en vacas Holando ovariectomizadas o ciclando. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p.179.
14. Cavestany, D., Foote, R. (1985). Prostaglandin F2 alpha used for cows with unobserved estrus in a large commercial herd monitored by milk progesterone assay. Cornell Vet. 75:393-397.
15. Cavestany, D., Sanchez, A., Fernández, D., Leyton, L., Salazar, E., Crespi, D., Meikle, A. (2008). Evaluation of slow-release parenteral natural progesterone and its effects in a modified Ovsynch protocol in Holstein dairy heifers. 16th International Congress on Animal Reproduction (ICAR), Budapest, Hungría. p.15-20.
16. Chesta, P., Cutaia, L., Bó, G. (2003). Efecto del tratamiento con D.I.B. por 7 u 8 días en los porcentajes de preñez en vaquillonas cruza cebú Inseminadas a Tiempo Fijo. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba. 27 al 29 de junio. p.387 (abstract).
17. Comeron, E.; Maciel, M.; Romero, L. y Cuatrin, A. (2001). Desempeño productivo y reproductivo de un rodeo lechero Holstein en condiciones de alimentación pastoril. Rev. Arg. de Prod. Anim. 21 Suplemento 1. p. 29 (abstract).
18. Cuatrin, A. (2003). Curva de Producción y Composición de Leche Bovina. INTA, Rafaela. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_bovina_de_leche/produccion_bovina_leche/139-curva_produccion.pdf Fecha de consulta: 19/08/2010.
19. Cuatrin, A. (2005). Curva de lactancia. Factores que la modifican. Manual Ref. Tcas. Leche de Calidad, Ed. INTA Rafaela, 2da. ed. 184 p. 135-141.

20. Cutaia, L., Bó, G. (2005). Uso de la tecnología de IATF en rodeos lecheros. Sitio Argentino de producción Animal. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/101-iatf_en_rodeos_lecheros.pdf Fecha de consulta: 16/06/2010.
21. Cutaia, L., Moreno, D., Villata, L., Tríbulo, H., Tríbulo, R., Bó, G. (2000). Sincronización de la ovulación y tasas de preñez en vacas receptoras de embriones tratadas con D.I.B y Benzoato de Estradiol. V Congreso Argentino de Reproducción Animal, Rosario. CD ROM (abstract).
22. Cutaia, L., Tríbulo, R., Alisio, L., Tegli, J., Moreno, D., Bó, G. (2001). Efecto de los tratamientos con dispositivos D.I.B. nuevos o reutilizados en los índices de preñez en vacas y vaquillonas inseminadas a tiempo fijo (IATF). 4° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 22 al 24 de junio. p.244 (abstract).
23. Cutaia, L., Tríbulo, R., Moreno, D., Bó, G. (2001). Resincronización de celos en vacas Braford utilizando progestágenos y Benzoato de Estradiol. 4° Simposio Internacional de reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 22 al 24 de junio. p.245 (abstract).
24. Cutaia, L., Tegli, J., Moreno, D., Bó, G. (2001). Resincronización de celos en vaquillonas de carne utilizando progestágenos y Benzoato de Estradiol. 4° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 22 al 24 de junio. p.243 (abstract).
25. Cutaia, L. (2007). Dinámica folicular en el ganado bovino: implicancias prácticas en programas de sincronización de celos. XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. Junio de 2007. V° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 27 al 29 de junio. p.384 (abstract).
26. Cutaia, L., Brogliatti, G., Chesta, P., Moreno, D., Bó, G. (2003). Efecto del momento de la IATF sobre los porcentajes de preñez en vacas para carne sincronizadas con Dispositivos con Progesterona y Benzoato de Estradiol. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 27 al 29 de junio. p.385 (abstract).
27. De Kruif, A., Brand, A. (1978). Factors influencing the reproductive capacity of a dairy herd. New Zealand Vet. J. 26:183 -189.

28. de la Sota, R., Risco, C., Moreira, F., Thatcher, W. (1998). Efficacy of a timed insemination program in lactating dairy cows during summer heat stress. *Theriogenology* 49:761-770.
29. Feresín, F., Taboada, A., Cutaia, L., Bó, G. (2003). Programas de sincronización y resincronización de celos utilizando Dispositivos con Progesterona y Estradiol en tambos comerciales. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 27 al 29 de junio. p.389 (abstract).
30. Figueredo, R., Barros, C., Pinheiro, O., Soler, J. (1997). Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (*Bos indicus*). *Theriogenology* 47:1489–1505.
31. Foote, R. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J. Dairy Sci.* 58:248-256.
32. Foote, R. (1978). Reproductive performance and problems in New York dairy herds. *Search Agric., Cornell Univ. Agric. Exp.* 2:9:1.
33. García Bouissou, R. (1998). Verdades y Mentiras de la información reproductiva, IV Jornadas Nacionales CABIA y I del Mercosur.
34. Giordani, C. (1973). Métodos de aprovechamiento de pasturas. *Revista CREA* N° 8:28-48
35. Grosshans, T., Xu, Z., Burton, L., Johnson, D., Macmillan, K. (1998). Reproductive performance and genetic parameters for fertility of seasonal dairy cows in New Zealand *Livestock Prod. Sci.* 51:41-51.
36. Habich, G., Joandet, G. (1978). Eficiencia reproductiva de Bovinos. Análisis cuantitativo de la importancia de varios de sus parámetros componentes. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 6:166-174.
37. Hafez, E. (1989). Reproducción e inseminación artificial en Animales. 5° ed. Ed. Interamericana MC Graw-Hill. México. 677 p.
38. Kastelic, J. (2001). Conceptos actuales en la detección de celos en Bovinos. Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba, Argentina. p.73-82.
39. Knopf, L., Kastelic, J., Schallenberger, E., Ginther, O. (1989). Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domest. Anim. Endocrinol.* 6:111-120.
40. Lucy, M. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci.* 84:1277-1293.

41. Macmillan, K., Thatcher, W. (1991). Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 45:883-889.
42. Martínez, M., Kastelic, J., Adams, G., Mapletoft, R. (2000). The use of CIDR-B devices in GnRH/LH based artificial insemination programs. *Theriogenology* 53. 202 (abstract).
43. McDonald, L. (1991). *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. 4º Ed. Interamericana MC Graw-Hill, Madrid. 541 p.
44. Moreira, F., De la Sota, R., Díaz, T., Thatcher, W. (2000). Effect of key of the estrus cycle at the initiation of timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Animal Sci.* 78:1568-1576.
45. Moreno, D., Cutaia, L., Villata, L., Ortisi, F., Bó, G. (2000). Control del desarrollo folicular utilizando D.I.B., Benzoato de Estradiol y Progesterona. V Congreso Argentino de Reproducción Animal, Rosario. CD ROM (abstract).
46. Morrow, D. (1986). *Current Therapy in Theriogenology*. 2º Ed. Saunders. Philadelphia. 1104 p.
47. Murugavel, K., Yániz, L., Santolaria, P., López-Béjar, M., López-Gatius, F. (2003). Luteal activity at the onset of a timed insemination protocol affects reproductive outcome in early postpartum dairy cows. *Theriogenology* 60:583-593.
48. Navanukraw, C., Redmer, D., Reynolds, L., Kirsch, J., Grazul-Bilska, A., Fricke, P. (2004). A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 87:1551-1557.
49. Peeler, I., Nebel, R., Pearson, R., Swecker, W., Garcia, A. (2004). Pregnancy Rates After Timed AI of Heifers Following Removal of Intravaginal Progesterone Inserts. *J. Dairy Sci.* 87:2868–2873.
50. Penny, C., Lowman, B., Scott, N., Scott, P. (2000). Repeated oestrus synchronization of beef cows with progesterone implants and the effects of a gonadotrophin-releasing hormone agonist at implant insertion. *Vet Rec.* 146:395-398.
51. Pursley, J., Fricke, P., Garverick, H., Kesler, D., Ottobre, J., Stevenson, J., Wiltbank, M. (2001). NC-113 Regional Research Project. Improved fertility in non cycling lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. Midwest Branch ADSA 2001 Meeting, Des Moines, Estados Unidos. p.63 (abstract).

52. Pursley, J., Kosorok, M., Wiltbank, M. (1997). Reproductive management of lactating dairy cows using synchronized ovulation. *J Dairy Sci.* 80:301-306.
53. Pursley, J., Mee, M., Brown, M., Wiltbank, M. (1994). Synchronization of ovulation in dairy cows using GnRH and PGF 2α . *J Anim. Sci.* 72 (Suppl. 1):230 (abstract).
54. Pursley, J., Mee, M., Wiltbank, M. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
55. Pursley, J., Silcox, R., Wiltbank, M. (1995). Conception rates at different intervals between AI and ovulation. *J Dairy Sci.* 78 (Suppl. 1):279 (abstract).
56. Pursley, J., Silcox, R., Wiltbank, M. (1998). Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 81:2139-2144.
57. Pursley, J., Wiltbank, M., Stevenson, J., Ottocce, J., Garverich, H., Anderson, L. (1997). Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.
58. Quinodoz, J. (2004). Criterios para la presupuestación del pasto "aprender a manejar el recurso más barato". *Producir XXI*, 12:16-20.
59. Rivera, H., Lopez, H., Fricke, P. (2004). Fertility of Holstein Dairy Heifers after Synchronization of Ovulation and Timed AI or AI after Removed Tail Chalk. *J Dairy Sci.* 87:2051-2061.
60. Rivera, H., Lopez, H., Fricke, P. (2005). Use of Intravaginal Progesterone-Releasing Inserts in a Synchronization Protocol before Timed AI and for Synchronizing Return to Estrus in Holstein Heifers. *J. Dairy Sci.* 88:957-968
61. Rhodes, F., De'ath, G., Entwistle, K. (1995). Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 38:265-277
62. Rhodes, F., Fitzpatrick, L., Entwistle, K., De'ath, G., (1995). Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J. Reprod. Fertil.* 104:41-49.
63. Romero, L.; Cuatrin, A.; Comerón, E. y Maciel, M. (2004). Modelos de ajuste de curvas de primeras lactancias de vacas lecheras de un sistema de parición bien estacionado. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24 - Suplemento 1, Disponible en www.aapa.org.ar/congresos/2004/SpPdf/SP14.pdf Fecha de consulta: 26/09/2010.

64. Rusiñol, C., Fiol, C., Cavestany, D. (2005). Adición parenteral de un análogo de progesterona en un protocolo de sincronización de celos en vaquillonas de carne presincronizadas. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. p.65.
65. Rusiñol, C. (2008). Comparación de tres métodos de sincronización de celos y/u ovulación con y sin Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en vaquillonas de carne. Eficiencia y rentabilidad de tres protocolos de inseminación: dos con combinación de detección de celos y IATF y uno con detección de celos. Tesis de Maestría. Universidad de la República - Facultad de Veterinaria. 43 p.
66. Salverson, R., DeJarnette, J., Marshall, C., Wallace, R. (2001). Synchronization of estrus in virgin beef heifers using melengestrol acetate and PGF₂ α : an efficacy comparison of cloprostenol and dinoprost tromethamine. Select Sires. Disponible en [http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X\(01\)00692-6/abstract](http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X(01)00692-6/abstract) Fecha de consulta: 09/03/2011.
67. SAS (2003). User's Guide, Version 9.0. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
68. Silcox R.; Powell K.; Pursley J.; Wiltbank M. (1995). Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandin. *Theriogenology* 43:325 (abstract).
69. Sirois, J., Fortune, J. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 39:308-317.
70. Smith, R., Pomerantz, A., Beal, E., McCann, J., Pilbeam, T., Hansel, W. (1984). Insemination of Holstein Heifers at a Preset Time after Estrous Cycle Synchronization Using Progesterone and Prostaglandin. Cornell University, Ithaca, NY 14853. *J. Anim Sci.* 58:792-800.
71. Sotelo, F. (2007). ¿Cómo andan “reproductivamente” nuestros Tambos? Encuesta convenio Mejoramiento Lechero y Conaprole. Mejoramiento Lechero. Disponible en <http://www.mejoramientolechero.org.uy> Fecha de consulta: 07/03/2011.
72. Stevenson, J., Shmidt, M., Call, P. (1984). Stage of Estrous Cycle, Time of Insemination, and Seasonal Effects on Estrus and Fertility of Holstein Heifers After Prostaglandin F₂ α . 1984 *J Dairy Sci.* 67:1798-1805.
73. Stevenson, J., Kobayashi, Y., Thompson, K. (1999). Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and

- combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 α . *J Dairy Sci.* 82:506-515.
74. Stevenson, J. (2000). Sincronización de celos y de ovulaciones en ganado de carne y bovino de leche. V Congreso Argentino de Reproducción Animal, CABIA, Buenos Aires, Argentina. CD ROM.
75. Thatcher, W., Schmitt, E., de la Sota, R., Burke, J., Risco, C., Staples, C., Drost, M. (1996). Sincronización del estro en rodeos lecheros: manejo del desarrollo folicular con GnRH, inseminación a tiempo fijo, conceptos de sincronización. II^o Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Carlos Paz, Córdoba. p.109-130.
76. Thompson, K., Stevenson, J., Lamb, G., Grieger, D., Loest, C. (1999). Follicular, hormonal, and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2 α . *J Anim Sci.* 77:1823-1832.
77. Uruguay, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. DIEA (2010). Anuario estadístico agropecuario. Montevideo, CD ROM.
78. van Eerdenburg, F., Loeffler, H., Vliet-Van, J. (1996). Detection of estrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet. Quart.* 18:52 - 54.
79. Wiltbank, M., Pursley, R., Fricke, P., Vasconcelos, J., Guenther, J., Gibbons, J., Ginther, O. (1996). Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth, Proc. Annual Meeting American Embryo Transfer Association. p.23-44.
80. Wolfenson, D., Thatcher, W., Savio, J., Badinga, L., Lucy, M. (1994). The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology* 42:633-644.
81. Xu, Z., Burton, L., MacMillan, K. (1997). Reproductive performance of lactating dairy cows following estrus synchronization regimens with PGF2 α and progesterone. *Theriogenology* 47:687-701.
82. Xu, Z., Burton, L. (1999). Reproductive Performance of Dairy Heifers after Estrus Synchronization and Fixed-Time Artificial Insemination. *J Dairy Sci.* 82:910-917.
83. Xu, Z., Burton, L. (2000). Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, progesterone, and prostaglandin F2 α . *J Dairy Sci.* 83:471–476.
84. Zeitoun, M., Rodriguez, H., Randel, R. (1996). Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. *Theriogenology* 45:1577–1581.